# บทที่ 2

## เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาถึงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารปรุงสำเร็จ ประเภทข้าวราดที่จำหน่ายในโรงอาหารสถาบันราชภัฏเชียงใหม่ วิทยาเขตเวียงบัว ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ผู้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องตามหัวข้อดังต่อไปนี้

2.1 ความปลอดภัยของอาหาร
2.2 จุลินทรีย์กับอาหาร
2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร
2.4 จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย
2.5 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ
2.6 ข้อกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร
2.7 การควบคุมอันตรายจากจุลินทรีย์เฉพาะชนิด
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ความปลอดภัยของอาหาร

ความปลอดภัยของอาหารขึ้นกับการเสี่ยงอันตรายทางด้านจุลชีววิทยา ด้านเคมีและด้านกายภาพส่วนหนึ่ง กล่าวคือถ้าอาหารมีการปนเปื้อนของสิ่งที่จะก่อให้เกิดอันตรายจากจุลินทรีย์ สารเคมีและวัตถุปลอมปนน้อย อาหารนั้นก็จะมีความปลอดภัยสูง อีกส่วนหนึ่งขึ้นกับสภาวะของร่างกายและพฤติกรรมของผู้บริโภค เช่น อายุ เพศ เผ่าพันธุ์ ความผิดปกติทางพันธุกรรม สภาพการเจ็บป่วย นิสัยในการบริโภค ความเอาใจใส่ระมัดระวังด้านสุขลักษณะของอาหาร

ปัจจัยที่ทำให้อาหารมีผลกระทบซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคที่สำคัญมี 3 ประการ ได้แก่

1. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ มีสาเหตุมาจาก
   1.1 การไม่รักษาสุขลักษณะส่วนบุคคลในการเตรียมและการบริโภคอาหาร
   1.2 การปล่อยให้อาหารสัมผัสกับสิ่งที่มีจุลินทรีย์
   1.3 การใช้ภาชนะอุปกรณ์สัมผัสอาหารที่ไม่สะอาด

1.4 การดูแล เคลื่อนย้าย และเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม ทำให้อาหารไม่สะอาดหรือเสื่อมสภาพ

1.5 การปนเปื้อนของสารเคมีในการเกษตร อุตสาหกรรมและกระบวนการผลิตอาหาร

1.6 แมลง นก หนู และสัตว์ที่ไม่พึงประสงค์อื่น ๆ จากทั้งแหล่งเพาะปลูก การเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว กระบวนการผลิตในโรงงานผลิตอาหาร การขนส่งและจัดจำหน่ายจนถึงการเตรียมของผู้บริโภคเพื่อใช้บริโภค

1.7 ผู้สัมผัสอาหารมีอาการเจ็บป่วย

2. การอยู่รอดของจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งเกิดจากการให้ความร้อนไม่เพียงพอในการประกอบอาหารหรือการอุ่นอาหารก่อนรับประทานโดยให้ความร้อนไม่ทั่วถึง

3. การเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งเป็นผลจากการเก็บอาหารในอุณหภูมิสูงหรือต่ำไม่เพียงพอที่จะยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีปะปนอยู่ในอาหารได้

**2.2 จุลินทรีย์กับอาหาร** อัจฉรา พุ่มฉัตร (2545) ได้ให้รายละเอียดไว้ดังนี้

จุลินทรีย์ หมายถึง สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว หรืออาจมีหลายเซลล์ ซึ่งแต่ละเซลล์มีความแตกต่างในรูปลักษณะน้อยมาก แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรก prokaryotes มีลักษณะเซลล์ที่ไม่มีผนังหุ้มนิวเคลียส ได้แก่ แบคทีเรียและ cyancbacteria กลุ่มที่ 2 คือ protists เซลล์มีผนังหุ้มนิวเคลียส คือ เห็ดรา โปรโตซัว และสาหร่าย กลุ่มที่ 3 เป็นพวกไวรัส และไพรออน (prions) สำหรับไพรออนนั้นยังไม่มีความกระจ่างชัดในเชิงวิชาการ ทราบแต่เพียงว่า เป็นสิ่งที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก สามารถทนความร้อนได้สูง ทำให้เกิดโรควัวบ้า จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก ส่วนใหญ่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ขนาดของจุลินทรีย์อาจต่างกันได้ตั้งแต่ 1 ถึงหนึ่งหมื่นเท่า

แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เซลล์ของแบคทีเรียโดยทั่วไปมีขนาดกว้างน้อยกว่า I ไมครอน (1 ไมครอน = 10-6 เมตร) และยาวน้อยกว่า 5 ไมครอน ในปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร สามารถบรรจุแบคทีเรียได้ 10-12 เซลล์ ผนังเซลล์เป็นสารที่เรียกว่า murein ประกอบด้วย polysaccharides และ peptides แบคทีเรียชนิด Gram positive จะเป็น murein เป็นส่วนใหญ่ แต่ชนิด Gram negative ผนังเซลล์มีสาร murein เพียง 10% ด้านนอกเป็นชั้นของ lipoprotein และ lipopolysaccharide ด้านในของผนังเซลล์เป็น cytoplasmic membrane เป็นสาร lipoprotein ที่ห่อหุ้ม cytoplasm ซึ่งมี ribosomes- แหล่งผลิตโปรตีน และมี bacterial chromosome

**ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย**

1. ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์ ในสภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรียจะแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 เป็น 4 เรื่อย ๆ ไป การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะใช้เวลาประมาณ 15 นาทีเป็นต้นไป ทั้งนี้ขึ้นกับสภาวะแวดล้อมและชนิดของแบคทีเรีย

2. สารอาหาร แบคทีเรียบางชนิดไม่ต้องการสารอินทรีย์ในการดำรงชีวิต แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่ต้องการสารอินทรีย์ในการเจริญเติบโต บางชนิดอาจต้องการเพียงสารอินทรีย์ชนิดเดียวกับเกลือแร่ บางชนิดต้องการสารพวกคาร์โบไฮเดรต บางชนิดต้องการสารอินทรีย์เฉพาะเช่น กรดอะมิโน ไวตามิน บางชนิดต้องการสารอินทรีย์หลายชนิดในการดำรงชีวิต

