

การกำจัดเชื้อ *Bacillus cereus* ในกระบวนการผลิตเจลาตตินโดยใช้กรดอะซิติก
และความร้อน

REMOVAL OF *Bacillus cereus* IN THE GRASS JELLY PROCESS USING
ACETIC ACID AND HEAT



ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การกำจัดเชื้อ *Bacillus cereus* ในกระบวนการผลิตเจลาตินโดยใช้กรดอะซิติกและ
ความร้อน

REMOVAL OF *Bacillus cereus* IN THE GRASS JELLY PROCESS USING
ACETIC ACID AND HEAT

จัดทำโดย

นิลวดี

นาคทองกุล

59080088

ภาวพันธ์

ไทยวัฒนธรรม

59080108

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

(ดร.อูมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

23 / ก.ค. / 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การกำจัดเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในกระบวนการผลิตเนากัวยโดยใช้กรดอะซิติกและความร้อน		
ชื่อนักศึกษา	นิลวดี	นาคทองกุล	59080088
	ภาวพันธ์	ไทยวัฒนธรรม	59080108
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม		
พ.ศ.	2563		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. อุมพร ฉัตรศรีสุวรรณ		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนากัวยให้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นและได้มีการทำการทดลองหาเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เนากัวยมีอายุการเก็บรักษาสั้น พบว่ามีเชื้อ *Bacillus cereus* ปะปนอยู่และเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อดูประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการผลิตเนากัวย ซึ่งทำการทดสอบโดยใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการใช้น้ำร้อนในการฆ่าเชื้อ โดยในการทดลองนี้จะมีการทดสอบการฆ่าเชื้อของกรดอะซิติกโดยนำกรดอะซิติกที่เป็นน้ำส้มสายชู 5 % v/v เป็นตัวตั้งต้นและได้ทำการเจือจางกับน้ำโดยให้ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1%, 1.5%, 2%, 2.5% และ 3% v/v ตามลำดับ และนำไปให้ความร้อนในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีเวลาควบคุมในการให้ความร้อนดังนี้ 0 นาที, 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาทีตามลำดับ

โดยการทดลองครั้งเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์พบว่าที่สภาวะที่ใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 3% สามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.4×10^6 ได้ทั้งหมด เมื่อการทดลองดังกล่าวไปใช้ในการล้างเครื่องบรรจุเนากัวยใช้กรดอะซิติกและส่วนประกอบภายในเครื่องบรรจุพบว่าเมื่อนำตัวอย่างเนากัวยที่ผ่านเครื่องบรรจุเนากัวยที่ได้ผ่านการทำความสะอาดแล้วมาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.) โดยได้ตรวจจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli*, ยีสต์, รา และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอื่น ๆ เช่น *B. cereus* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวเหลืออยู่เลย

คำสำคัญ : กรดอะซิติก เนากัวย *Bacillus cereus*

Special problem title	Removal of <i>Bacillus cereus</i> in the grass jelly process using acetic acid and heat.
Student name	Nilvadee Nakthongkul student ID 59080088 Pawapun Thaiwattanatum student ID 59080108
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology 2020
Advisor	Dr.Umaphorn Chadseesuwana

ABSTRACT

This aim of this research was to improve grass jelly products to increase their product's shelf life and to experiment with the bacteria that cause grass jelly to shorten their product's shelf life. The result of this experiment identified that the *Bacillus cereus* bacteria mixed with grass jelly products which was able lead to extend the shelf life of their products. The objective of this research was to check the effectiveness of *B. cereus* infection in the production of grass jelly. In the experiment, the acetic acid at various concentrations was applied and combined with the use of hot water to disinfect. This experiment was tested the disinfection of the acetic acid by using acetic acid, which is 5% v/v vinegar as a precursor and diluted at various concentrations of 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3% v/v respectively. In addition, the shelf life of grass jelly products was investigated using the hot water at a temperature of 80 degrees Celsius and setting the control time for the accumulated heat 0 minutes, 5 minutes, 10 minutes and 15 minutes respectively.

The microbiology analysis was carried out and found that the optimum conditions of acetic acid at 3% while using hot water at a temperature of 80 degrees Celsius was able to completely eliminate *B. cereus* with the initial bacterial count of 6.4×10^6 . Finally, a further test was performed using acetic acid with washing the grass jelly packing machine and packing machine components.

It was found by examining various microbes; *Escherichia coli*, yeast, mold, and other pathogenic microbes such as *B. cereus* and *Staphylococcus aureus*, that all microbes were not detected when the samples from the cleaning grass jelly packing machine according to The Community Products Standard.

Keywords: Acetic acid Grass jelly *Bacillus cereus*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษางานที่ได้ให้คำแนะนำ แนวคิด ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นระหว่างการทำงานวิจัยโดยตลอด อีกทั้งยังขอขอบคุณ ร.ศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่คอยให้สนับสนุนและให้คำแนะนำและได้ให้ทุนสนับสนุนในงานวิจัยครั้งนี้ งานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์จึงขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบพระคุณครอบครัว ที่คอยสนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณไอติมเพื่อนที่คอยช่วยเหลือรวมทั้งพี่แอนที่คอยให้คำปรึกษาและคอยให้คำแนะนำมาโดยตลอด

ในสุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากนักน้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยอย่างสูงในข้อผิดพลาดนั้น และหวังว่าเล่มงานวิจัยนี้จะมีประโยชน์แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสปอร์ของเชื้อ *Bacillus cereus* โดยใช้กรดอะซิติกและความร้อน

นิลวดี นาคทองกุล

ภาวพันธ์ ไทยวัฒนธรรม

30 มีนาคม 2563

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 <i>Bacillus cereus</i>	3
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.3 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร	6
2.4 สารเคมีที่ใช้	7
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	12
3.3 อุปกรณ์	12
3.4 วิธีการทดลอง	12
3.5 การนำไปใช้ในโรงงานผลิตเห็ดก๊วย	15
3.6 การตรวจสอบเชื้อของผลิตภัณฑ์เห็ดก๊วยหลังจากแนะนำวิธีการล้างเครื่อง เพื่อตรวจสอบอายุการเก็บรักษา	16
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	17
4.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานผลิตเห็ดก๊วย	17
4.2 การวิเคราะห์การลดปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> ในห้องปฏิบัติการ	20
4.3 การเลือกความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ การลดปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i>	26
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	32
ภาคผนวก ก	33
ภาคผนวก ข	37
ภาคผนวก ค	38
ภาคผนวก ง	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

ประวัติผู้เขียน

หน้า

43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2560 พื้นผิวสัมผัสอาหาร	6
2.2	เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2560 ภาชนะสัมผัสอาหาร เช่น จาน ชาม ถ้วย	6
2.3	เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2560 มือผู้สัมผัสอาหาร	6
2.4	มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของเนาก๋วย (มพช.) 517/2547	7
4.1	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), <i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i> ในตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานเนาก๋วย	19
4.2	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1-3 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง	21
4.3	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1-3 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	24
4.4	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	26
4.5	ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและอุณหภูมิที่ใช้ในการลดปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> ที่เวลาต่าง ๆ	28
ค.1	ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อทั้งหมด	38

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	รูปร่างของ <i>Bacillus cereus</i> , SEM	3
2.2	โครงสร้างอะซิติค	9
4.1	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติค ความเข้มข้น 1-3% (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง	22
4.2	เปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติคความเข้มข้น 1-3 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง	22
4.3	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติค ความเข้มข้น 1-3% (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ	25
4.4	เปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติคความเข้มข้น 1-3 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ	25
4.5	ปริมาณเชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติค ความเข้มข้น 3% (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ	27
4.6	เปอร์เซ็นต์เชื้อ <i>B. cereus</i> หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติค ความเข้มข้น 3% (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ	27
ง.1	ฉลากยวแบบถ้วยพร้อมรับประทาน	40
ง.2	ฉลากยวแบบถุง ขนาด 1.5 กิโลกรัม	40
ง.3	โคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมด	41
ง.4	โคโลนีของ <i>B. cereus</i>	41
ง.5	โคโลนีของ <i>S. aureus</i>	41
ง.6	เซลล์ <i>B. cereus</i>	41

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เหากัวยเป็นขนมที่เป็นที่นิยมรับประทานและหาทานง่าย อร่อยและมีราคาไม่แพง เหากัวยมีสรรพคุณเด่น ๆ ในการคลายร้อน ดับกระหาย เหากัวยเป็นพืชชนิดหนึ่งซึ่งอยู่ในวงศ์ Labiatae วงศ์เดียวกับสะระแหน่ โหระพา และแมงลัก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mesona chinensis* Bentham มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ประเทศจีนตอนใต้ แถบมณฑล กวางตุ้ง กวางสี และยูนาน มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นและเถาเป็นแบบกิ่งเลื้อย มีขนาดเล็ก เป็นเหลี่ยม มองแล้วคล้ายต้นสะระแหน่ ลำต้นเปราะ หักง่าย ส่วนกิ่งแตกแขนงออกตามข้อของลำต้น ทอดยาว คลุมตามดินได้ 50-120 เซนติเมตร ในส่วนของใบเหากัวยจะมีความคล้ายคลึงกับใบสะระแหน่ มีปลายใบแหลม โคนใบสอบ ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ใบมีสีสดไปจนถึงเขียวเข้ม และมีขนาดเล็กปกคลุม แต่หากขยี้ใบด้วยมือ จะรู้สึกถึงความเป็นเมือกลื่น ๆ

แต่การจะรับประทานเหากัวยจะมีกระบวนการทำให้ได้ออกมาเป็นเนื้อเจลลี่ เหนียวนุ่มให้ได้ทานกัน นั้นก็มีขั้นตอนไม่ยากเลย โดยขนมวุ้น ๆ สีดำมีความนุ่มหนึบหนับที่เราเรียกกันว่าเหากัวยทำมาจากต้นเหากัวยตากแห้งจากนั้นนำไปต้มให้น้ำสีดำ มีลักษณะเป็นเมือกเล็ก ๆ จากนั้นนำน้ำต้มเหากัวยไปกรองแล้วไปผสมกับแป้ง ทำวุ้นนุ่มหรือแป้งมันสำปะหลัง คนให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้จนเย็น เท่านั้นจะได้วุ้นสีดำ มีกลิ่นหอมของต้นเหากัวยชนิด ๆ และมีลักษณะเป็นเจลลี่เหนียวนุ่มออกมา แต่ในการรับประทานที่นิยมกันจะนิยมรับประทานในน้ำเชื่อม หรือเหากัวยโบราณใส่น้ำตาลทรายแดงและใส่น้ำแข็งเพื่อเพิ่มความสดชื่น

ในส่วนสรรพคุณทางยาของเหากัวยนั้น มีตั้งแต่แก้ร้อนใน, ช่วยดับกระหาย, บรรเทาอาการหวัด ลดไข้ตัวร้อน, ช่วยขับเสมหะ, แก้กลิ้นไส้, บรรเทาอาการเบื่ออาหาร, แก้ปวดท้อง มวนท้อง, ลดอาการกล้ามเนื้ออักเสบ, บรรเทาอาการตับอักเสบ, บรรเทาอาการไขข้ออักเสบ, ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (มูลนิธิหมอชาวบ้าน, 2562)

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อดูประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *B. cereus* ในกระบวนการผลิตเหากัวยโดยจะทดสอบโดยใช้กรดอะซีติกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับการใช้น้ำร้อนในการฆ่าเชื้อ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ได้

1.3.2 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนากุ้งได้นานขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 *Bacillus cereus*

B. cereus เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรงมีขนาด $0.3-2.2 \times 1.2-7.0$ ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และสร้างสารพิษซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป)



ภาพที่ 2.1 รูปร่างขอ *Bacillus cereus* , SEM

ที่มา: <https://www.sciencephoto.com/media/153096/view/bacillus-cereus-bacteria-sem>

แหล่งที่พบสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติในดิน น้ำ เชื้อสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควัน และปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่ม แป้ง เมล็ดธัญชาติ เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า อาหารกึ่งสำเร็จรูป เช่น ข้าวกึ่งสำเร็จรูป (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และคณะ, ม.ป.ป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อันตรายของเชื้อ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ การเกิดพิษมี 2 ลักษณะอาการคือทำให้ อาเจียน (Emetic illness) และทำให้ท้องเสีย (Diarrhea illness) อาการอาเจียนมักเกิดจากการได้รับ สารพิษชนิด ที่ มีความคงทนที่สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด-ด่างสูง โดยผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้ และอาเจียน ภายหลัง จากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมง โดยทั่วไปมักปรากฏอาการภายหลัง จากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาทีถึง 6 ชั่วโมง ส่วนอาการท้องเสียมักเกิดจากสารพิษชนิดที่ไม่ทน ความร้อนและกรด ตามปกติใช้เวลา พกตัวประมาณ 6-12 ชั่วโมง ภายหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ ของเชื้ออาการประกอบด้วย การปวดท้องและถ่ายอุจจาระเหลว เนื่องจากมีน้ำมาก โดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่ เกิน 24 ชั่วโมง แล้วจะทุเลาลง (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป.)

อาหารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อาหารประเภทธัญชาติ (*cereal*) หรืออาหารที่มีสตาร์ช (*starch*) เป็น ส่วนประกอบ ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด แป้ง ก๋วยเตี๋ยว ขนมจีน บะหมี่ พาสต้า มักโรนี ข้าวผัด ขนมข้าวกรอบ ขนมข้าว กล้อง , เนยแข็ง (*cheese*) , ผักสลัด, อาหารที่มีเนื้อสัตว์ เป็นส่วนประกอบ ซอส ชุป , อาหารแห้ง เครื่องเทศ (*spice*) , การบริการอาหาร (*food service*) ที่ต้องเตรียมอาหารจำนวนมาก ล่วงหน้าเป็นเวลานาน เช่น โรงเรียน ร้านอาหาร ภัตตาคาร

มีการป้องกันดังนี้ หุงต้ม ผัด อาหาร ให้ร้อนจัด อุ่นให้เดือด และเก็บอาหารที่ทำให้สุกแล้วที่อุณหภูมิต่ำ หลีกเลี่ยงการเก็บอาหารช่วงอุณหภูมิที่เป็นอันตรายคือช่วง 4-55 องศาเซลเซียส ควรควบคุมให้พนักงานหรือบุคคล ที่สัมผัสกับอาหารมีสุขอนามัยที่ดี (*personal hygiene*) เพื่อป้องกันการเกิดปนเปื้อนข้าม (*cross contamination*) โดยเฉพาะอาหารที่ปรุงสุก อาหารพร้อมรับประทานกับอาหารดิบ หากผลิตอาหารจำหน่ายควร ผลิตอาหารให้ถูกสุขลักษณะตามหลัก GMP (*Good Manufacturing Practice*) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และ คณะ, ม.ป.ป)

2.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆไม่ เคลื่อนที่โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพมี ออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจนช่วง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศา เซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการ เติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่ จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำสุดสำหรับการ เติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจน ประมาณ 0.90 *S. aureus* บางสายพันธุ์ผลิต สารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซินทำให้อาหารเป็นพิษเอนเทอโรทอกซินที่ผลิตมีหลายชนิดแต่ชนิดที่พบว่าทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิดเอและดี โดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อผลิตเอนเทอโรทอกซินอยู่ระหว่าง 15.6 และ 46.1 องศาเซลเซียสและผลิตได้ดีที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ที่มาของเชื้อ *S. aureus* มีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำอาหารและนม หรืออาหารบรรจุ เสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ มนุษย์และสัตว์จึงเป็นแหล่งของเชื้อชนิดนี้โดยจะพบอยู่ตาม

ทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50 % หรือมากกว่านี้ในคนที่มีความผิดปกติและอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80 % ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาลตลอดจนผู้ประกอบอาหาร

การเข้าสู่ร่างกายเชื้อ *S. aureus* เข้าสู่ร่างกายได้จากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนอาหารที่มักพบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภท สลัด เช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์นมอบ ครีมพาย แอแคลร์ ช็อกโกแลต แชนวิช และผลิตภัณฑ์นมที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมและเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนับเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งคือการเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษได้อย่างรวดเร็ว

อันตรายของ *S. aureus* บางสายพันธุ์ สามารถสร้างสารพิษ คือ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาทีได้ ดังนั้นอุณหภูมิในการหุงต้มธรรมดาหรืออุณหภูมิเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้มีชื่อเรียกว่า Staphyloenterotoxiosis และ Staphyloenterotoxemia ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆ กรณีซึ่งอาการทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อที่พบคือผู้ป่วยจะมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อนหลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2 - 3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหารรวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย

ปริมาณที่ทำให้เกิดโรค เมื่อเรารับประทานอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ซึ่งสารพิษ ชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 ต่อกรัมอาหาร

วิธีป้องกันผู้ปรุงอาหาร สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงในระหว่างการเตรียมอาหารหรือปรุงอาหาร คือ ผู้ปรุงต้องไม่ไอ หรือจามรด อาหาร ควรรับประทานอาหารขณะร้อนหากต้องการเก็บรักษาอาหารควรเก็บไว้ในตู้เย็น ไม่ควรเก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วไว้ในตู้ที่มีอุณหภูมิสูงเพราะจะเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็ว ซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบได้บ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus* สำหรับผู้บริโภค ก่อนที่จะรับประทาน อาหารต้องนำอาหารมาอุ่นให้ร้อนเสียก่อนทุกครั้งเพื่อความปลอดภัย (สถาบันอาหารกระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป)

2.3 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2560

ตารางที่ 2.1 พื้นผิวสัมผัสอาหาร

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/ตารางเซนติเมตร	น้อยกว่า 100
<i>Escherichia coli</i> /50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> /50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
<i>Salmonella spp.</i> /50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
<i>Clostridium perfringens</i> /50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
<i>Bacillus cereus</i> /50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2560

ตารางที่ 2.2 ภาชนะสัมผัสอาหาร เช่น จานชาม ถ้วย

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/ชิ้นภาชนะสัมผัสหรือต่อคู่	น้อยกว่า 1000
<i>Staphylococcus aureus</i> /ชิ้นภาชนะสัมผัสหรือต่อคู่	ไม่พบ
<i>Salmonella spp.</i> /ชิ้นภาชนะสัมผัสหรือต่อคู่	ไม่พบ

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2560

ตารางที่ 2.3 มือผู้สัมผัสอาหาร

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/ตารางเซนติเมตร	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> หรือ <i>Fecal coliforms</i> / มือ	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> /มือ	ไม่พบ
<i>Salmonella spp.</i> /มือ	ไม่พบ

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของเควกัวย (มผช.) 517/2547

จำนวนจุลินทรีย์ CFU	เกณฑ์มาตรฐาน
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	น้อยกว่า 1×10^4 โคโลนี/ ตัวอย่าง 1 กรัม
<i>Escherichia coli</i> (โดยวิธี MPM)	น้อยกว่า 3 / ตัวอย่าง 1 กรัม
ยีสต์และรา	น้อยกว่า 100 โคโลนี/ ตัวอย่าง 1 กรัม

ที่มา: มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 517/2547

2.4 สารเคมีที่ใช้

กรดอะซิติก (Acetic Acid) หรือ กรดน้ำส้ม คือ กรดอินทรีย์หรือสารประกอบเคมีอินทรีย์ที่พบได้ในธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีลักษณะใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนที่เป็นเอกลักษณ์ มีรสเปรี้ยว ระเหยง่าย ละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ กลีเซอริน มีความเสถียร มีสูตรทางเคมี CH_3COOH มีคุณสมบัติทางเคมีดังนี้ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 60.05 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.05 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จุดเดือด 118.1 องศาเซลเซียส และจุดแข็งตัว 16.67 องศาเซลเซียส เมื่อแข็งตัวมีลักษณะเป็นผลึกใสผลึกของกรดอะซิติกนั้นจะมีความบริสุทธิ์สูงมากเรียกว่า หัวน้ำส้มหรือกรดกลาเซียอะซิติก (Glacial Acid) ที่ได้จากการสกัดทางเคมี หัวกรดน้ำส้มนั้นสามารถนำไปเจือจางเพื่อทำน้ำส้มสายชูเทียม

อะซิติกรู้จักกันดีในการนำมาผลิตน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการปรุงอาหารให้มีรสเปรี้ยวและช่วยในการถนอมอาหารและไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ถ้าใช้ในปริมาณที่ทางกระทรวงสาธารณสุขควบคุมไว้ และมีราคาถูกเมื่อเทียบกับสารให้ความเปรี้ยวจากธรรมชาติอย่างอื่น เช่น มะนาว มะขาม เป็นต้น นอกจากการนำมาปรุงอาหารแล้ว กรดอะซิติก

2.4.1 ประโยชน์ของกรดอะซิติก

2.4.1.1 ด้านอาหาร กรดอะซิติกไม่ได้มีไว้เพื่อปรุงรสอาหารเพียงอย่างเดียว แต่ยังช่วยในการถนอมอาหารป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์บางชนิดได้ด้วย โดยใช้ในรูปของน้ำส้มสายชูแท้ที่มีกรดอะซิติกเข้มข้น 5-10 % หรือสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 25-80 % ใส่ในอาหารเพื่อเข้าไปปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้อาหารเก็บไว้ได้นาน เช่น น้ำสลัด ผักดอง ผลไม้บางชนิด เป็นต้น และเกลือของกรดอะซิติก เช่น โซเดียมอะซิเตต แคลเซียมอะซิเตต นำมาใส่ในขนมปังหรือขนมปังอบ เพื่อป้องกันขนมเสียจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในขนมปัง (Amprohealth , 2563)

2.4.1.2 ด้านการแพทย์ ได้นำกรดอะซิติกมาเป็นตัวทำละลายเพื่อเตรียมสารหรือผสมกับสารอื่นในการผลิตยาบางชนิด เช่น ยาแอสไพรีน เป็นต้น และมีการนำมาผลิตยาหยอดหูสำหรับรักษาโรคหูอักเสบ โดยที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะซิติกที่ผสมอยู่ในยารักษาหูกจะเข้าไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหูอักเสบ

2.4.1.3 ด้านอุตสาหกรรมโดยอุตสาหกรรมจะใช้กรดอะซิติกที่สังเคราะห์ได้จากกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ได้เป็นกรดอะซิติกซึ่งมีความบริสุทธิ์ต่ำมีการเจือปนของโลหะหนัก กรดอะซิติกแบบนี้จะมีราคาถูกจึงนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรม เช่น การผลิตพลาสติก การผลิตสีย้อมผ้า การผลิตเส้นใยโพลีเมอร์ ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสิ่งพิมพ์และใช้ในอุตสาหกรรมพอกหนัง เป็นต้น

2.4.1.4 ด้านการเกษตร ได้มีการนำกรดอะซิติกมาผสมในยาฆ่าแมลง ยากำจัดเชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์ในผักผลไม้หรือนำมาผสมในน้ำหมักชีวภาพ เพื่อช่วยในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สร้างความเสียหายให้กับผักผลไม้ (Amprohealth , 2563)

2.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี

ได้แก่ กรดอะซิติกเป็นของเหลวใสไม่มีสีและมีสูตรโมเลกุล : CH_3COOH น้ำหนักโมเลกุล : 60.05 กรัม/โมล ความหนาแน่น: 1.05 กรัม/ลบ.ซม. มีจุดเดือด 118.1°C เป็นของแข็งได้ที่อุณหภูมิ 16.67°C หรือต่ำกว่า และยังมีกลิ่นฉุนเฉพาะตัวสามารถรวมตัวได้ดีกับน้ำ แอลกอฮอล์ และกลีเซอริน

2.4.3 วิธีผลิตกรดอะซิติก

2.4.3.1 วิธีเมทานอลคาร์บอนิลเลชัน (Methanol carbonylation) (นิยมทำในระดับอุตสาหกรรม)

2.4.3.2 วิธีเอทิลีนออกซิเดชัน (Ethylene oxidation)

2.4.3.3 วิธีอะซีทัลดีไฮด์ออกซิเดชัน (Acetaldehyde oxidation) โดยใช้เอทานอลเป็นสารตั้งต้น

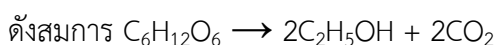
2.4.3.4 กระบวนการทางชีวภาพโดยการหมัก (Fermentation) โดยใช้แบคทีเรียกรดอะซิติก (Acetic acid Bacteria) โดยใช้เอทานอลเป็นสารตั้งต้น

