

บทที่ 2

สาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลิตภัณฑ์น้ำพริกหนุ่ม

น้ำพริกหนุ่มเป็นอาหารที่สำคัญของคนในภาคเหนือ เป็นอาหารที่ปรุงขึ้นอย่างง่าย มีรสชาติเผ็ด อร่อย โดยจะมีวัตถุดิบหลัก คือ พริกชี้ฟ้าสีเขียว นำไปอบหรือเผา ลอกเอาเปลือกออกบดผสมให้เข้ากับกระเทียม หอม ที่เผาหรืออบให้สุกแล้ว ปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรส เช่น น้ำปลา เกลือ อาจปรุงแต่งด้วยมะเขือเทศส้ม เนื้อปลาสุก น้ำปลาร้าต้มสุก เป็นต้น ปัจจุบันน้ำพริกหนุ่มได้กลายเป็นของฝากที่มีชื่อเสียงของทางภาคเหนือโดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่ พริกหนุ่มมีคุณค่าทางโภชนาการหลายอย่าง เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินซี และวิตามินเอ เป็นต้น แต่ปัญหาสำคัญของน้ำพริกหนุ่ม คือ มีอายุการเก็บรักษาสั้น ตัวอย่างเช่น ที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บรักษาได้เพียง 1 วัน แต่ถ้าเก็บไว้ในตู้เย็น จะสามารถเก็บรักษาได้ประมาณ 2-3 วัน และปัญหาอีกประการคือ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากกระบวนการผลิต ซึ่งทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้นลง และยังก่อให้เกิดปัญหาท้องเสียในผู้บริโภคอีกด้วย จากปัญหาดังกล่าว ทำให้ผู้ผลิตน้ำพริกหนุ่มนิยมใส่สารกันเสียลงไป เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น วัตถุดิบเสียที่นิยมใช้ ได้แก่ benzoic acid (จริย์พร, 2549) นอกจากนี้ผู้ผลิตส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ในการใช้สารกันเสีย และมักใช้ในปริมาณที่มากเกินไป ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (ศิวาพร, 2546)

จริย์พร (2549) ได้ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา และเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำพริกหนุ่มจากตลาด 6 แห่งในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 34 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณ Total plate count มีค่าตั้งแต่ 6.5×10^5 ถึง 7.09×10^8 CFU/g ปริมาณ Yeast and Mould มีค่าตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 10 ถึง 9.35×10^3 CFU/g ปริมาณ Coliform มีค่าตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 3 ถึง 1,100 MPN/g และปริมาณ *E. coli* มีค่าตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 3 ถึง 16.8 MPN/g ตัวอย่างที่มีปริมาณ Total plate count, Yeast and Mould, Coliform และ *E. coli* เกินระดับที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 293/2547) กำหนดมี 34, 32, 31 และ 20 รายตามลำดับ แสดงว่า ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขอนามัยตามระบบ GMP นอกจากนี้การตรวจหาปริมาณวัตถุดิบเสีย พบว่ามีปริมาณ benzoic acid อยู่ในช่วง 324.35 ถึง 4,532.56 mg/kg และตัวอย่างที่มีปริมาณเกินระดับที่มาตรฐานกำหนดคิดเป็น 85.29% แสดงว่าผู้ประกอบการส่วนใหญ่มีการเติมสารกันเสียในปริมาณมาก ผลการทดลอง

ดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของศูนย์ประสานงานพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุขภาพชุมชน (2546) พบว่าตัวอย่างน้ำพริก 81.67% มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน ดังนั้นจึงควรส่งเสริมระบบ GMP มาตรฐานของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำพริกหนุ่ม เพื่อยกระดับคุณภาพผลิตภัณฑ์ และมาตรฐานการผลิตเพื่อให้เกิดความปลอดภัยสูงสุดแก่ผู้บริโภค

2.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำพริกหนุ่ม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของน้ำพริกหนุ่ม, 2547)