3. ก๊าซ แบคทีเรียกลุ่มที่ต้องการออกซิเจน และเจริญได้ในที่ซึ่งมีอากาศเท่านั้น เรียกว่า obigate aeorbes ส่วนพวก microaerophiles ต้องการออกซิเจนในปริมาณน้อยกว่าที่มีในบรรยากาศ มิฉะนั้นอาจตาย หรือไม่เจริญ อีก 2 กลุ่มเจริญได้ในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน ซึ่งได้แก่ facultative anaerobes แต่จะเจริญได้ดีกว่าเมื่อมีออกซิเจน และ aerotolerant anaerobes ไม่ใช้ประโยชน์จากออกซิเจน สำหรับพวก obligate anaerobes มีความไวต่อออกซิเจน บางชนิดไม่สามารถทนออกซิเจนได้ ถ้าอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีออกซิเจนในระยะเวลาอันสั้นก็อาจตายได้ แบคทีเรียทุกชนิดต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ แต่บางชนิดต้องการสัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าที่มีในบรรยากาศ ซึ่งเรียกกลุ่มนี้ว่า capnophiles และ obligate aerobes หลายชนิดถูกยับยั้งการเจริญได้ถ้าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นสูง

4. ในภาพรวมอุณหภูมิที่จุลินทรีย์อาจเจริญได้เริ่มตั้งแต่ -20 องศาเซลเซียส ถึงกว่า 90 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดใดเลยที่สามารถเจริญได้ครอบคลุมช่วงอุณหภูมิดังกล่าว จุลินทรีย์ที่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิต่ำ ได้แก่กลุ่ม ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และกลุ่ม psychrotrophs เป็นจุลินทรีย์ซึ่งเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ แต่อุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญคือสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส และกลุ่มนี้มีความสำคัญสำหรับอุตสาหกรรมอาหารมากกว่า psychrophiles เพราะมีความยืดหยุ่นในการเจริญต่อปัจจัยของอุณหภูมิมากกว่า ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส เพียงเล็กน้อยก็สามารถฆ่า psychrophiles ได้ จุลินทรีย์กลุ่ม mesophiles ซึ่งบางชนิดเป็น psychrotrophs ด้วย เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส กลุ่ม mesophile รวมทั้งพวกที่ทำให้เกิดโรคในคน ส่วนจุลินทรีย์กลุ่ม thermophiles ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส แบคทีเรีย Bacillus บาง species เป็นทั้ง thermoduric คือ ทนความร้อนได้สูง และเป็น psychrotrophic mesophiles

5. น้ำ เซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ เช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ การเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ในสารละลายเจือจางมากของเกลือหรือน้ำตาล เนื่องจากในสารละลายที่มีความเข้มข้นสูง จะมีโมเลกุลอิสระของน้ำที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้น้อย ปริมาณน้ำอิสระนี้คิดเป็นอัตราส่วนของความดันไอของสารละลายในสิ่งแวดล้อมที่แบคทีเรียอาศัยอยู่ รวมทั้งอาหารต่อความดันไอของน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิเดียวกันเรียกว่าค่า water activity ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-1

6. ค่าความเป็นกรดด่างและคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ของสภาพแวดล้อม มีผลต่อการเจริญและดำรงชีวิตของแบคทีเรีย แบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างเล็กน้อย แต่สำหรับ Lactobacillus และ Acetobacter มีชีวิตอยู่ได้ในสภาวะที่เป็นกรด การสร้างกรดอินทรีย์ของแบคทีเรียในอาหารที่จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า ความเป็นกรดด่างของอาหารได้หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ของอาหาร ปริมาณสารที่จะถูกเปลี่ยนโดยแบคทีเรียแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนของค่าความเป็นกรดด่าง รวมทั้งค่า pH ของกรด (ค่า pH ที่ 50% ของโมเลกุลกรดไม่เกิดการแตกตัวเป็นไอออน ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้) การเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างขึ้น 1 หน่วย จะลดความเข้มข้นของโมเลกุลกรดที่ไม่แตกตัวลง 90% ดังนั้นจึงลดภาวะที่เป็นอันตรายต่อชีวิตของแบคทีเรียลงด้วย

7. สารเคมียับยั้งการเจริญ สารเคมีหลายชนิดมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จึงสามารถใช้ประโยชน์เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อในโรงงาน และบริเวณที่ทำงานได้ สารบางชนิดใช้เป็นวัตถุกันเสียที่เติมลงในอาหาร แบคทีเรียแต่ละชนิดมีความทนต่อสารเหล่านี้แตกต่างกัน ทำให้มีการเติมสารบางชนิดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อที่ไม่ต้องการให้เจริญ ช่วยให้สามารถแยกเชื้อที่ต้องการจากตัวอย่างที่วิเคราะห์ทดสอบได้ อย่างไรก็ตามพึงระมัดระวังการใช้เนื่องจากในการทดลองมักใช้กับแบคทีเรียในสภาพสมบูรณ์ ดังนั้นในอาหารที่ผ่านกรรมวิธี เช่น ทำแห้ง หรือแช่เยือกแข็ง เซลล์ของแบคทีเรียจะไม่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ตามปกติ จึงไม่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารยับยั้งการเจริญได้ ทำให้ได้ผลวิเคราะห์ในลักษณะที่เป็น false negative

8. ช่วงระยะของการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ การทดลองเติมแบคทีเรียลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวใหม่ ๆ แบคทีเรียจะใช้เวลาช่วงหนึ่งก่อนที่จะมีการเจริญเพิ่มจำนวน เรียกช่วงนี้ว่า lag phase เพราะเป็นช่วงที่มีการงอกของ spore การใช้สารอาหารที่จำเป็น รวมทั้งการสร้างเอนไซม์ที่จะใช้ย่อยสลายสารอาหาร จากนั้นแบคทีเรียจะแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว เรียกว่า log phase ระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะคงที่ แต่จำนวนเซลล์ที่ถูกสร้างใหม่ในช่วงเวลาหนึ่งนั้นจะขึ้นกับจำนวนเซลล์ตั้งต้น ด้วยเหตุนี้เองจึงสามารถอธิบายได้ว่า ทำไมอาหารที่

สะอาดจึงเน่าเสียช้ากว่าอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก การเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อจะดำเนินต่อไปช่วงหนึ่ง หลังจากนั้นอัตราการเจริญจะลดลง เนื่องจากหลายสาเหตุ เช่นสารอาหารที่ต้องการถูกใช้หมดไป มีการสะสมของสารที่เป็นพิษจากการเจริญมากขึ้น เรียกการเจริญช่วงนี้ว่า stationary phase จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียจะไม่เพิ่ม ไม่ลด จากนั้นเซลล์บางส่วนจะตายลง เรียกช่วงนี้ว่า death phase อัตราการตายขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