2.4.4 การผลิตกรดอะซิติกด้วยการหมัก

การผลิตกรดอะซิติกด้วยการหมักในระดับอุตสาหกรรม โดยมีวัตถุดิบที่สำคัญ คือ แป้งมัน ข้าว หรือ น้ำผลไม้ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ดังนี้

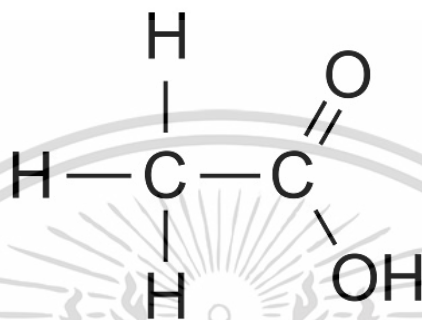
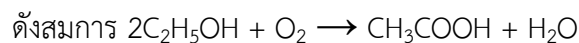
2.4.4.1 การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ (Alcohol fermentation)

การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการหมักแป้งหรือน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 30°C นาน 72-78 ชั่วโมง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.2 การหมักแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก (Acetic fermentation) การหมักแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก เป็นกระบวนการหมักแบบใช้ออกซิเจน โดยใช้แบคทีเรีย *Acetobactor sp.* เปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกในช่วงอุณหภูมิการหมักประมาณ 15-34 °C



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างอะซิติก

ที่มา: <https://www.siamchemi.com/>

2.4.5 ความปลอดภัย

ความคงตัว และการเกิดปฏิกิริยาเคมี

2.4.5.1 ความเสถียร: มีความเสถียร

2.4.5.2 สารที่เข้ากันไม่ได้

2.4.5.2.1 น้ำ

2.4.5.2.2 ความร้อน

2.3.5.2.3 สารออกซิไดซ์รุนแรง

2.3.5.2.4 สารที่ทำปฏิกิริยารุนแรงกับเบส

2.4.5.3 สภาวะที่ควรหลีกเลี่ยง

2.4.5.3.1 ความร้อน

2.4.5.3.2 น้ำ และความชื้น

2.4.5.4 สารเคมีอันตรายที่เกิดจากการสลายตัว

2.4.5.4.1 คาร์บอนมอนอกไซด์

2.4.5.4.2 คาร์บอนไดออกไซด์

2.4.5.4.3 อัลดีไฮด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5.4.4 คีโตน

2.4.5.5 อันตรายจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์: ไม่เกิดปฏิกิริยา

2.4.6 การเกิดออคิภัย และการระเบิด

2.4.6.1 จัดเป็นของเหลวไวไฟ สามารถระเบิดได้เมื่อไอกรดสัมผัสกับเปลวไฟ

2.4.6.2 ทำปฏิกิริยารุนแรงกับน้ำ

2.4.7 การจัดเก็บ

2.4.7.1 เก็บไว้ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท

2.4.7.2 เก็บไว้ในบริเวณที่อุณหภูมิต่ำ และแห้ง

2.4.7.3 เก็บให้ห่างจากความร้อน แหล่งกำเนิดความร้อน บริเวณที่มีอุณหภูมิสูง

2.4.7.4 เก็บไว้ให้ห่างจากน้ำ หรือ บริเวณที่มีความชื้นสูง

2.4.7.5 เก็บไว้ให้ห่างจากเส้นใยหรือเสื้อผ้าหรือวัสดุไวไฟ

2.4.7.6 แหล่งจัดเก็บเข้าออกได้สะดวก

(Siamchai.com, ม.ป.ป)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยของ บุษกร ทองใบ (2013) โดยศึกษาการใช้กรดอะซิติกและสารสกัดจากชาเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปนเปื้อนในผักชี ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยนำผักชีที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* โดยนำผักชีมาล้างทำความสะอาดด้วยกรดอะซิติก (1%v/v) สารสกัดชา (10mg/ml) และกรดอะซิติก (1%v/v) ใช้ร่วมกับสารสกัดชา (10 mg/ml) จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำสะอาดอีกรอบ จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้กรดอะซิติก สารสกัดชา และกรดอะซิติกร่วมกับสารสกัดชาสามารถลดปริมาณ *S. aureus* ได้ 1.26, 2.33 และ 3.17 log cfu /g ตามลำดับ (p<0.05) จากผลการทดลองนี้พบว่ากรดอะซิติก (1%v/v) ร่วมกับสารสกัดชา (10 mg/ml) เป็นสารที่เหมาะสมต่อการควบคุม *S. aureus* ที่ปนเปื้อนผักชีเมื่อศึกษาระยะเวลาแช่ผักชีที่เหมาะสมโดยแปรระยะเวลาแช่ 5, 10, 20 และ 30 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนผักชีได้ 1.04, 1.32, 1.78 และ 2.27 log cfu /g ตามลำดับ (p<0.05) ดังนั้นระยะเวลาการแช่ผักชีด้วยกรดอะซิติกร่วมกับสารสกัดชาที่เหมาะสมคือ 30 นาที

งานวิจัยของ ชูเกียรติ แก้วสุข (2013) โดยศึกษาเกี่ยวกับเชื้อก่อโรคที่สะสมอยู่ในฟองน้ำล้างจาน จึงได้สุ่มเก็บตัวอย่างฟองน้ำ ฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัด และแผ่นใยขัดจากร้านจำหน่ายอาหารใน สถานศึกษารวม 53 ตัวอย่าง (ฟองน้ำ 16 ตัวอย่าง ฟองฟ้ายที่มีแผ่นใยขัด 35 ตัวอย่าง และแผ่นใยขัด 2 ตัวอย่าง) เพื่อตรวจหาปริมาณ coliforms และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษกลุ่ม *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, *B. cereus*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Coagulase positive *S. aureus* และ *E. coli* พบว่า ปริมาณ coliforms ที่ตรวจพบในตัวอย่างฟองน้ำ ฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัด และแผ่นใยขัดพบมากในช่วง $1 \times 10^6 - 1 \times 10^8$ cfu/ml (มีค่าเฉลี่ย 50 % ของฟองน้ำ 54.3 % ของฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัด และ 50 % ของแผ่นใยขัด) สำหรับเชื้อโรคอาหารเป็นพิษพบว่าตัวอย่างฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัดพบเชื้อ *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* และ *E. coli* จากร้านจำหน่ายอาหารคาวในปริมาณ 9.4, 9.4, 15.6 และ 9.4 % ตามลำดับ พบ *B. cereus*, Coagulase positive *S. aureus* และ *E. coli* จากร้านขายเครื่องดื่มและอาหารหวาน 66.7, 33.3 และ 33.3 % ตามลำดับตัวอย่างฟองน้ำจากร้านอาหารคาวพบเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* และ *E. coli* ในปริมาณ 11.1 % เท่ากัน แต่ไม่พบ Coagulase positive *S. aureus* ส่วนตัวอย่างฟองน้ำจากร้าน เครื่องดื่มและอาหารหวาน และตัวอย่างแผ่นใยขัดทั้งหมดที่นำมาตรวจนั้น ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียอาหาร เป็นพิษในกลุ่มที่ทำการศึกษ สำหรับเชื้อ *Salmonella* spp. ที่พบจากตัวอย่างฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัดทั้ง 3 ตัวอย่างนั้นมีเพียง 1 เซโรวาร คือ *Sal. Typhimurium* เมื่อศึกษาผลของสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น (น้ำส้มสายชูกลั่น 4 ซ้อนโต๊ะ (60 มล.) ต่อ น้ำครึ่งลิตร (500 ml.) ซึ่งคิดเป็น 0.6 % กรดอะซิติกตามคำแนะนำของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log cfu /ml และ 6 log cfu /ml พบว่าสามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ที่เวลา 60 นาที และ 120 นาที ตามลำดับ และทำลายเชื้อ *Sal. Typhimurium* ได้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นทำการเลือกปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ที่ระดับ 6 log cfu /ml ให้ปนเปื้อนในฟองน้ำล้างจานแบบที่มีแผ่นใยขัดที่ผ่านการใช้งานจากร้านค้ามาแล้วเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทำการศึกษาโดยการแช่ฟองน้ำล้างจานจากร้านค้าจำหน่ายอาหารในสารละลายน้ำส้มสายชูตาม คำแนะนำของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นเวลา 240 นาที เพื่อศึกษาการยับยั้ง *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ในฟองน้ำจากร้านค้า พบว่าสามารถทำลาย *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ที่ปริมาณ เชื้อเริ่มต้นประมาณ 6 log cfu /ml ที่เวลา 150 นาที และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อศึกษาถึงโครงสร้างของ ฟองน้ำล้างจานแบบที่มีแผ่นใยขัดที่มีผลต่อการเกาะติดของเชื้อก่อโรคทั้งสองผ่านกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าพื้นผิวของฟองน้ำล้างจานทั้งส่วนที่เป็นฟองน้ำและส่วนที่เป็นใยขัดมีผลต่อการยึดติดของเชื้อ *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ในฟองน้ำล้างจาน และสารละลายน้ำส้มสายชู กลั่นที่ใช้ในการศึกษามีผลต่อการทำลายเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* และ *Sal. Typhimurium* ที่ติดอยู่บน ฟองน้ำที่มีแผ่นใยขัด ซึ่งสามารถสังเกตลักษณะที่ไม่สมบูรณ์หรือการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อทั้งสองเมื่อส่อง ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1. วัสดุดิบ

3.1.1 เฉาก๊วยบรรจุในบรรจุภัณฑ์ประเภทถุงและถ้วย

3.1.2 น้ำภายในส่วนต่าง ๆ ของเครื่องบรรจุ

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution water

3.2.2 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

3.2.3 Polymyxin B sulfate 1 MU

3.2.4 1 % Potassium tellurite

3.2.5 5 % กรดอะซิติก

3.2.6 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA)

3.2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Paker medium (BP)

3.2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP)

3.2.9 อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB)

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

3.3.2 เครื่องตีปั่น stomacher

3.3.3 ไมโครปิเปต

3.3.4 แท่งแก้วรูปตัวแอล

3.3.5 ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 -37 องศาเซลเซียส

3.3.6 ตู้ปลอดเชื้อ

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเฉาก๊วยบรรจุภัณฑ์ประเภทถุง เป็นการเก็บตัวอย่างในการผลิตครั้งแรกในวันนั้น ๆ ในส่วนของเฉาก๊วยในบรรจุภัณฑ์ประเภทถ้วยเป็นการเก็บตัวอย่างจากสุ่มตัวอย่างในการผลิตไว้แล้วโดยเก็บตัวอย่างไว้ในตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส เพื่อรอจำหน่าย ตัวอย่างน้ำที่นำมาวิเคราะห์เป็นตัวอย่างน้ำที่ได้

จากส่วนต่าง ๆ ของเครื่องบรรจุแก๊วก๊วยก่อนเริ่มการดำเนินการผลิต ในส่วนของการเก็บตัวอย่างจากพื้นผิวบริเวณต่าง ๆ เช่น มือของพนักงานผลิต และพื้นผิวของหัวฉีดเครื่องบรรจุแก๊วก๊วย มีการเก็บตัวอย่างและทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อโดยการสัมผัสกับพื้นผิวโดยตรง (swab test) โดยใช้ไม้พินสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มลงในสารละลายบัฟเฟอร์หมาดๆ และกวาดบริเวณพื้นผิวภาชนะหรือมือของพนักงานผลิต จากนั้นหักไม้พินสำลีลงในหลอดที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์

3.4.2 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

3.4.2.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่าง

ซั่งตัวอย่างอาหารแห้ง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อที่ใช้สำหรับตีปั่นอาหาร เติมน้ำยาเจือจาง (Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution water ; BPB) ปริมาตร 225 มิลลิลิตรลงในถุง ตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher) นาน 1 นาที ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ สำหรับตัวอย่างประเภทของเหลวสามารถเจือจางในระดับความเจือจางต่าง ๆ ได้ทันที หลังจากนั้นเปิดตัวอย่างที่ความเจือจางต่าง ๆ ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) อย่างละ 2 จาน จานละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวน้ำอาหาร PCA ด้วยแท่งแก้วที่ปราศจากเชื้อ ทิ้งไว้สักพัก แล้วคว่ำจาน นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับโคโลนิบนจานที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี (อภิขญา ทองทับ, 2013)