น้ำพริกหนุ่ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภคที่ทำจากพริกที่ยังไม่แก่ เช่น พริกหนุ่ม พริกอ่อน พริกใหญ่ หรือพริกยำ บดผสมให้เข้ากันกับกระเทียม หอม ที่เผาหรืออบให้สุกแล้วปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรส เช่น เกลือ น้ำปลา อาจปรุงแต่งด้วยมะเขือเทศส้ม เนื้อปลาสุก น้ำปลาร้าต้มสุกที่กรองแล้ว หรือปลาร้าดิบที่ทำให้สุก น้ำพริกหนุ่มทั่วไปควรมีส่วนประกอบที่ใช้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ สี กลิ่น และรสชาติต้องดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่น รสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ รวมทั้งลักษณะเนื้อสัมผัสต้องมีเนื้อหยาบ มีความนุ่ม ชุ่มฉ่ำ และต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ และห้ามใช้วัตถุกันเสียและสีสังเคราะห์ทุกชนิด

น้ำพริกหนุ่มเป็นอาหารประเภทที่มีความเป็นกรดต่ำ ซึ่งเป็นอาหารที่ต้องมีการควบคุมกรรมวิธีการผลิตอย่างเข้มงวดเพื่อป้องกันอันตรายที่จะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของน้ำพริกหนุ่ม (มพช. 293/2547) ได้กำหนดมาตรฐานของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำพริกหนุ่มไว้ดังนี้

1. จุลินทรีย์รวมทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
2. *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
3. *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
4. *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
5. *E. coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
6. ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.3 ระบบ GMP

GMP (Good Manufacturing Practice) หมายถึง หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหาร โดย GMP มี 2 ชนิด คือ GMP สุขลักษณะทั่วไป หรือ General GMP และ GMP เฉพาะผลิตภัณฑ์ หรือ Specific GMP เป็นข้อกำหนดเพิ่มเติมจาก GMP ทั่วไป เพื่อมุ่งเน้นในเรื่องความปลอดภัยของแต่ละผลิตภัณฑ์อีกด้วย โดยระบบ GMP ได้เริ่มนำมาใช้ครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อปี พ.ศ. 2514 และระบบนี้ก็ได้แพร่หลายออกไปในประเทศต่างๆ ในที่สุดก็ได้มีการนำเอาระบบ GMP นี้เข้าไปใช้ในโครงการกำหนดมาตรฐานด้านอาหารระหว่างประเทศ จะใช้ลักษณะเป็นคำแนะนำและหลักการทั่วไปของสุขอนามัยของอาหาร สำหรับประเทศอื่นๆ ซึ่งมีชื่อเป็นภาษาลาตินว่า Codex Alimentarius อันมีความหมายว่า Food Code หรือ Food Law ที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) กับองค์การอนามัยโลก (WHO) ร่วมกันจัดทำอยู่ ซึ่งในที่สุดก็ได้ผลออกมาเป็นข้อแนะนำระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้องกับหลักการทั่วไปว่าด้วยสุขลักษณะอาหาร (Recommended International Code of Practice : General Principles of Food Hygiene) ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับ GMP

การนำระบบ GMP มาบังคับใช้ในประเศนั้น ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา มีส่วนราชการอยู่หลายหน่วยที่ตระหนักในความสำคัญและคุณประโยชน์ของระบบ GMP และได้พยายามผลักดันให้มีการนำเอาระบบนี้มาใช้บังคับในประเทศไทย อาทิ

- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.)