ผลจากปัจจัยร่วม

1. ค่า water activity ต่ำสุดที่จุลินทรีย์จะเจริญได้ ขึ้นกับสารอาหารที่มีในสภาวะแวดล้อม มีรายงานว่าช่วงค่า water activity สำหรับการเจริญของ Salmonella oranienburg จะน้อยลงถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose-salts แทน nutrient broth แสดงว่า จุลินทรีย์อาจเจริญได้ในอาหารบางชนิดที่ค่า water activity ต่ำกว่าอาหารประเภทอื่น

2. ค่า water activity กับอุณหภูมิ ปกติจุลินทรีย์จะทนค่า water activity ต่ำได้ดีที่อุณหภูมิซึ่งเหมาะสมแก่การเจริญ ถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนไปจากอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญ ช่วงค่า water activity ที่จุลินทรีย์จะเจริญได้จะลดลง

3. ค่า water activity กับ pH เมื่อค่า pH เปลี่ยนแปลงไปจากค่าที่เหมาะสมแก่การเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิด จุลินทรีย์นั้น ๆ จะต้องการค่า ค่า water activity ต่ำสุดที่สูงขึ้น

4. pH กับอุณหภูมิ มีรายงานการศึกษาพบว่า Staphylococci จะทนความเป็นกรดได้ดีกว่าในสภาพที่เป็น aerobic และสามารถสร้าง enterotoxin ที่ pH 5.1 แต่ในสภาพไร้ออกซิเจนส่วนใหญ่ไม่สามารถสร้าง enterotoxin ได้ที่ pH ต่ำกว่า 5.7

ผลเสียของจุลินทรีย์กับอาหาร

จุลินทรีย์ทำให้อาหารไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการผิดปกติ ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ (Adums and others, 1995)

1. food-related disease เป็นโรคซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์

2. foodborne disease เป็นโรคที่เกิดจากอาหารปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคที่ไม่มีการเพิ่มจำนวนในอาหาร เช่น ไวรัส ricdettsiae, prion , protozoa , parasites, และเชื้อโรคที่ไม่เกี่ยวกับระบบลำไส้ เช่น Mycobacterium tubercuosis , Brucella abortus

3. food poisoning เป็นโรคที่เกิดจากสารพิษของจุลินทรีย์ที่สร้างขึ้นเมื่อมีการเจริญเติบโตในอาหาร เช่น สารพิษจาก Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum , Bacillus cereus สารพิษจากเชื้อรา

**อาหารเป็นพิษเนื่องจากสารพิษจากจุลินทรีย์ (intoxication-type food poisoning)**

1. Botulism เป็นอาหารทางระบบประสาทที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษของ Clostridium botulinum ซึ่งมักเกิดกับอาหารประเภทที่ผ่านกระบวนการ canning C.botulinum เป็นแบคทีเรียประเภท anaerobe สร้างสปอร์ได้ ซึ่งทนต่อความร้อน สามารถยับยั้งการเจริญได้ด้วย sodium nitrate สร้างสารพิษที่มีผลต่อระบบประสาท ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคมี 4 ชนิด ได้แก่ Type A เป็นชนิดที่ย่อยสลายโปรตีนได้ Type B มีทั้งชนิดที่ย่อยสลายโปรตีนได้และไม่ได้ พบมากในดิน ในน้ำ Type E เป็นชนิดที่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนพบได้ในดินตะกอนในแหล่งน้ำทั่วไป สามารถเจริญได้ช้า ๆ ที่ 3 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดปัญหาในอาหารแช่เย็น นอกจากนี้ยังมี Type F ซึ่งพบน้อยมาก ปกติเชื้อนี้ไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 4.8 แต่มีผู้ศึกษาทดลองเมื่อปี 1982 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปรตีนสูงพบว่าเจริญและสร้างสารพิษได้ในภาวะที่เป็นกรด (pH 4.3-4.6) สารพิษเป็นโปรตีน ละลายได้ในน้ำ ทนกรด แต่ถูกทำลายง่ายด้วยความร้อน เข้าสู่ร่างกายโดยการดูดซึมของลำไส้ เข้าไปในกระแสเลือดไปยังระบบประสาท

2. Staphylococcal food poisoning อาการผิดปกติจะเริ่มแสดงหลังบริโภคอาหารที่มีสารพิษประมาณ 30 นาที *Staphylococcus aureus* เป็น Gram-positive cocci โคโลนีอาจมีสีขาว เหลือง จนถึงสีส้ม เป็น facultative anaerobe สามารถเปลี่ยนน้ำตาล manitol, glucose , lactose , maltose ให้เป็นกรด สร้าง alpha toxin, coagulase และ nuclease ที่ทนความร้อน ไม่เจริญที่ค่า water activity ต่ำกว่า 0.85 pH ต่ำกว่า 4.3 และอุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส ความร้อนจากการหุงต้มและการพาสเจอร์ไรซ์ สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ดี มีแหล่งมาจาก

1) ผู้สัมผัสอาหาร ดังนั้นอาหารที่เสี่ยงต่อการเกิดโรค จึงเป็นอาหารที่มีการสัมผัสด้วยมือหลังการทำให้สุก และไม่ได้เก็บรักษาในตู้เย็น อาหารกระป๋องมีโอกาสที่จะทำให้เกิดพิษจากเชื้อนี้ได้เช่นเดียวกัน โดยที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจากมือผู้สัมผัสอาหารขณะที่จับต้องอาหารกระป๋องที่หลังการผ่านความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อ ในขณะที่กระป๋องยังร้อนและเปียก ผนึกที่ยังไม่สนิทของตะเข็บกระป๋องที่ร้อน ทำให้เชื้อผ่านเข้าไปในกระป๋องได้

2) วัตถุดิบที่ใช้ทำผลิตภัณฑ์ เช่น กรณีเห็ดแช่น้ำเกลือในการผลิตอาหารกระป๋องและวัตถุดิบมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ ซึ่งมีโอกาสที่เชื้อจะเจริญได้ดี เนื่องจากน้ำเกลือช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ เป็นการให้โอกาสแก่เชื้อนี้ที่จะเจริญได้ และสร้างสารพิษขึ้นในวัตถุดิบ เมื่อนำไปผ่านกระบวนการทำอาหารกระป๋อง เชื้อจะถูกทำลายหมดไป แต่สารพิษที่ถูกสร้างขึ้นทนความร้อนสูงได้ จึงทำให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายจากสารพิษของ *Staphylococcus aureus*

3) สัตว์ต่าง ๆ โดยที่มีชนิดซึ่งต่างจากที่พบในคน

น้ำนมจากแม่วัวที่เต้านมอักเสบ เป็นวัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ ถ้าการดูแลน้ำนมหลังการรีดนมทำให้มีโอกาสที่เชื้อจะเจริญได้และสร้างสารพิษขึ้น กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ หรือการทำนมผงโดยสเปร์ดราย ก็ไม่สามารถทำลายสารพิษที่มีอยู่ในวัตถุดิบได้