3.4.2.2 การวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus*

ซั่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ เทใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติมน้ำยาเจือจาง (BPB) ปริมาณ 225 มล. นำไปตีปั่นนาน 2 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างที่ความเจือจางต่าง ๆ ด้วยน้ำยาเจือจาง (BPB) สำหรับตัวอย่างประเภทของเหลวสามารถเจือจางในระดับความเจือจางต่าง ๆ ได้ทันที จากนั้นเปิดตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-0} ปริมาตร 0.3, 0.3 และ 0.4 มล. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin agar (MYP) ที่ผิวน้ำอาหารที่แห้ง อย่างละ 1 จาน และที่ระดับความเจือจางอื่น ๆ ปิดตัวอย่างปริมาตร 0.1 มล. ใส่บนผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ (MYP) ระดับความเจือจางละ 2 จาน ใช้แท่งแก้วฆ่าเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่ว คว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส นาน 24 ชม. สังเกตโคโลนีโดยโคโลนีของ *B. cereus* จะมีสีชมพูเหมือนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ สีจะเข้มขึ้นเมื่อบ่มต่อไปและรอบโคโลนีจะมีโซนขาวขุ่น เนื่องจากเชื้อสร้างเอนไซม์เลซิทีเนส ถ้าผลที่ได้ไม่ชัดเจนให้บ่มต่ออีก 24 ชม. ก่อนนับจำนวนโคโลนีแล้วคำนวณหาจำนวนเซลล์ของ *B. cereus* ต่อกรัมของอาหาร (อภิขญา ทองทับ, 2013)

3.4.2.3 การวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus*

ซั่งตัวอย่าง 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อแล้วเติม (BPB) ปริมาตร 225 ml นำไปตีปั่นเป็นเวลา 2 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ด้วย

น้ำยาเจือจาง (BPB) สำหรับตัวอย่างประเภทของเหลวสามารถเจือจางในระดับความเจือจางต่าง ๆ ได้ทันที จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-0} ปริมาตร 0.3, 0.3 และ 0.4 มล. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium (BP) และปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ปริมาตร 0.1 มล. ใส่บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (BP) ที่ผิวหน้าอาหารแห้ง อย่างละ 2 จาน จากนั้นใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ตั้งทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบโคโลนีบนจานอาหาร BP เลือกจานที่มีโคโลนีที่น่าจะเป็นโคโลนีของ *S. aureus* (อภิขญา ทองทับ, 2013)

3.4.3 การทดลองการลดจำนวนสปอร์ของ *B. cereus* ในห้องปฏิบัติการ

3.4.3.1 การเตรียมเชื้อ *B. cereus*

เลือกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็ *B. cereus* จากจานเพาะเชื้อตัวอย่าง ใช้ห้วงเชื้อเชื้อโคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแบนที่มีอาหาร Trypticase soy agar (TSA) โดยกลั้วตัวอย่างให้เต็มผิวหน้าอาหาร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำเกลือ 10 มิลลิลิตร เติมลงในขวดแบนที่มีสปอร์ของ *B. cereus* เกิดขึ้น และใช้ห้วงเชื้อ เชื้อสปอร์บนผิวหน้าอาหารออกมาให้มากที่สุด และทดสอบจากขวดแบนทั้งหมดรวมกันใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาด 250 มล. นำสปอร์ส่วนหนึ่งไปให้ความร้อนในน้ำที่มีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 10 นาที เพื่อกำจัดเซลล์ของเชื้อ *B. cereus* และนำไปตรวจสอบสปอร์โดยเทคนิคการย้อมสีแกรม และนำไปดูลักษณะของสปอร์โดยผ่านการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.3.2 การวิเคราะห์จำนวนสปอร์ของ *B. cereus* โดยใช้น้ำอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสที่เวลาต่าง ๆ ในการลดจำนวนสปอร์ *B. cereus*

นำสปอร์ของ *B. cereus* จากขวดรูปชมพู่ 1 มล. แบ่งใส่หลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 9 มล. โดยหลอดแรกจะนำไปหาปริมาณเชื้อเริ่มต้น และนำที่ 2,3 และ 4 ไปวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5,10 และ 15 นาทีตามลำดับ ทำซ้ำเวลาละ 3 ชั่วโมง และนำหลอดที่ 5,6 และ 7 ไปวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาดังกล่าวนำหลอดทดลองวางในน้ำแข็งทันทีเพื่อหยุดการเจริญของเชื้อ ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ จากนั้นปิเปตตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจาง เพาะเลี้ยงในจานอาหาร TSA โดยวิธีการเทเพลท (Pour plate) หรือ การเกลี่ยเชื้อในจานเพาะเชื้อ (Spread plate) และนำจานเพาะเชื้อบ่มในอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส 24 ชม. และนับจำนวนโคโลนีที่จานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีเกิดขึ้นตั้งแต่ 30-300 โคโลนี

3.4.3.3 การวิเคราะห์จำนวนสปอร์ของ *B. cereus* โดยใช้อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ ร่วมกับการใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการลดจำนวน *B. cereus*

นำกรดอะซิติกใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 % (ปริมาตร/ปริมาตร , v/v) จำนวน 2 ชุดการทดลองและทำการวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) นำสปอร์ของ *B. cereus* จากขวดรูปชมพู่ 1 มล. ใส่ในกรดอะซิติกความเข้มข้นต่างๆ โดยชุดที่ 1 วางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องและชุดที่ 2 วางในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยหลอดทดลองที่ 1 ของแต่ละความเข้มข้นวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องหรือในอ่างน้ำร้อน 5 นาที หลอดทดลองที่ 2 ของแต่ละความเข้มข้นวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องหรือในอ่างน้ำร้อน 10 นาที และ หลอดทดลองที่ 3 ของแต่ละความเข้มข้นวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องหรือในอ่างน้ำร้อน 15 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง เมื่อครบเวลานำหลอดทดลองวางในถังน้ำแข็งทันทีเพื่อหยุดการเจริญของเชื้อ ทำการเจือจางต่อที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ และปิเปตตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางเพาะเลี้ยงในจานอาหาร TSA โดยวิธีการเทเพลท (Pour plate) หรือ การเกลี่ยเชื้อในจานเพาะเชื้อ (Spread plate) และนับจำนวนเพาะเชื้อป่มในอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส 24 ชม. และนับจำนวนโคโลนีที่จานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีเกิดขึ้นตั้งแต่ 30-300 โคโลนี

3.5 การนำไปใช้ในโรงงานผลิตแก๊วย

3.5.1 การนำไปใช้ภายในเครื่องบรรจุ น้ำค้างภายในท่อและท่อที่สัมผัสกับแก๊วย

เมื่อได้สถานะที่เหมาะสมต่อการลดจำนวนสปอร์ *B. cereus* จากการทดลอง จะนำไปดำเนินการในโรงงาน ในส่วนของเครื่องบรรจุ โดยการใช้อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและระยะเวลาในการต้มที่หม้อต้มแก๊วยที่เหมาะสม และอัดน้ำผ่านท่อเพื่อยังเครื่องบรรจุแก๊วย ภายนอกเครื่องบรรจุแก๊วยจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิ, ความเข้มข้นของกรดอะซิติก และเวลาในการล้างที่เหมาะสมเช่นกันในการฉีดล้างบริเวณภายนอกเครื่องบรรจุ เช่น บริเวณหัวฉีดเครื่องบรรจุแก๊วย

3.5.2 การนำไปใช้กับอุปกรณ์อื่น ๆ ที่สัมผัสกับอาหาร

โดยการเตรียมน้ำล้างโดยใช้อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและระยะเวลาในการต้มอุปกรณ์ที่เหมาะสม

3.5.3 การปรับปรุงสุขลักษณะส่วนบุคคล

สุขลักษณะส่วนบุคคล (personal hygiene) เป็นข้อปฏิบัติของผู้ปฏิบัติงานในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ตาม Good Manufacturing Practice (GMP) ซึ่งจะทำให้อาหารปลอดภัย ลดการปนเปื้อนซึ่งจะนำสู่อันตรายในอาหาร ทั้งอันตรายทางกายภาพ อันตรายทางเคมี และอันตรายทางจุลินทรีย์

ข้อปฏิบัติเพื่อให้ได้สุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดี มีดังนี้

3.5.3.1 ผู้ปฏิบัติงานในบริเวณผลิตต้องไม่เป็นโรคติดต่อตามที่กำหนดโดยกฎกระทรวง เช่น วัณโรค, อหิวาตกโรค, ไข้ไทฟอยด์, โรคบิด, ไข้สวกใส, ไข้หัด, โรคคางทูม, โรคเรื้อน, โรคผิวหนังที่น่ารังเกียจ, โรคไวรัสตับอักเสบบีชนิดเอหรือมีบาดแผลอันอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ และจัดให้คนงาน

ได้รับการตรวจร่างกายโดยผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรมอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง และให้เก็บเอกสารตรวจร่างกายไว้เป็นหลักฐาน

3.5.3.2 ต้องห้ามหรือป้องกันมิให้บุคคลใดทำการอย่างใดอย่างหนึ่ง อันพึงรังเกียจต่อการรักษาความสะอาดในการผลิต เช่น สูดบุหรี่ย บ้วนน้ำลาย บ้วนน้ำหมาก ในบริเวณที่ผลิต บรรจุ หรือเก็บรักษาอาหารที่ผลิตแล้วและสถานที่เก็บรักษาวัตถุดิบ

3.5.3.3. การแต่งกาย เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานทุกคนในขณะที่ดำเนินการผลิตและมีการสัมผัสโดยตรงกับอาหาร หรือส่วนผสมของอาหารหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของพื้นที่ผิวที่อาจมีการสัมผัสกับอาหาร ต้องสวมเสื้อผ้าที่สะอาดและเหมาะสมต่อการปฏิบัติงาน กรณีที่ใช้เสื้อมือก็ต้องสะอาดล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนเริ่มปฏิบัติงาน และหลังการปนเปื้อน ควรใช้ถุงมือที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์และสะอาดถูกสุขลักษณะ ทำด้วยวัสดุที่ไม่มีสารละลายหลุดออกมาปนเปื้อนอาหารและของเหลวซึมผ่านเข้าไม่ได้ สำหรับจับต้องหรือสัมผัสกับอาหาร กรณีไม่สวมถุงมือต้องมีมาตรการให้คนงานล้างมือ เล็บและแขนให้สะอาด (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และคณะ, ม.ป.ป)

3.6 การตรวจสอบเชื้อของผลิตภัณฑ์เนากัวยหลังจากแนะนำวิธีการล้างเครื่องเพื่อตรวจสอบอายุการเก็บรักษา

3.6.1 เก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเนากัวยจำนวน 24 ถูงหรือถ้วย เพื่อตรวจสอบอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน

3.6.2 การตรวจสอบอายุการเก็บรักษาโดยการตรวจสอบการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *B. cereus*

นำตัวอย่างเนากัวยมาตรวจสอบอายุการเก็บรักษาโดยการตรวจวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างตามข้อ 3.4.2.1 และตรวจวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนของเชื้อ *B. cereus* ตามข้อ 3.4.2.2 เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 7 วัน

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดสอบทางสถิติวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกร่วมกับการใช้น้ำที่เวลาต่าง ๆ ด้วยสถิติ ANOVA Duncan's multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานผลิตเนก้า

4.1.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานผลิตเนก้า ครั้งที่ 1

4.1.1.1 การตรวจวิเคราะห์ *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างเนก้า

จากการเก็บตัวอย่างเนก้าจากโรงงานผลิตเนก้า พบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 110 cfu/g และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* $<1 \times 10^1$ cfu/g (ดังตาราง 4.1)

4.1.1.2 การตรวจวิเคราะห์ *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำคั่งภายในท่อเครื่องผลิตเนก้า

จากการเก็บตัวอย่างของน้ำคั่งภายในท่อเครื่องผลิตเนก้า พบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 2.2×10^5 cfu/ml. และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* 2.5×10^3 cfu/ml. (ดังตาราง 4.1)

4.1.1.3 การตรวจวิเคราะห์ *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำชะสายยาง

จากการเก็บตัวอย่างของชะสายยาง พบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 2.9×10^5 cfu/ml. และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* 3.2×10^3 cfu/ml. (ดังตาราง 4.1)