โดยรัฐบาลได้มอบหมายให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ของกระทรวงสาธารณสุข เป็นหน่วยงานที่รับผิดชอบดูแลในการนำเอาระบบ GMP มาบังคับใช้ ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศฉบับที่ 193 พ.ศ. 2543 เรื่องวิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร หรือ GMP สุขลักษณะทั่วไป ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 239 พ.ศ. 2544 กำหนดให้อาหารทั่วไปที่ใช้บริโภคกันอยู่รวมทั้งสิ้น 54 ประเภท ต้องปฏิบัติตามระบบ GMP ตั้งแต่วันที่ 24 กรกฎาคม 2544

GMP ที่นำมาเป็นมาตรการบังคับใช้นี้ ยึดตามมาตรฐานสากลของ Codex โดยประเทศไทยได้มีการปรับลดรายละเอียดบางส่วนให้เหมาะสม โดยยังคงสอดคล้องกับหลักเกณฑ์สากล เพื่อให้สามารถปฏิบัติได้ในสถานการณ์จริงสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และเพื่อการส่งออก

GMP เป็นเกณฑ์หรือข้อกำหนดขั้นพื้นฐานที่จำเป็นในการผลิตและควบคุม เพื่อให้ผู้ผลิตปฏิบัติตาม และทำให้สามารถผลิตอาหารได้อย่างปลอดภัย โดยเน้นการป้องกันและขจัดความเสี่ยงใดๆ ที่จะทำให้อาหารเป็นพิษ เป็นอันตราย หรือเกิดความไม่ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค อันเกิดจากสาเหตุสำคัญทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ โดยมีวัตถุประสงค์ คือ

1. เพื่อยกระดับมาตรฐานการผลิต และความปลอดภัยด้านอาหาร
2. เพื่อพัฒนามาตรฐานการผลิตอาหารในประเทศ ให้สากลยอมรับมากขึ้น
3. เพื่อสร้างความมั่นใจ และคุ้มครองผู้บริโภค

ระบบ GMP จึงครอบคลุมตั้งแต่โครงสร้างอาคารขั้นพื้นฐาน ระบบการผลิตที่ดี กระบวนการผลิตที่มีความปลอดภัยและมีคุณภาพได้มาตรฐานทุกขั้นตอน นับตั้งแต่เริ่มต้นวางแผนการผลิต ระบบควบคุมบันทึกข้อมูล ตรวจสอบและติดตามผลคุณภาพผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ถึงมือผู้บริโภคอย่างมั่นใจ และ GMP ยังเป็นระบบประกันคุณภาพพื้นฐานก่อนที่จะนำไปสู่ระบบประกันคุณภาพอื่นๆ ที่สูงกว่าต่อไป เช่น HACCP (Hazards Analysis and Critical Control Points) และ ISO 9000 อีกด้วย

ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก หรือ World Trade Organization (WTO) ในแต่ละปีมีการส่งอาหารไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการพิจารณากำหนดคุณภาพ ความปลอดภัยของอาหารจึงต้องเป็นไปตามพันธกรณีของประเทศภาคีสมาชิกองค์การการค้าโลกที่ยอมรับและถือปฏิบัติตามข้อกำหนดหรือมาตรฐานของ Codex และหลักเกณฑ์อื่น ซึ่งเป็นมาตรฐานอ้างอิงในการค้าระหว่างประเทศ สำหรับอาหารที่ผลิตหรือนำเข้า

หลักเกณฑ์ GMP ที่กำหนดเป็นกฎหมาย แบ่งออกเป็นหมวดหมู่ โดยสรุปสาระสำคัญแต่ละหมวดตามลำดับดังนี้

หมวดที่ 1 สถานที่ตั้ง และอาคารผลิต

- 1.1 สุขลักษณะของสถานที่ตั้งและอาคารผลิต
- 1.2 อาคารผลิต

หมวดที่ 2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์การผลิต

- 2.1 วัสดุที่ใช้ในการทำเครื่องมือฯ
- 2.2 การออกแบบและการติดตั้ง

หมวดที่ 3 การควบคุมกระบวนการผลิต

- 3.1 วัตถุดิบ ส่วนผสม และภาชนะบรรจุ
- 3.2 การผลิต เก็บรักษา ขนย้าย และขนส่ง

- 3.3 น้ำ น้ำแข็ง และไอน้ำที่สัมผัสอาหาร
- 3.4 มีการควบคุมกระบวนการผลิตอย่างเหมาะสม
- 3.5 ผลิตภัณฑ์มีบันทึกแสดงชนิดและปริมาณการผลิตประจำวันและเก็บบันทึกไว้อย่างน้อย 2 ปี