**อันตรายของจุลินทรีย์ที่มาจากผู้ปฏิบัติงานผลิตอาหารและผู้สัมผัสอาหาร**

ผู้สัมผัสอาหาร มีส่วนสำคัญยิ่งต่อการปนเปื้อนและการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร เนื่องจากผู้สัมผัสอาหารเป็นสื่อนำจุลินทรีย์ที่ดี จึงต้องมีการจัดสภาวะแวดล้อมในการผลิตให้เหมาะสม และจัดอบรมหรือให้ความรู้แก่ผู้สัมผัสอาหารอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถปฏิบัติได้อย่างถูกต้อง มิฉะนั้น ผู้สัมผัสอาหารจะเป็นตัวการนำแบคทีเรียจากวัตถุดิบที่เป็นของสด เช่น ปลา หมู เนื้อ สัตว์ปีก ไข่ ผัก จากของเสีย หรือสิ่งที่เหลือทิ้งไปสู่การผลิตอาหารไปังอาหารที่ผ่านความร้อนซึ่งทำลายจุลินทรีย์แล้วหรือนำเชื้อโรคจากมือ เล็บ ผม ปาก จมูก หู เสื้อผ้า อุปกรณ์อื่น ๆ รวมทั้งจากห้องสุขาไปปนเปื้อนกับอาหาร ผิวสัมผัสอาหาร หรือบริเวณที่เตรียมอาหารได้ ซึ่งจะทำให้อาหารที่ผลิตขึ้นมีเชื้อโรคปนเปื้อนและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคในที่สุด

**ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคที่มีอาหารเป็นสื่อนำ**

สาเหตุที่ทำให้อาหารมีจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่ก่อให้เกิดความผิดปกติของร่างกายมนุษย์ได้ เกิดจาก

1. วิธีการเก็บรักษาไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะอุณหภูมิเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้องเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการเจ็บป่วย จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและโรคทางเดินอาหารจะสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5 ถึง 55 องศาเซลเซียส แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่ 25 ถึง 40 องศาเซลเซียส (Jay, 1992) ดังนั้นการเก็บรักษาอาหารในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ช่วงอุณหภูมิที่จุลินทรีย์เจริญได้ทำให้เกิดการเสี่ยงต่ออันตราย เนื่องจากทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Staphylococcus aureus* , *Clostridium perfringens* , *Bacillus cereus* เจริญเพิ่มจำนวนได้

2. การให้ความร้อนในระหว่างการปรุง หุง ต้ม ไม่เพียงพอ การหุงต้มมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิด ความร้อนสามารถทำลายสารพิษจากจุลินทรีย์บาง

ชนิดด้วย การประกอบอาหารประเภทสัตว์ปีกโดยให้ความร้อนไม่เพียงพอ อาจทำให้เกิดโรคจากเชื้อ Salmonella การบริโภคอาหารทะเลดิบอาจทำให้เกิดโรคจากเชื้ออหิวาตกโรค เป็นต้น

3. การไม่รักษาสุขวิทยาส่วนบุคคล เชื้อโรคอาหารเป็นพิษส่วนใหญ่ปนเปื้อนในอาหารจากอุจจาระ ผู้สัมผัสอาหารที่เป็นโรคทางเดินอาหารอาจส่งผ่านเชื้อนั้นมายังอาหารได้ หากไม่ระมัดระวังสุขวิทยาส่วนบุคคลให้ดีพอ ส่วนใหญ่โรคที่มีสาเหตุจากการไม่ระวังสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีของผู้สัมผัสหรือประกอบอาหาร มักได้แก่ ไวรัส hepatitis A หรือ Norwalk และแบคทีเรีย Shigella ส่วนเชื้อ *Staphylococcus aureus* อาจมีการปนเปื้อนในอาหารจากผิวหนัง ปาก จมูกของผู้สัมผัสอาหาร การทิ้งอาหารไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญเติบโต แบคทีเรียดังกล่าวก็จะสร้างสารพิษลงในอาหาร สารพิษที่เกิดจากแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ไม่สลายด้วยความร้อนจากการหุงต้ม จึงอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ แม้จะทำให้อาหารนั้นสุกก่อนการบริโภค

4. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เนื่องจากการสัมผัสอาหารระหว่างอาหารที่เป็นวัตถุดิบ อุปกรณ์เครื่องใช้ ภาชนะที่ไม่สะอาดไปยังอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว จะทำให้อาหารที่ผ่านการหุงต้มแล้วกลับมีเชื้อโรคติดปะปนใหม่

5. การอุ่นอาหารที่ไม่ทั่วถึง อาหารที่เหลือค้างหรือที่ผ่านการให้ความร้อนจากการหุงต้มไม่เพียงพอ ทำให้ยังคงมีจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่เป็นจำนวนมาก และทำให้ผู้บริโภคมีอาการเจ็บป่วยได้

6. วิธีการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากวัตถุดิบที่มีจุลินทรีย์จำนวนมากกับอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว หรือเกิดการสร้างสารเคมีเป็นพิษ หรือการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

**2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร** (เรณู ปิ่นทอง, 2543)

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในอาหาร มีผลต่อผลิตภัณฑ์อาหารและผู้บริโภคดังนี้

1. อาหารเกิดการเน่าเสีย

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงอาหารที่พบ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร เป็นต้น ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเป็นสำคัญ

1.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ แตกต่างกันออกไป บางชนิดอาจมีอะไมเลส บางชนิดอาจมีโปรติเอสหรือไลเปส เป็นต้น ฉะนั้น ถ้าหากผลิตภัณฑ์อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต มีจุลินทรีย์ประเภทที่มีอะไมเลสปนเปื้อนมา จุลินทรีย์ที่กล่าวจะปล่อยอะไมเลสมาย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นโมเลกุลเล็กลง หรือถ้าเป็นจุลินทรีย์ที่มีไลเปสก็จะย่อยสลายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้ว พบว่าจะแตกต่างกันในระหว่างสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนด้วย เช่น การย่อยสลายของโปรตีนในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่ด้วยนั้นโปรตีนอาจถูกย่อยไปเป็นสารประกอบที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบที่มีกลิ่นไม่ดี เป็นต้น