4.1.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานผลิตเนก้า ครั้งที่ 2

4.1.2.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างเนก้า

จากการเก็บตัวอย่างเนก้าจากโรงงานผลิตเนก้า พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) 3.6×10^4 cfu/g มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* $<1 \times 10^1$ cfu/g และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* $<1 \times 10^1$ cfu/g (ดังตาราง 4.1) โดยพบว่าตัวอย่างเนก้ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.) ซึ่งกำหนดให้เนก้าต้องมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน $<1 \times 10^4$ cfu/g

4.1.2.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างมือของพนักงานผู้สัมผัสเนก้า

จากการเก็บตัวอย่างของพนักงานผู้สัมผัสผัดเผ็ด จากโรงงานผลิตเผ็ดก๊วยจำนวน 2 คน พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) 3.8×10^3 cfu/มือ และ 1.5×10^4 มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* $< 1 \times 10^1$ cfu/มือ ทั้ง 2 คน และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* $< 1 \times 10^1$ cfu/มือ และ 4.5×10^2 cfu/มือ (ดังตาราง 4.1) โดยพบว่าตัวอย่างมือของพนักงานผู้สัมผัสผัดเผ็ดก๊วยมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) และ *S. aureus* เกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด ซึ่งกำหนดให้มือผู้สัมผัสอาหารต้องมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน < 500 cfu/มือ และต้องไม่พบเชื้อ *S. aureus* เลย (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560) และพบว่ามีโคโลนีที่คาดว่าจะเป็นเชื้อ *B. cereus* ในการตรวจสอบเบื้องต้นจากตัวอย่างมือผู้สัมผัสคนที่ 2 จึงนำส่งตรวจยืนยันเชื้อที่สำนักมาตรฐานและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าเป็นเชื้อ *B. cereus*

4.1.2.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำคั่งภายในท่อของเครื่องผลิตเผ็ดก๊วย

จากการเก็บตัวอย่างของน้ำคั่งภายในท่อของเครื่องผลิตเผ็ดก๊วย จากโรงงานผลิตเผ็ดก๊วย พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) 6.2×10^3 cfu/ml. มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* $< 1 \times 10^1$ cfu/ml. และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* $< 1 \times 10^1$ cfu/ml. (ดังตาราง 4.1) แต่มีโคโลนีที่คาดว่าจะเป็นโคโลนีของเชื้อ *B. cereus* จึงได้นำส่งตรวจยืนยันเชื้อที่สำนักมาตรฐานและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าเป็นเชื้อ *B. cereus*

4.1.2.4 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างเครื่องผลิตบริเวณหัวฉีดเครื่องบรรจุเผ็ดก๊วย

จากการเก็บตัวอย่างของเครื่องผลิตบริเวณหัวฉีดบรรจุเผ็ดก๊วยจากโรงงานผลิตเผ็ดก๊วย พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC) 9.6×10^3 cfu/ ตารางเซนติเมตร มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* $< 1 \times 10^1$ cfu/ ตารางเซนติเมตร และมีปริมาณเชื้อ *S. aureus* $< 1 \times 10^1$ cfu/ ตารางเซนติเมตร (ดังตาราง 4.1) โดยพบว่าตัวอย่างเครื่องผลิตบริเวณหัวฉีดบรรจุเผ็ดก๊วย มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* เกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด ซึ่งกำหนดให้พื้นผิวสัมผัสอาหาร ต้องมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน < 100 cfu/ตารางเมตร และต้องไม่พบเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* เลย (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2560)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (Total Plate count, TPC), *B. cereus* และ *S. aureus* ในตัวอย่างต่าง ๆ ภายในโรงงานเนก้าวย

ตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)					
	Total Plate count (cfu/ml)		<i>B. cereus</i> (cfu/ml)		<i>S. aureus</i> (cfu/ml)	
ครั้งที่ในการสุ่มตรวจ	1	2	1	2	1	2
เนก้าวย (cfu/g)	-	4.54 ± 0.01	2.02 ± 0.04	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹
มือของพนักงานผู้สัมผัสเนก้าวย คนที่ 1 (cfu/มือ)	-	3.57 ± 0.03	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹
มือของพนักงานผู้สัมผัสเนก้าวย คนที่ 2 (cfu/มือ)	-	4.18 ± 0.02	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	2.65 ± 0.02
น้ำค้างภายในท่อของเครื่องผลิต	-	3.79 ± 0.06	5.35 ± 0.02	<1 × 10 ¹	3.39 ± 0.02	<1 × 10 ¹
หัวฉีดเครื่องบรรจุเนก้าวย	-	3.97 ± 0.02	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹	<1 × 10 ¹

จากการเก็บตัวอย่างภายในโรงงานเนก้าวยพบว่าเชื้อ *B. cereus* มีการปนเปื้อน เกิดความเสื่อมเสียต่อเนก้าวย และทำให้อายุการเก็บรักษาของเนก้าวยนั้นสั้นลง นั้นสามารถพบการปนเปื้อนจากปัจจัยหลายอย่างในโรงงาน เช่น น้ำที่ค้างอยู่ในเครื่องบรรจุ มือของผู้ที่ต้องสัมผัสกับเนก้าวย จึงพบการปนเปื้อนลงไปในผลิตภัณฑ์เนก้าวย จึงต้องมีวิธีการการลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ลงด้วยการปรับปรุงการทำความสะอาดเครื่องผลิตเนก้าวยที่ถูกต้อง และปรับปรุงสุขลักษณะส่วนบุคคลที่เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้มีโอกาสทำให้เกิดการปนเปื้อนในเนก้าวย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การวิเคราะห์การลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในห้องปฏิบัติการ

ตามคำแนะนำของกรมวิทยาศาสตร์และการแพทย์แนะนำว่าการใช้กรดน้ำส้มหรือ กรดอะซิติกความเข้มข้น 5 % ปริมาตร 60 มิลลิลิตรผสมกับน้ำ 500 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 0.6% v/v) สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในแผ่นฟองน้ำ คือ *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *B. cereus*, *Staphyl aureus* ลงได้โดยแช่ฟองน้ำ ลงกรดอะซิติกความเข้มข้นดังกล่าวเป็นระยะเวลาครึ่งคืนและพบสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในฟองน้ำได้ในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค แต่วิธีการดังกล่าวใช้เวลาในการปฏิบัตินานเกินไป ทำให้ไม่เหมาะแก่นำมาปฏิบัติในการล้างทำความสะอาดเครื่องผลิตเฉาก๊วย จึงต้องเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะซิติกในการทดลอง โดยจะใช้กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 1-3% ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลา 5, 10 และ 15 นาที

4.2.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* และเปอร์เซ็นต์การลดลง ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1-3% ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง

4.2.1.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0% (v/v) เป็นระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นคือ 1.4×10^8 , 2.4×10^8 , 2.6×10^8 และ 5.2×10^8 cfu/mL. ตามลำดับ พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่เหลืออยู่หลังจากการทดลอง 2.3×10^6 , 1.9×10^6 , 1.8×10^6 , 8.7×10^5 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.2) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 21.96%, 24.33%, 25.48%, 31.88%, ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.2)

4.2.1.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.5% (v/v) เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่เหลืออยู่หลังจากการทดลอง 2.8×10^6 , 1.9×10^6 , 8.7×10^5 , 6.0×10^5 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.2) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 20.86%, 24.33%, 29.29%, 33.72% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.2)

4.2.1.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 2.0% (v/v) เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่เหลืออยู่หลังจากการทดลอง 8.7×10^5 , 2.9×10^5 , 2.6×10^5 , 2.1×10^5 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.2) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 27.12%, 34.22%, 35.60%, 39.00% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.2)

4.2.1.4 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 2.5% (v/v) เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่เหลืออยู่หลังจากการ

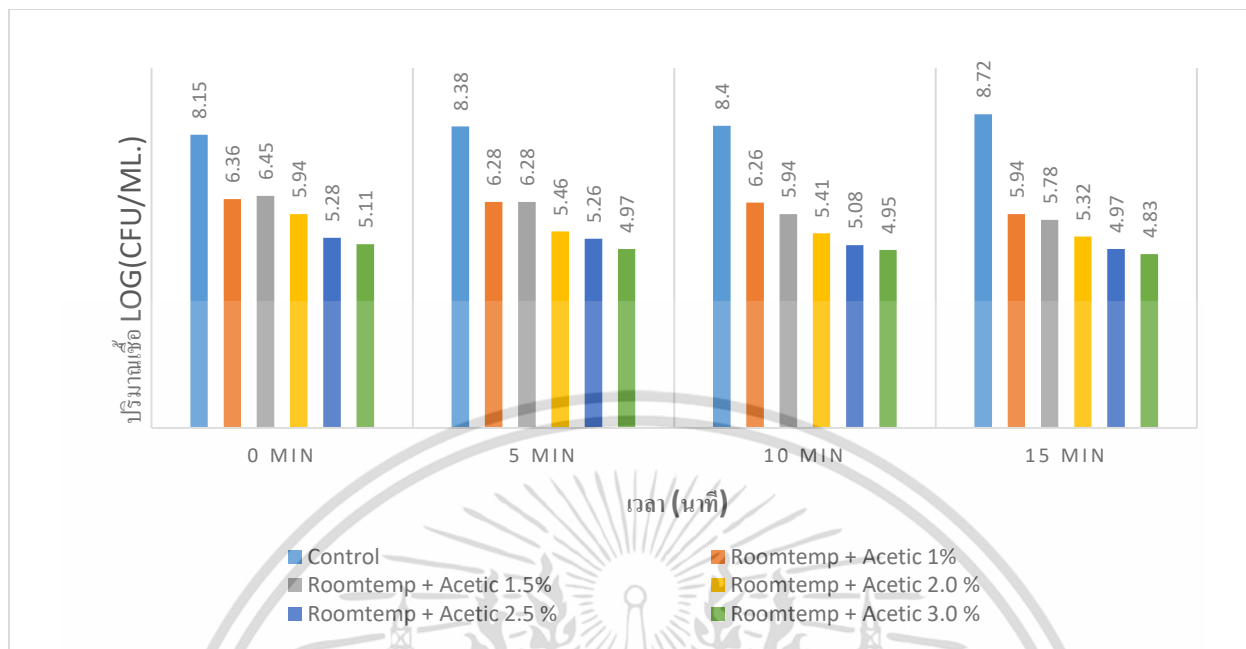
ทดลอง 1.9×10^5 , 1.8×10^5 , 1.2×10^5 , 9.3×10^4 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.2) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 35.21%, 36.63%, 39.52%, 43.00% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.2)

4.2.1.5 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0% (v/v) เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่เหลืออยู่หลังจากการทดลอง 1.3×10^5 , 9.2×10^4 , 8.9×10^4 , 6.7×10^4 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.2) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 37.3%, 40.12%, 41.07%, 44.61% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.2)

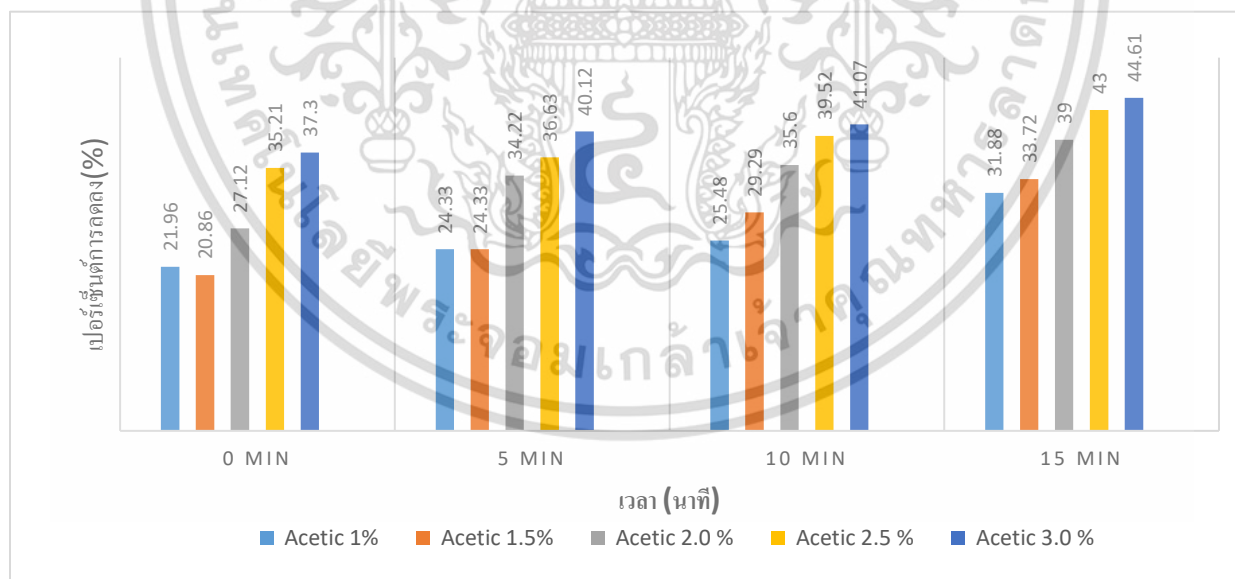
ตารางที่ 4.2 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นกรดอะซิติก (%)		ปริมาณเชื้อ (cfu/mL.)		
	1 %	1.5 %	2.0 %	2.5 %	3.0 %
0 min	9.10 ± 0.02^a	6.36 ± 0.01^b	6.45 ± 0.01^c	6.09 ± 0.04^d	5.04 ± 0.03^e
5 min	9.20 ± 0.05^a	6.26 ± 0.01^b	6.28 ± 0.12^b	5.62 ± 0.04^c	4.98 ± 0.14^d
10 min	9.20 ± 0.07^a	6.26 ± 0.05^b	5.94 ± 0.03^c	5.32 ± 0.02^d	4.98 ± 0.01^e
15 min	10.10 ± 0.05^a	5.94 ± 0.01^b	5.78 ± 0.07^c	5.11 ± 0.11^d	4.93 ± 0.03^e