2. อาหารเป็นพิษ

การมีอาการผิดปกติหรือมีโรคระบาดต่าง ๆ เกิดขึ้นแล้วมักจะมีสาเหตุเนื่องมาจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ การบริโภคอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะหรืออาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์หรือสารพิษของจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ก็เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการผิดปกติขึ้นในผู้บริโภคได้ อาการผิดปกติต่าง ๆ ที่พบ ได้แก่ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งรวมถึงอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง ท้องเดิน จุลินทรีย์บางชนิดอาจทำให้มีอาการวิงเวียนศีรษะ มึนงง และมีไข้ด้วย หรือมีอาการอัมพาต เห็นภาพไม่ชัดหรือภาพซ้อนและขากรรไกรแข็ง เป็นต้น และถ้าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเป็นไวรัส ก็อาจทำให้เกิดโรคไวรัสตับอักเสบได้ เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์หรือสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะทำให้เกิดอาการผิดปกติไม่เหมือนกัน

**2.4 จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย**

อาหารเน่าเสียหมายถึง อาหารที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากสภาพปกติ ซึ่งทำให้ไม่ปลอดภัยและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สาเหตุที่ทำให้อาหารให้ไม่ปลอดภัย และไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค อาจเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อโรค การปลอมปนด้วยสิ่งที่ไม่พึงประสงค์หรือมีการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารนั้น ๆ

อาหารเน่าเสียจากปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่ออาหารนั้นสามารถเป็นแหล่งที่จะทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาเจริญเติบโตได้ และจะต้องมีการเก็บไว้ในสภาวะที่จุลินทรีย์จะเจริญได้เป็นระยะเวลานานพอสมควร จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ อาหารบางชนิดมีสารต้านจุลินทรีย์โดยธรรมชาติ เช่น น้ำนมวัว มี lactoferrin และ lactoperoxidase system ไข่ขาวมี lysozyme พืชหลายชนิดมีน้ำมันหอมระเหย แทนนิน และสารแอนโธไซยานิน ซึ่งมีสมบัติยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียมีทั้งส่วนที่มีอยู่ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่นำมาเป็นอาหาร และจุลินทรีย์ที่เข้าปนเปื้อนจากอากาศ ดิน น้ำ อุจจาระ จากการชำแหละซากในโรงฆ่าสัตว์ จากผิวพื้นซึ่งสัมผัสอาหารและภาชนะที่ใช้ในกระบวนการผลิต จากผู้สัมผัสอาหารจากสัตว์และแมลงรบกวนในบริเวณเก็บหรือผลิตอาหาร

**2.5 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ**

จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มได้แก่ (ไพรินทร์ บุตรกระจ่าง, 2544)

1. Infective bacterial food poisoning ได้แก่ *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolylicus*, other *Vibrio* sp., *Yersinia enterocolitica* และ *Campylobacter* sp.

2. Toxic bacterial food poisoning ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Cl. Perfringens*, *Bacillus cereus* (emetic), *B. cereus* (diarrhoea) และ *Escherichai coli*

3. แบคทีเรียก่อโรคอื่น ๆ ได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Shigella* sp., *Aeromorias* sp., *Plesiomonas shigelloides*, *Streptococcus pyogenes* และ *Enterococcus faecails*

3. Mycotoxic fungi ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Peniccillium* sp. และ *Fusarium* sp.

4. ฟังไจ ไวรัสและโปรโตซัว ได้แก่ *Cryptosporidium parrum*, SRSV group, *Rotaviruses*, *Astroviruses* และ *Giardia lamblia*

จากการแบ่งกลุ่มจุลินทรีย์ จะกล่าวถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

**Coliform Bacteria** (ไพรินทร์ บุตรกระจ่าง ,2544.)

ลักษณะทั่วไป เป็นแบคทีเรียใน Family Enterrobacteriae เป็นพวก Arobe and Facultative Anaerobe ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram Negative Bacteria) มีรูปร่างเป็นแท่งและไม่มีสปอร์ (Rod-Shape and Non spore forning) เคลื่อนที่ได้ สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตส และได้กรดและแก๊ส เจริญเติบโตได้ดีที่ $35^{0}$ – $37^{0}$C ในเวลา 24-48 ชั่วโมง สามารถพบได้ทั่วไปในพืช ในดิน ในน้ำ และในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น

ชนิดของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

1. Fecal Coliform เป็นแบคทีเรียที่มีแหล่งอาศัยมาจากอุจจาระของคนและสัตว์ เลือดอุ่น เช่น แบคทีเรียชนิด อี.โคไล

2. Non Fecal Coliform เป็นแบคทีเรียโคลิฟอร์มที่มาจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่อุจจาระ เช่น ดิน อากาศ

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสะอาดได้ทั้งนี้เพราะโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ปกติจะอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ โดยเฉพาะแบคทีเรียชนิด อี.โคไล หรือ ฟีคัลโคลิฟอร์มชนิดอื่น ๆ ถ้าพบในอาหารและน้ำ แสดงว่าอาหารและน้ำนั้นอาจปนเปื้อนด้วยอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่น นอกจากนี้โคลิฟอร์มแบคทีเรียยังสามารถใช้เป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความสะอาดและ สุขอนามัยของผู้ผลิตและสภาพสิ่งแวดล้อมของการผลิตได้อีกด้วย เนื่องจากบางสปีชีส์พบได้ใน สิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อากาศ และส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย (http://www.switzerland.k12.in.us/watershed/fecal.html. 22 เมษายน 2545)

***Escherichia coli (E. coli)***

*E. coli* เป็น gram negative aerobe และ facultatively anaerobic rod สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และให้กรดและยังสามารถใช้น้ำตาลตัวอื่น ๆ ได้ด้วย ส่วนใหญ่ต้องการ oxygen ในการเจริญ สร้าง antigen ได้ 3 แบบคือ Somatic antigen group (O antigen), Capsular antigen group (K antigen) และ Flagella antigen group (H antigen)

*E. coli* พบได้ในลำไส้ใหญ่และอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่น ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีที่ชี้ว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่น สามารถก่อโรคในระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้หลายระบบ ได้แก่โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ เช่น กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (cystitis) กรวยไตอักเสบ (pyelitis) กรวยไตและไตอักเสบ (pyelonephritis) นอกจากนี้ยังสามารถก่อโรคอื่น ๆ ได้อีก เช่น ติดเชื้อในแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลผ่าตัด ท่อน้ำดีอักเสบเฉียบพลัน (acute cholangitis) ฝีในตับ ปอดบวม และ septiccemia

*E.coli* ที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร แบ่งได้ 5 กลุ่ม (Buckle and others,1989) คือ

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เชื้อกลุ่มนี้จะสร้างสารพิษที่มีลักษณะคล้ายกับสารพิษจากเชื้ออหิวาตกโรค หรือ cholera toxin-like enterotoxins ในลักษณะที่เป็น heat-stable enterotoxins (ST) และ heat-labile enterotoxins (LT) ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ ปวดท้องอย่างรุนแรงมีไข้ต่ำ ๆ และเป็นตะคริว เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอุจจาระร่วงในเด็กเล็กและกลุ่มนักท่องเที่ยว อาการถึงแม้จะรุนแรงแต่ไม่เป็นสาเหตุการตายมากนัก

2. Enteropathcgenic *E. coli* (EPEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงอย่างเฉียบพลันในเด็กเล็ก โดยเฉพาะในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 2 ขวบ อาการที่สำคัญคือ มีไข้ อาเจียน อุจจาระเป็นน้ำ มีมูกปนแต่ไม่มีเลือด serotypes ที่สำคัญของ EPEC คือ 0-55 และ 0-111

3. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) เป็นเชื้อที่เข้าทำลายเนื้อเยื่อผิวของลำไส้ (intestinal epithelium) อาการของโรคนี้จะมีลักษณะเดียวกับอาหารของโรคบิดที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Shigella sp. คือถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีมูกเลือดปน มีไข้ ปวดท้องอย่างรุนแรงและเป็นตะคริว

4. Enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) เชื้อกลุ่มนี้เกาะติดกับผนังลำไส้โดยไม่สร้างสารพิษทั้ง LT หรือ ST และไม่ทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ แต่จะทำให้เกิดอุจจาระร่วงเรื้อรัง ถ่ายเป็นน้ำ อาเจียน ขาดน้ำ บางครั้งมีอาการปวดท้อง มีไข้ และถ่ายอุจจาระมีเลือดปน

5. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคของระบบทางเดินอาหาร ซึ่งสามารถติดต่อผ่านได้ทั้งทางน้ำและอาหาร โดยการกิน (oral-fecal-route) เชื้อชนิดนี้สร้างสารพิษที่มีลักษณะคล้ายกับสารพิษที่สร้างจากเชื้อ Shigella 2 ชนิด คือ

Shiga-like-toxins I (SLT-I) หรือ verotoxin I (VT-I) และ Shiga-like-toxins II (SLT-II) หรือ verotoxin II (VT-II) ซึ่ง toxin ทั้ง 2 ชนิดทำให้เกิด hemolytic uremic syndrome (HUS) และ hemorrhagic colitis ในคน สามารถติดต่อผ่านจากสัตว์สู่สัตว์ สัตว์สู่คน และ คนสู่คนได้ โดยทางอาหารและน้ำ หรือการสัมผัสกันอย่างใกล้ชิด สายพันธุ์ *E. coli* ที่สำคัญของกลุ่มนี้คือ "*Escherichia coli* 0157 : H7"

อาการของโรค มีอาการปวดท้อง ท้องเป็นตะคริว อุจจาระร่วงเป็นครั้งคราวและมีเลือดปน(Blood diarrhea) อาการแทรกซ้อนที่สำคัญคืออาการ Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) ซึ่งเป็นสาเหตุนำไปสู่ภาวะไตวาย สมองอักเสบ เส้นเลือดในสมองแตก ซึ่งอาการแทรกซ้อนดังกล่าวเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตของผู้ป่วย ระยะฟักตัว 3-8 วัน (ลัดดา โภคาวัฒนา , 2539)

***Staphylococcus aureus (S. aureus)***

*S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม การเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีมีสีเหลืองทอง เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-37$^{0}$C และภาวะที่มีเกลือเข้มข้น เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาเกือบทุกชนิดที่ pH 4.8-7.4 สร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20$^{0}$C ในบรรยากาศที่มี $CO_2$ สูงกว่าปกติ สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60$^{0}$C นาน 30 นาที และความเย็นที่ 4$^{0}$C ได้นานหลายเดือน พวกที่ก่อโรคจะสร้างเอนไซม์ coagulase ที่ทำให้พลาสมาแข็งได้ ตัวเชื้อนี้มักอาศัยอยู่ตามผิวหนังหรือเยื่อเมือกในร่างกายของคนและสัตว์ *S.aureus* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งสายพันธุ์ที่ก่อโรคจะสร้างสารพิษ เอนเทอโรท๊อกซิน (enterotoxin) โดย

ปกติตัวเชื้อจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน และสารที่ใช้ฆ่าเชื้อทั่วไป แต่ enterotoxin สามารถทนความร้อน 100°C นานกว่า 30 นาทีได้ ถ้าร่างกายได้รับเชื้อในปริมาณมากกว่า 107 ต่อกรัม หรือได้รับ enterotoxin ในปริมาณ 1 μm จะทำให้เกิดอาการโรคอาหารเป็นพิษได้ (http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap3.html , 12 พฤษภาคม 2545) ดังนั้นอาหารที่ ปรุงสุกแล้วถึงแม้จะตรวจไม่พบเชื้อแต่ก็ยังไม่ปลอดภัยจากโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจาก enterotoxin สามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ ซึ่ง enterotoxin นี้จะไม่ทำให้สี กลิ่น หรือ รสของอาหารผิดไปจากเดิม จึงยากแก่การสังเกต การตรวจพบ *S. aureus* ในอาหารเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดี โดยเชื้ออาจปนเปื้อนมาจากผู้ประกอบการอาหารที่เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจหรือผิวหนังที่มีบาดแผล เป็นฝีหนอง อาหารที่เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนรุนแรง ปวดท้อง อุจจาระร่วง ถ่ายเหลวจนถึงถ่ายเป็นน้ำ อาการเกิดขึ้นหลังจากรับประทานอาหารภายใน 1-6 ชั่วโมง

**2.6 ข้อกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร**

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารประกอบด้วย ประเด็นหลัก 3 ประการคือ

1. ความปลอดภัย อาหารจะต้องไม่มีจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในผู้บริโภค

2. ความยอมรับได้ของอาหาร หรืออายุการเก็บรักษา อาหารต้องไม่มีจุลินทรีย์ในระดับที่จะทำให้เกิดความผิดปกติในเวลาอันสั้น จนประสาทสัมผัสของผู้บริโภครับรู้ได้ว่าเน่าเสีย

3. ความสม่ำเสมอ อาหารต้องมีคุณภาพสม่ำเสมอทั้งด้านความปลอดภัยและอายุการเก็บรักษา

การกำหนดเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร มีวัตถุ 2 ประการ ได้แก่

1. เพื่อให้ผู้ซื้อเกิดความมั่นใจว่าสินค้าที่ซื้อไปแล้วมีคุณภาพที่เหมาะสม

2. ผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายจะไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