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างของปัจจัยในแนวนอนที่เวลาและความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* และเปอร์เซ็นต์การลดลง ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1-3% ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

4.2.2.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นคือ 2.3×10^9 , 2.8×10^9 , 3.1×10^9 และ 2.5×10^{10} cfu/mL. ตามลำดับ หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 3.0×10^6 , 1.6×10^6 , 1.1×10^6 , 4.2×10^5 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 30.77%, 34.39%, 35.47% และ 39.96% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

4.1.2.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0% (v/v) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 3.0×10^6 , 9.2×10^5 , 4.3×10^5 และ 1.5×10^5 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 30.77%, 36.32%, 39.85% และ 50.19% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

4.2.2.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.5% (v/v) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 1.5×10^6 , 5.4×10^5 , 2.2×10^5 และ 1.5×10^4 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 33.97%, 38.28%, 44.15% และ 59.8% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

4.2.2.4 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 2.0% (v/v) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 6.8×10^5 , 5.2×10^5 , 1.5×10^5 และ 8.4×10^3 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 37.71%, 39.37%, 46.26% และ 62.31% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

4.2.2.5 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 2.5% (v/v) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 6.6×10^4 , 3.0×10^4 , 2.7×10^4 และ 6.6×10^3 cfu/mL.

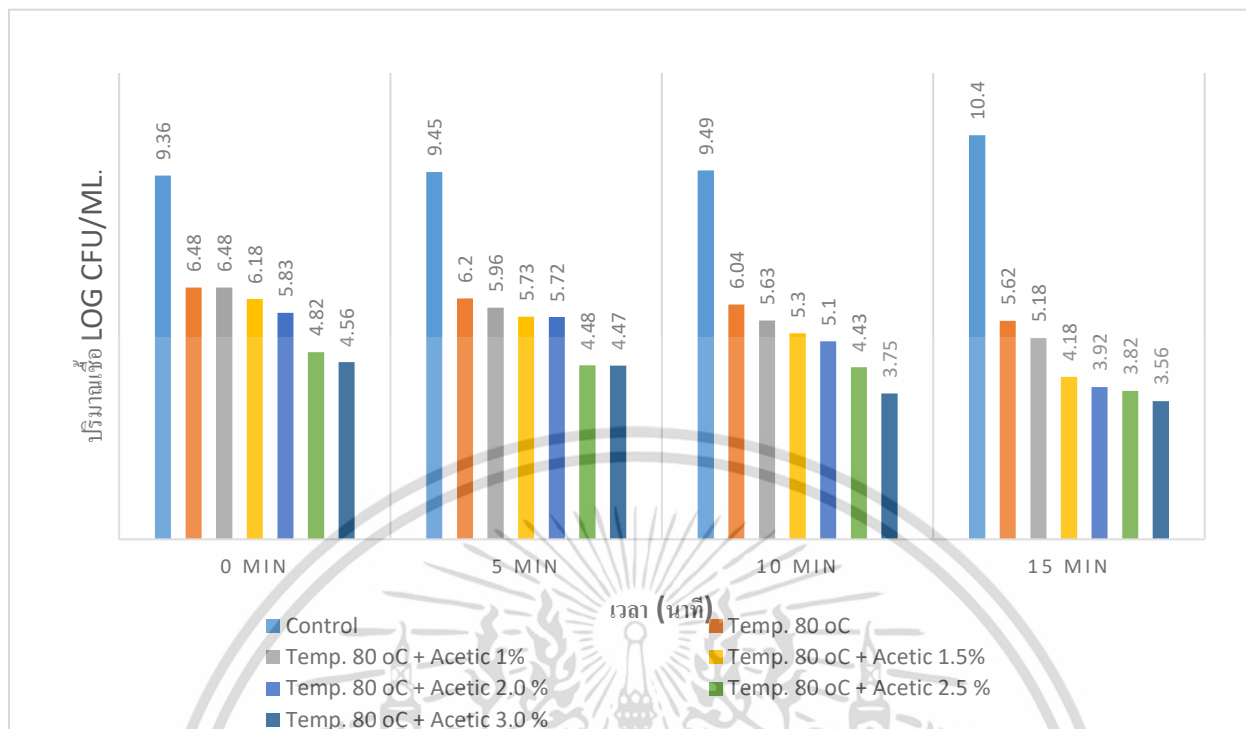
ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 48.5%, 52.14%, 53.32% และ 63.27% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

4.2.2.6 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* ด้วยการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0% (v/v) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0,5,10 และ 15 นาที หลังการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อ *B. cereus* 3.6×10^4 , 2.9×10^4 , 5.6×10^3 และ 3.2×10^3 cfu/mL. ตามลำดับ (ดังตาราง 4.3) และสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ 51.28%, 52.24%, 59.94% และ 65.77% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.4)

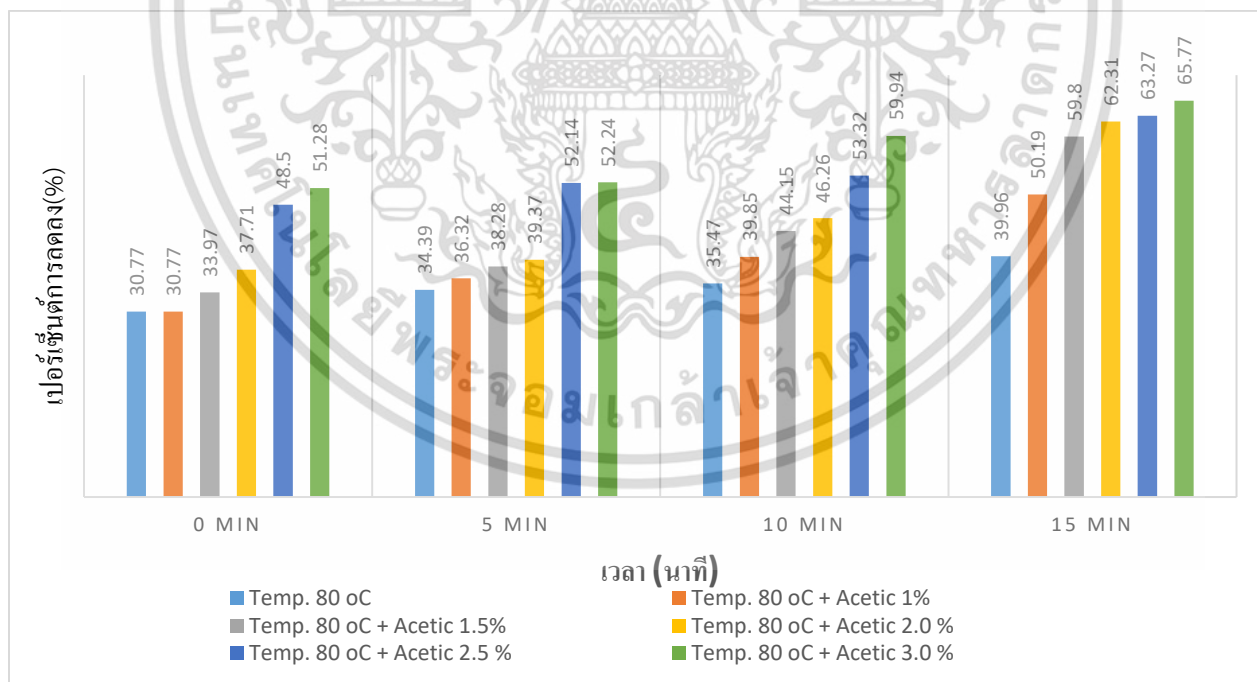
ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นกรดอะซิติก (%)		ปริมาณเชื้อ (cfu/mL)		
	1 %	1.5 %	2.0 %	2.5 %	3.0 %
0 min	6.56 ± 0.02^a	6.48 ± 0.02^b	6.18 ± 0.01^c	5.83 ± 0.03^d	4.82 ± 0.04^e
5 min	6.20 ± 0.05^a	5.96 ± 0.05^b	5.73 ± 0.04^c	5.72 ± 0.01^c	4.48 ± 0.03^d
10 min	6.04 ± 0.01^a	5.63 ± 0.07^b	5.34 ± 0.06^c	5.18 ± 0.01^d	4.43 ± 0.05^e
15 min	5.62 ± 0.04^a	5.18 ± 0.07^b	4.18 ± 0.01^c	3.92 ± 0.03^d	3.82 ± 0.04^e

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างของปัจจัยในแนวนอนที่เวลาและความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซนต์ของเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 – 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

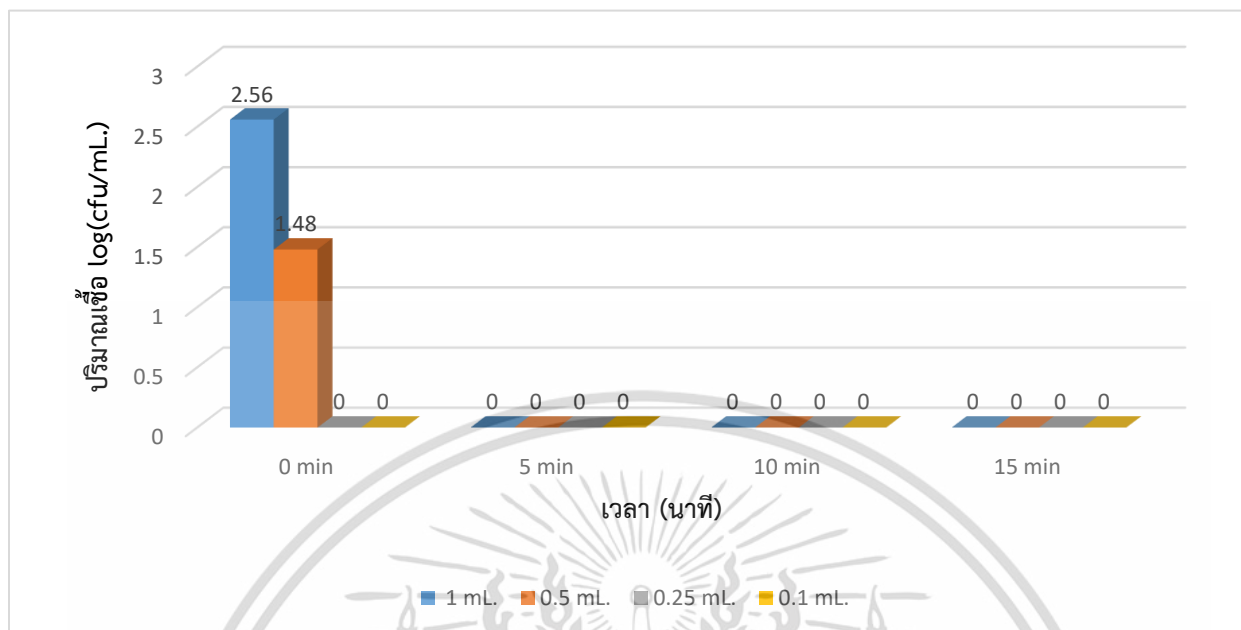
4.3 การเลือกความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์การลดปริมาณเชื้อ

B. cereus

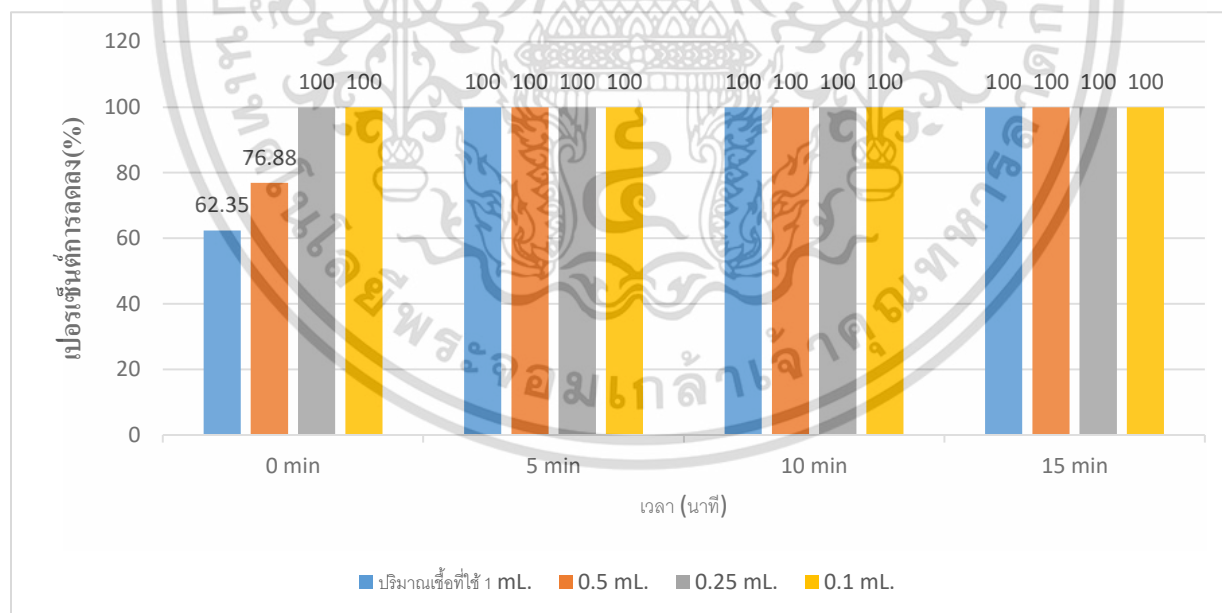
จากการทดลองการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *B. cereus* และเปอร์เซ็นต์การลดลง ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1-3% ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่า ความเข้มข้นของอะซิติกที่ 3 % สามารถทำให้เชื้อ *B. cereus* มีปริมาณลดลงได้มากที่สุด จึงได้นำมาทดลองซ้ำอีกครั้งโดยการลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* เริ่มต้นลงโดยใช้เชื้อเริ่มต้น 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิลิตร จึงทำให้มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* เริ่มต้นเหลือเพียง 6.4×10^6 , 2.7×10^6 , 1.8×10^6 และ 6.9×10^5 cfu/mL และใช้สภาวะการทดลองร่วมกับน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 5, 10 และ 15 นาที พบว่าทำให้สามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้ทั้งหมด (ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

สภาวะการทดลอง	ปริมาณ <i>B. cereus</i> (cfu/ml) ที่คงเหลือเมื่อผ่านสภาวะในการทดลอง ที่เวลาต่าง ๆ			
	0 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
1. น้ำที่อุณหภูมิ 80°C + 3% กรดอะซิติก (เชื้อเริ่มต้น 1 ml.)	2.41 ± 0.01	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$
2. น้ำที่อุณหภูมิ 80°C + 3% กรดอะซิติก (เชื้อเริ่มต้น 0.5 ml.)	1.48 ± 0.03	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$



ภาพที่ 4.5 ปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงปริมาณเชื้อ *B. cereus* หลังจากการทดลองการลดปริมาณเชื้อ ด้วยกรดอะซิติกร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นของกรดอะซิติก	อุณหภูมิ (33°C)	อุณหภูมิ 80 °C
0	control	9.10± 0.02 ^{aA}	6.56± 0.02 ^{aB}
0	1%	6.36± 0.01 ^{cB}	6.48± 0.02 ^{bA}
0	1.50%	6.45± 0.01 ^{bA}	6.18± 0.01 ^{cB}
0	2%	6.09± 0.04 ^{dA}	5.83± 0.03 ^{dB}
0	2.50%	5.04± 0.03 ^{eA}	4.82± 0.04 ^{eB}
0	3%	5.08± 0.02 ^{eA}	4.56± 0.04 ^{fB}
5	control	9.20± 0.05 ^{aA}	6.20± 0.05 ^{aB}
5	1%	6.26± 0.01 ^{bA}	5.96± 0.05 ^{bB}
5	1.50%	6.28± 0.12 ^{bA}	5.73± 0.04 ^{cB}
5	2%	5.62± 0.04 ^{cB}	5.72± 0.01 ^{cB}
5	2.50%	4.98± 0.14 ^{dA}	4.48± 0.03 ^{dB}
5	3%	4.90± 0.09 ^{fA}	4.46± 0.01 ^{dB}
10	control	9.20± 0.07 ^{aA}	6.04± 0.01 ^{aB}
10	1%	6.26± 0.05 ^{bA}	5.63± 0.07 ^{bB}
10	1.50%	5.94± 0.03 ^{cA}	5.34± 0.06 ^{cB}
10	2%	5.32± 0.02 ^{dA}	5.18± 0.01 ^{dB}
10	2.50%	4.98± 0.01 ^{eA}	4.43± 0.05 ^{eB}
10	3%	4.85± 0.01 ^{fA}	3.75± 0.04 ^{fB}
15	control	10.10± 0.05 ^{aA}	5.62± 0.04 ^{aB}
15	1%	5.94± 0.01 ^{bA}	5.18± 0.07 ^{bB}
15	1.50%	5.78± 0.07 ^{cA}	4.18± 0.01 ^{cB}
15	2%	5.11± 0.11 ^{dA}	3.92± 0.03 ^{dB}
15	2.50%	4.93± 0.03 ^{eA}	3.82± 0.04 ^{eB}
15	3%	4.69± 0.01 ^{fA}	3.51± 0.02 ^{fB}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ * ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f แสดงความแตกต่างของปัจจัยในแนวตั้งที่เวลาและอุณหภูมิต่าง ๆ
มีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** ตัวอักษร A และ B แสดงความแตกต่างในแนวนอนของความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่มีผลต่อการลด
ปริมาณของเชื้อ *B. cereus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์การลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า การใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 3.0 % (v/v) ร่วมกับการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้มากที่สุดเนื่องจาก *B. cereus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า pH 4.9 ถึง 9.3 ซึ่งจากการทดลองพบว่า กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 3.0% (v/v) มีค่า pH ประมาณ 2.4-2.5 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสมในการเจริญของ *B. cereus* และ น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากการรายงานการหาความร้อนที่เหมาะสมในการกำจัดแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ต่าง ๆ ออกจากนมผงในประเทศจีนพบว่าการใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถกำจัดเซลล์ของแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ได้หมดแต่ยังเหลือสปอร์ของแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ไว้ (F.A. Sadiq *et al.*, 2016) และจากการทดลองสถานะที่เลือกดังกล่าวสามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* ได้ถึง 6.4×10^6 cfu/mL. ซึ่งเป็นปริมาณที่มากกว่าที่ตรวจพบได้ในตัวอย่างต่าง ๆ จากโรงงานเนก้าวกัย จึงคาดว่าสถานะดังกล่าวสามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* จากตัวอย่างในโรงงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และกรดอะซิติกที่ใช้เป็นน้ำส้มสายชูที่สามารถรับประทานได้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงสามารถใช้ได้ง่ายและปลอดภัย

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากผลการทดลองการใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 1 – 3% ในการลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่พบการปนเปื้อนในเนาก๋วย จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าการใช้น้ำที่อุณหภูมิห้องที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้นต่าง ๆ นั้น เมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 15 นาทีพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น การใช้ น้ำที่อุณหภูมิห้องที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้นต่าง ๆ จึงยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการลดเชื้อ *B. cereus* ได้ และเมื่อทดลองใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้นต่าง ในการลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที พบว่าการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้น 3% สามารถลดเชื้อ *B. cereus* ได้ทั้งหมดตั้งแต่เวลา 5 นาที จากการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อความแม่นยำในการปฏิบัติงานจริงจึงได้เลือกวิธีการใช้น้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้น 3% เป็นระยะเวลา 15 นาที มาใช้ในการล้างทำความสะอาดเครื่องผลิตเนาก๋วยเพื่อไม่ให้มีการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ลงสู่เนาก๋วยที่เป็นสาเหตุที่ทำให้การเก็บรักษาเนาก๋วยสั้นลง จากการทดลองใช้พบว่าเนาก๋วยที่ผลิตจากเครื่องที่ผ่านการล้างด้วยวิธีดังกล่าวแล้วทำให้ไม่พบเชื้อ *B. cereus* และมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ คือ *E. coli*, ยีสต์และรา ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกำหนด (มผช.)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 3 % ทำให้เกิดกลิ่นที่รุนแรง เมื่อนำไปใช้ในการล้างเครื่องผลิตเนาก๋วย จึงต้องใช้น้ำล้างอีกครั้ง จึงอาจเป็นการสิ้นเปลืองน้ำมากขึ้นเล็กน้อย

5.2.2 การใช้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้น 3% ในการนำไปใช้ในการล้างเครื่องผลิตเนาก๋วย ต้องใช้เป็นปริมาณมาก เนื่องจากน้ำส้มสายชูเริ่มต้นมีความเข้มข้น 5% ซึ่งจะต้องเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นมากขึ้น เพื่อลดปริมาณการใช้กรดอะซิติก

บรรณานุกรม

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก: <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร/>. 18 พฤษภาคม 2563.
- ชูเกียรติ แก้วสุข. 2556. ผลของน้ำส้มสายชูกลิ่นต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ในฟองน้ำล้างจาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาสุขาภิบาลอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บุษกร ทองใบ. 2556. ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอะซิติกและสารสกัดชาต่อ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนผักชี. มหาสารคาม: มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. เฉาก๊วย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps517_47.pdf/. 3 มิถุนายน 2563.
- มูลนิธิหมอชาวบ้าน. ประโยชน์ของเฉาก๊วยสรรพคุณมากกว่าช่วยดับกระหาย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://health.kapook.com/view169025.html>. 12 เมษายน 2563.
- สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/staphylococcus_aureus2.pdf. 12 เมษายน 2563
- อภิขญา ทองทับ. 2013. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหารฉบับปรับปรุงใหม่. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.facagri.cmru.ac.th/2013/wp-content/uploads/2013/03/คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหารฉบับปรับปรุงใหม่-2013.pdf>. 14 พฤศจิกายน 2562.
- Amprohealth. 2018. Acetic Acid. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://amprohealth.com/nutrition/acid/>. 18 พฤษภาคม 2563.
- Sadiq, F.A., Li, Y., Liua, T., Flintc, S., Zhanga, G., Yuana, L., Peia, Z., He, Q. 2016. The heat resistance and spoilage potential of aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders. *International Journal of Food Microbiology* 238: 193-201.
- Siamchemi. Acetic Acid. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.siamchemi.com/กรดอะซิติก/>. 18 พฤษภาคม 2563.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 Baird-Parker medium (BP)

ก.1.1 Base medium

Tryptone	10	g.
Beef extract	1	g.
Yeast extract	1	g.
Sodium pyruvate	10	g.
Lithium Chloride.6H ₂ O	5	g.
Agar	15	g.
น้ำกลั่น	950	ml.
Final Ph	7.0±0.2	

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวันละลาย ปรับ pH เทสารละลายที่ได้ลงฟลาสก์ 500 ml. ให้ได้ฟลาสก์ละ 190 ml. ปิดจุกแล้วฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ก.1.2 สารละลาย 1 % Potassium tellurite

Potassium tellurite	1	g.
น้ำกลั่น	100	ml.