ข้อกำหนดคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของอาหาร อาจกำหนดขึ้นโดยกลุ่มบุคคลหลายประเภท เช่น ผู้รักษากฎหมายอาหารของประเทศ ผู้กำหนดระเบียบปฏิบัติในการค้าระหว่างประเทศ ผู้ซื้อ องค์กรผู้บริโภค ผู้ผลิตอาหาร กรณีที่กำหนดเป็นกฎหมายมักมีองค์ประกอบดังนี้

1. ระบุชนิดจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

2. กำหนดแผนการชักตัวอย่าง และการได้มาซึ่งตัวอย่างที่จะใช้ตรวจวิเคราะห์

3. กำหนดปริมาณของจุลินทรีย์แต่ละชนิดหรือสารพิษจากจุลินทรีย์ต่อน้ำหนัก / ปริมาตรของอาหาร

4. ระบุวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (2544) ได้กำหนดเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกทั่วไป ได้แก่ อาหารปรุงสำเร็จ (ประเภทข้าวแกง) , ก๋วยเตี๋ยว , ขนมจีน , ยำ , น้ำพริกจิ้ม , ไส้กรอก , หมูยอ , ปูอัด , cold meat , ปลาหมึกปรุงรส , ขนม , ผลไม้กวน ดังนี้

| | |
|---|---|
| จุลินทรีย์รวม / กรัม | น้อยกว่า $1 \times 10^6$ |
| MPN Coliforms / กรัม | น้อยกว่า 500 |
| MPN E.coli / กรัม | น้อยกว่า 3 |
| S. aureus / กรัม | น้อยกว่า 100 |
| B. cereus / กรัม | น้อยกว่า 100 |
| C. perfringens / 0.01 กรัม | ไม่พบ |
| V. parahaedyticus / 25 กรัม | ไม่พบ |
| Salmonellae / 25 กรัม | ไม่พบ |

**การป้องกันอันตรายจากจุลินทรีย์ที่มีอาหารเป็นสื่อนำ**

การป้องกันโรคหรืออาการผิดปกติเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่อาหารเป็นสื่อนำสามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. การป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงในอาหาร โดยให้ถือว่าอาหารดิบทุกชนิดอาจมีเชื้อโรคที่เป็นอันตรายปะปนอยู่ จึงจำเป็นต้องใช้วิธีปฏิบัติที่ดีในการผลิตและประกอบอาหาร แยกอาหารดิบออกจากอาหารที่ทำสุกแล้ว ล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อภาชนะหรือผิวสัมผัสอาหารดิบให้ทั่วถึงก่อนนำไปใช้กับอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว

2. ทำลายเชื้อโรคที่มีอยู่ในอาหารด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่นการควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาให้เหมาะสม อาหารจากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์จะต้องทำให้ร้อนไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส เพื่อทำลายเชื้อโรค การแช่เยือกแข็งสามารถทำลายพยาธิในปลาและเนื้อได้ การฉายรังสีอาหารในปริมาณที่เหมาะสมช่วยทำลายแบคทีเรียบางชนิดได้ สารเคมีหลายชนิดรวมทั้งกรดอินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ แต่ส่วนใหญ่จะไม่ทำลายจุลินทรีย์

3. ป้องกันการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคส่วนใหญ่จะต้องมีปริมาณค่อนข้างมากในอาหาร จึงจะทำให้เกิดโรคได้ ถ้าทิ้งอาหารไว้ในอุณหภูมิระหว่าง 4-60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 4 ชั่วโมง จะทำให้จุลินทรีย์เจริญเพิ่มจำนวนขึ้น จนถือว่าอาหารนั้นอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ การควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์

ในอาหารเพิ่มจำนวนจึงช่วยให้อาหารปลอดภัยที่จะใช้บริโภค อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ หากลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำลงหรือเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ ก็จะเป็นการป้องกันการเจริญเพิ่มจำนนของจุลินทรีย์ในอาหารได้

ในการควบคุมจุลินทรีย์จำเป็นที่จะต้องเข้าใจในธรรมชาติของจุลินทรีย์นั้น ๆ เพื่อให้ทราบว่าจุลินทรีย์นั้นเข้ามาสู่อาหารได้อย่างไร และปัจจัยใดบ้างที่มีผลต่อการมีชีวิตอยู่ของจุลินทรีย์นั้น ปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นต้นเหตุสำคัญของการเกิดอันตรายจากอาหารได้แก่

- แหล่งที่มาของจุลินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์อาจติดมากับวัตถุดิบตามธรรมชาติ เกิดจากการปนเปื้อนกับอาหาร ขณะกำลังผลิตจากเครื่องมืออุปกรณ์และ / หรือผู้สัมผัสอาหาร
- อุณหภูมิในการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และช่วงอุณหภูมิที่ทำให้ให้เกิดโรคสามารถเจริญได้
- การทนความร้อนของจุลินทรีย์แต่ละประเภท เซลล์ของจุลินทรีย์ สปอร์ และสารพิษที่จุลินทรีย์ สารขึ้นจากการเจริญในอาหารมีความสามารถในการทนต่อความร้อนแตกต่างกัน
- ความไวต่อสภาพความเป็นกรดของสิ่งแวดล้อม ค่าความเป็นกรดด่างของสภาวะแวดล้อมที่เหมาะและไม่เหมาะแก่การเจริญ แต่ละชนิดแตกต่างกัน ผู้ผลิตอาหารควรมีความรู้เกี่ยวกับช่วงของค่าความเป็นกรดด่างที่จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคสามารถเจริญได้
- ความไวต่อความชื้น ค่า water activity แสดงปริมาณน้ำอิสระในสิ่งแวดล้อมที่จุลินทรีย์จะเจริญได้ จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีปริมาณน้ำอิสระต่าง ๆ กัน
- ความไวต่อสารเคมีที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโต เป็นลักษณะเฉพาะของจุลินทรีย์แต่ละชนิด
- อิทธิพลของปริมาณออกซิเจนในสิ่งแวดล้อม การเจริญของจุลินทรีย์แบ่งเป็นลักษณะที่ต้องใช้ออกซิเจน เจริญไม่ได้เมื่อมีออกซิเจน เจริญได้ทั้งมีและไม่มีออกซิเจน หรือเจริญได้เมื่อมีออกซิเจนในปริมาณเล็กน้อย
- ความไวต่อสภาวะการณ์บางชนิด เช่น รังสี สารฆ่าเชื้อ ปริมาณเกลือในสภาวะแวดล้อมสูง
- ความสามารถของจุลินทรีย์บางชนิด ในการเจริญได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิต่ำ