ละลาย Potassium tellurite ในน้ำกลั่น กรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิท เก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ก.1.3 Egg yolk-tellurite emulsion

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไข่ไก่ใน HgCl₂ 1 นาที จากนั้นแช่ใน 70 % ethanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นตอกไข่เพื่อแยกไข่แดงออกจากไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงลงในขวดที่ขวดปลอดเชื้อที่มีซีตบอกร ปริมาตรผสมไข่แดงกับน้ำเกลือ 0.85 % (normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมในอัตราส่วน น้ำเกลือ 0.85% 5 ส่วนกับไข่แดง 5 ส่วน จากนั้นนำ Egg yolk ที่ได้ 50 ml. ผสมกับสารละลาย 1 % Potassium tellurite ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว 10 ml. ปิดฝาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ก.1.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบ่งอาหาร BP base medium มา 190 ml. (อุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 10 ml. ผสมให้เข้ากันระวังฟองอากาศ แล้วเทลงใส่จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

ก.2 Mannitol-Egg Yolk-polymycib (MYP) Agar

ก.2.1 Base medium

Beef extract	1	g.
Peptone	10	g
Mannitol	10	g.
NaCl	10	g.
Phenol red	0.025	g.
Agar	15	g.
น้ำกลั่น	950	ml.
Final pH	7.0±0.2	

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เทสารละลายที่ได้ลงพลาสติก 500 ml. ให้ได้พลาสติกละ 225 ml. ปิดจุกแล้วฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ก.2.2 Polymyxin B Solution

ละลายผง Polymyxin B Sulfate 1 MU (Sigma P1004)] ลงในน้ำกลั่น 100 ml. กรองผ่านแผ่นกรองพลาสติก 0.2 µm เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิท เก็บในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งใช้

ก.2.3 Egg yolk emulsion, 50%

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไข่ไก่ใน HgCl₂ 1 นาที จากนั้นแช่ใน 70 % ethanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นตอกไข่เพื่อแยกไข่แดงออกจากไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงลงในขวดที่ขวดปลอดเชื้อที่มีขีดบอกปริมาตรผสมไข่แดงกับน้ำเกลือ 0.85 % (normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมในอัตราส่วนที่เท่ากัน ปิดฝาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ก.2.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบ่งอาหาร MYP agar มา 225 ml. (ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส) เติม Polymyxin B ปริมาตร 2.5 ml. จากนั้นเติม 50% Egg yolk emulsion ปริมาตร 25 ml. โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

ก.3 Plate Count Agar (Standard Method)

Tryptone	5	g.
Yeast extract	2.5	g.
Dextrose	1	g.
Agar	15	g.
Final pH	7.0±0.2	

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีฝาปิด/จุกสำลี นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ก.4 Potato Dextrose Agar

Potato infusion	200	g.
Dextrose	20	g.
Agar	20	g.
น้ำกลั่น	1	L.
Final pH	5.6±0.2	

การเตรียม Potato infusion ต้มมันฝรั่งที่ยังไม่เปลือกเปลือก 200 g. ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองเอาเนื้อมันฝรั่งออก เก็บน้ำต้มมันฝรั่งไว้ใช้ ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดใน Potato infusion เทใส่ขวดที่มีฝาปิด/จุกสำลี นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หมายเหตุ ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาใช้ ต้องนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาปรับ pH ให้ได้ 3.5 ก่อนเทใส่จานเพาะเชื้อ

ก.5 Trypticase (Tryptic) Soy Broth

Trypticase peptone	17	g.
Phytone peptone	3	g.
NaCl	5	g.
K ₂ HPO ₄	2.5	g.
Glucose	2.5	g.
น้ำกลั่น	1	L.
Final pH	7.3±0.2	

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารปริมาณ 225 ml. ลงในพลาสติกหรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิดเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ก.6 Trypticase (Tryptic) Soy Agar

Trypticase peptone	15	g.
Phytone peptone	5	g.
NaCl	5	g.
น้ำกลั่น	1	L.
Final pH	7.3±0.2	

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH ถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในหลอดมีจุกสำลีหรือฝาปิดเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที



ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

ข.1 Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution water

ข.1.1 การเตรียมสารละลายสต็อก

ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 34 g. ในน้ำกลั่น 500 ml. ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N และปรับปริมาตรเป็น 1 L. แล้วนำฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เก็บในตู้เย็น

ข.1.2 การเตรียม Dilution blank

ตวงสารละลายสต็อก 1.25 ml. แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L. ด้วยน้ำกลั่น ตวงใส่ขวดปริมาตร 450 ml. (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 50 g.) หรือตวงใส่ขวดปริมาตร 225 ml. (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 25 g.) และจุด 9 ml. ใส่หลอดทดลองขนาด 16 x 150 mm. นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.2 Normal saline (NaCl)

NaCl	8.5	g.
น้ำกลั่น	1	L.

ละลายให้เข้ากัน นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.3 Sodium Hydroxide (NaOH) 0.1 N.

NaOH	4	g.
น้ำกลั่น	1	L.

ละลายให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วคน จากนั้นเก็บใส่ขวดพลาสติกและทึบไม่มีแสงเข้า

ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณ

ค.1 การคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ ค.1 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อทั้งหมด

จำนวนโคโลนีที่นับได้				
	ระดับความเจือจาง			ผลการตรวจนับ
ซ้ำที่	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
1	59	31	3	
2	57	24	1	
	เฉลี่ย = 58			5.8×10^2 cfu/g
	58×10^{-1}			
	~ 580			

วิธีทำการคำนวณ

1. ตรวจนับจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี
2. หลังจากได้ผลการตรวจนับ 5.8×10^2 cfu/g จากนั้นทำการหารด้วยน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีน้ำหนัก 25 g. โดยมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อทั้งหมดที่พบในตัวอย่าง } 25 \text{ g.} = \frac{5.8 \times 10^2}{25} = 23.2 \text{ cfu/g}$$

25

ดังนั้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในตัวอย่าง 25 g. มี 2.32×10^1 cfu/g

ค.2 การคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลง การเพิ่มขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์

ค.2.1.การคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลง

โดยใช้สูตร $100 - ((\text{จำนวนเชื้อหลัง} \times 100) / \text{จำนวนเชื้อเริ่มต้น})$

ที่ 0 นาที มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* = 8.2×10^1 cfu/g ทำเป็น $\log_{10}(\text{cfu/g}) = 1.91$

เมื่อแช่ในอะซีติก 15 นาที มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* = 7.5×10^1 cfu/g ทำเป็น $\log_{10}(\text{cfu/g}) = 1.87$

เชื้อ *B. cereus* มีเชื้อลดลง = $100 - ((1.87 \times 100) / 1.91) = 2.09\%$

ค.2.2.การคำนวณเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้น

โดยใช้สูตร $((\text{จำนวนเชื้อหลัง} \times 100) / \text{จำนวนเชื้อเริ่มต้น}) - 100$

ที่ 0 นาที มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* = 5.2×10^8 cfu/g ทำเป็น $\log_{10}(\text{cfu/g}) = 8.72$

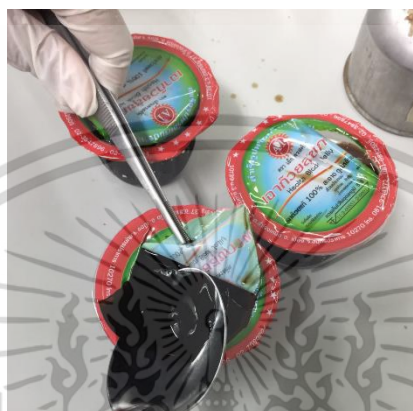
เมื่อแช่ในอะซีติก 3% 15 นาที มีปริมาณเชื้อ *B. cereus* = 6.7×10^4 cfu/g

ทำเป็น $\log_{10}(\text{cfu/g}) = 4.83$ เชื้อ *B. cereus* มีเชื้อลดลง = $((4.83 \times 100) / 8.72) - 100 = 44.61\%$

ภาคผนวก ง

ตัวอย่างและภาพผลการทดลองที่ไปตรวจที่โรงงานเจาก๊วย

ง.1 ภาพตัวอย่างเจาก๊วย



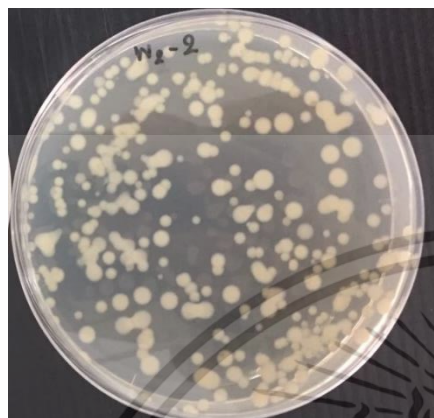
ภาพที่ ง.1 เจาก๊วยแบบพร้อมรับประทาน



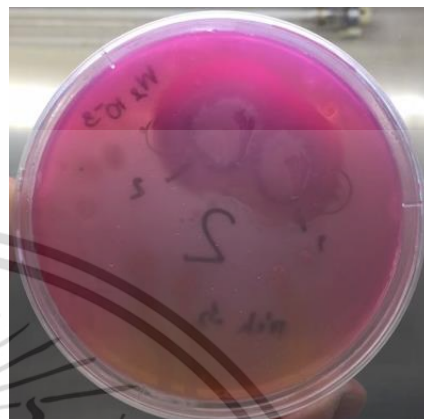
ภาพที่ ง.2 เจาก๊วยแบบถุงขนาด 1.5 กิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.2 ภาพผลการทดลอง



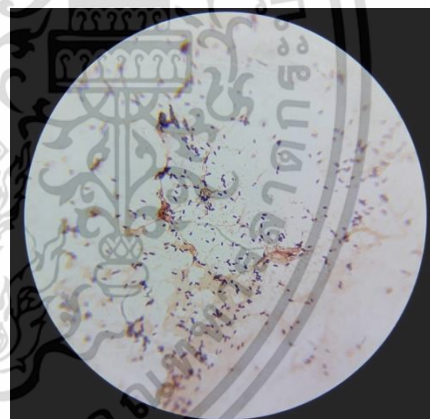
ภาพที่ ง.3 โคโลนีของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด



ภาพที่ ง.4 โคโลนีของ *B. cereus*



ภาพที่ ง.5 โคโลนีของ *S. aureus*



ภาพที่ ง.6 เซลล์ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ภาพที่ ง.3 ลักษณะโคโลนีของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีลักษณะกลมและมีสีขาว

ภาพที่ ง.4 ลักษณะโคโลนีของ *B. cereus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ mannitol egg yolk polymyxin agar (MYP) มีลักษณะโคโลนีขนาดใหญ่มีสีชมพู เนื่องจากเชื้อมีความสามารถในการหมักย่อน้ำตาล แมนนิทอลจึงเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ (phenol red) และมีโซนขาวชุ่นรอบโคโลนี เนื่องจากเชื้อมีความสามารถในการย่อยเลซิตินในไข่แดง

ภาพที่ ง.5 ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird – Parker (BP) จะมีลักษณะ สีดำเป็นมันและมีตะกอนชุ่นขาวรอบ ๆ

ภาพที่ ง.6 ลักษณะเซลล์ *B. cereus* มีรูปร่างเป็นท่อนย้อมติดสีน้ำเงิน (gram positive)



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนิลวดี นาคทองกุล
วัน เดือน ปี เกิด	11 ตุลาคม 2540
ประวัติการศึกษา	-ปีการศึกษา 2559 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนนวมินทราชินูทิศ หอวัง นนทบุรี แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ -ปีการศึกษา 2563 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงาน และผลงานวิจัย	พฤษภาคม 2562 – มิถุนายน 2561 สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ และวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาแผ่นทดสอบต้นแบบสำหรับการตรวจหาออร์โมนโพรเจสเตอโรนในซีรัมสุกร
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวภาวนันท์ ไทยวัฒนธรรม
วัน เดือน ปี เกิด	13 สิงหาคม 2540
ประวัติการศึกษา	-ปีการศึกษา 2559 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสมุทรสาครบูรณ แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ -ปีการศึกษา 2563 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงาน และผลงานวิจัย	พฤษภาคม 2562 – มิถุนายน 2561 บริษัท ไทยรอยัลฟรอนเซ่นฟู้ด จำกัด ฝึกงานแผนกควบคุมคุณภาพ, ฝ่ายผลิต, ห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้