**2.7 การควบคุมอันตรายจากจุลินทรีย์เฉพาะชนิด** (Harrigan and others. 1991)

*Escherichia coli* ที่ทำให้เกิดโรค รวมทั้ง 0157 : H7 ควบคุมโดย ทำอาหารให้สุกและอุ่นอาหารให้ร้อนอย่างทั่วถึง เก็บอาหารในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ดูแลควบคุมการ

สุขาภิบาลและสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้สัมผัสอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ต่ำกว่า 4.6 ลดปริมาณน้ำอิสระในอาหารซึ่งจุลินทรีย์จะใช้ในการเจริญได้

*Staphylococcus aureus* ควบคุมโดยดูแลสุขลักษณะในการประกอบอาหาร ไม่อนุญาตให้ผู้ที่กำลังเป็นแผลพุพองหรือเป็นหนองเข้าสัมผัสอาหารหรืออุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสอาหาร เก็บรักษาอาหารเย็นในที่เย็นกว่า 4 องศาเซลเซียส และอาหารร้อนในที่ร้อนกว่า 60 องศาเซลเซียส

**2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

ทิวทัศน์ จันต๊ะมงคล (2541) ได้ทำการตรวจแบคทีเรียบางชนิดในอาหาร เครื่องดื่ม และภาชนะ ซึ่งประกอบไปด้วยการตรวจอาหารสำเร็จรูป 10 ตัวอย่าง เครื่องดื่มบรรจุถุงพลาสติก จำนวน 30 ตัวอย่าง และภาชนะ คือ จาน ถ้วย ช้อนส้อม และตะเกียบ อย่างละ 10 ตัวอย่าง จากร้านอาหาร 9 ร้าน ทำการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total aerobic plate count ตรวจนับจำนวน Coliform bacteria และ Fecal Coliform bacteria ด้วยวิธี Multiple tube method ทำการตรวจหาเชื้อโรคจากทางเดินอาหารบางตัว ได้แก่ Vibrio spp. และ Clostridium perfringens. พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของอาหารและเครื่องดื่มอยู่ในช่วง $310 - 1.65 \times 10^6$ เซลล์ ต่ออาหาร 1 กรัม และ $3 \times 10^4 - 660 \times 10^6$ เซลล์/เครื่องดื่ม 100 มล. ส่วนภาชนะมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วง 0 – 4,900 เซลล์/ภาชนะ 1 ชิ้น สำหรับจำนวน Coliform bacteria และ Fecal Colifom bacteria ในอาหารและเครื่องดื่ม อยู่ในช่วง 0 - >240 เซลล์/อาหาร 1 กรัม และต่อเครื่องดื่ม 100 มล. ตามลำดับ ส่วนภาชนะพบว่ามีจำนวน Coliform bacteria ร้อยละ 50 สำหรับการตรวจหา Vibrio spp. พบโคโลนีแตกต่างกัน 2 ชนิด ซึ่งสันนิษฐานจากการดูลักษณะของสีว่าน่าจะเป็น V.cholerac และ V.parahaemolyticus จำนวน 40% และ 20% ตามลำดับในอาหารและเครื่องดื่ม ส่วน C.perfringens ในอาหารและเครื่องดื่มพบจำนวนร้อยละ 60 และ 87 ตามลำดับ ในส่วนของภาชนะบรรจุอาหาร พิกุลทอง งามสุด (2543) ได้ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนภาชนะอาหาร จำนวน 30 ตัวอย่าง ภายในสถาบันราชภัฏเชียงใหม่ พบว่า ภาชนะอาหารมีเกณฑ์ต่ำกว่าที่ U.S. Department of Health, Education and welfare กำหนดไว้ มีภาชนะ จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80 ของทั้งหมดที่ตรวจ พบ Coliform bacteria จากการตรวจนับจุลินทรีย์บนภาชนะ พบจำนวนจุลินทรีย์บนจานอยู่ในช่วง 79–399 เซลล์/ภาชนะ ชาม อยู่ในช่วง 172–767 เซลล์/ภาชนะ และแก้วน้ำอยู่ในช่วง 165–552 เซลล์/ภาชนะ จากมาตรฐาน U.S. Department of Health, Education and welfare ที่กำหนดไว้ว่าต้องมีจุลินทรีย์ น้อยกว่า 100 เซลล์/ภาชนะ 1 ชิ้น และจากการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่ามีจำนวนสูงกว่ามาตรฐาน แสดงว่า ตัวอย่างภาชนะใส่อาหารไม่เหมาะสมที่จะนำมาใส่อาหารแก่ผู้รับบริการ นอกจากนี้ยังมีการตรวจพบ Coliform bacteria ในตัวอย่างจาน 6 ตัวอย่าง , ชาม 8 ตัวอย่าง และแก้วน้ำ 10 ตัวอย่าง แสดงว่าภาชนะเหล่านี้ถูกปน

เปื้อนด้วยจุลินทรีย์ในปริมาณสูง ซึ่งอาจถูกปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่พบได้ในอุจจาระคนหรือสัตว์

นอกจากนี้ อินทร สิงห์คำ (2544) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของโคลิฟอร์มแบคทีเรียและฟีคอล โคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำผลไม้และน้ำหวานที่จำหน่ายในโรงอาหารของสถาบันราชภัฏเชียงใหม่ พบว่าจำนวน Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria อยู่ในช่วง 0 - $\geq$ 24,000 MPN/เครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร พบว่าเครื่องดื่มที่ตรวจวิเคราะห์มีคุณภาพไม่ตรงตามมาตรฐานของกระทรวง สาธารณสุขฉบับที่ 62 (พ.ศ. 2524) ที่กำหนดไว้คือ $<$ 2.2 MPN/เครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร จากผลการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 พบว่าเครื่องดื่มจำนวน 18 ตัวอย่างไม่เข้ามาตรฐาน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66.67 เนื่องจากตรวจพบ Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria เกิน มาตรฐานในตัวอย่างร้อยละ 66.67 และร้อยละ 66.67 ตามลำดับ จากผลการตรวจวิเคราะห์ครั้งที่ 2 พบว่าเครื่องดื่มจำนวน 18 ตัวอย่าง ไม่เข้ามาตรฐาน 13 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 72.22 เนื่องจากตรวจสอบ Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria เกินมาตรฐานใน ตัวอย่างร้อยละ 72.22 และร้อยละ 66.67 ตามลำดับ จากผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria ในน้ำผลไม้และน้ำหวานที่ใส่น้ำแข็งและไม่ใส่น้ำแข็งมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05