หมวดที่ 4 การสุขาภิบาล

- 4.1 น้ำที่ใช้ภายในโรงงาน
- 4.2 ระบบกำจัดขยะมูลฝอย
- 4.3 ทางระบายน้ำทิ้ง
- 4.4 ห้องน้ำ ห้องส้วม และอ่างล้างมือ
- 4.5 การป้องกันและกำจัดสัตว์-แมลง

หมวดที่ 5 การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

- 5.1 อาคารสถานที่ผลิต
- 5.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์
- 5.3 สารเคมีทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

หมวดที่ 6 บุคลากร และสุขลักษณะของผู้ปฏิบัติงาน

- 6.1 สุขภาพ
- 6.2 สุขลักษณะ
- 6.3 การฝึกอบรม

2.3.1 ข้อดีของระบบ GMP

การนำระบบ GMP มาบังคับใช้กับผู้ประกอบการผลิตภัณฑอาหารนั้น จะก่อให้เกิดผลดีแก่ผู้ประกอบการทั้งหลาย ที่จะยกระดับมาตรฐานการผลิตให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ทั้งสถานที่และอาคารที่ใช้ทำการผลิต เครื่องมือเครื่องจักร และอุปกรณ์การผลิต มีระบบการควบคุมการผลิต การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาดที่ได้มาตรฐาน รวมทั้งสุขภาพของบุคลากร และสุขลักษณะของผู้ปฏิบัติงานด้วย สำหรับผู้บริโภคนั้นก็จะได้ประโยชน์จากการได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และปลอดภัย เป็นการตอบสนองนโยบายของรัฐบาล ที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการคุ้มครองผู้บริโภคอีกด้วย (ชนเศ, 2546)

การนำเอาหลักเกณฑ์ GMP มาบังคับใช้กับสินค้าต่างๆ เป็นการทำให้ผู้ผลิตที่ได้มาตรฐานสามารถขยายตลาดเพิ่มขึ้น เพราะผู้ผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานต้องปรับปรุงสินค้า หรือออกจากตลาดไป เป็นการเปิดโอกาสให้ผู้ผลิตที่มีคุณภาพมาตรฐานสามารถทำตลาดได้เพิ่มขึ้น เพิ่มโอกาสการส่งออก เพราะเป็นมาตรฐานสากลจึงไม่ถูกกีดกันทางการค้า นอกจากนี้ยังช่วยให้ผู้บริโภคเกิดความมั่นใจต่อคุณภาพและมาตรฐานของอาหารบริโภคว่าสะอาดปลอดภัยใช้บริโภคได้ (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2545) อย่างไรก็ตามการนำมาตรฐาน GMP มาใช้ จะได้ผลและมีประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใด ยังคงต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ศักยภาพในการลงทุน การสนับสนุนอย่างต่อเนื่องจากผู้ประกอบการ การให้ความร่วมมือจากพนักงาน และการควบคุมดูแลผู้ผลิตอย่างเข้มงวด โดยเฉพาะจากหน่วยงานที่รับผิดชอบโดยตรงคือสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา นอกจากนี้ความร่วมมือจากผู้บริโภคและผู้ประกอบการเองก็มีส่วนสำคัญที่จะทำให้มาตรฐาน GMP ประสบความสำเร็จสูงสุด (ธานี, 2545)

จริยพร (2549) ได้ศึกษาเกี่ยวกับระบบ GMP ของโรงงานผลิตน้ำพริกหนุ่มในจังหวัดเชียงใหม่ 4 แห่ง พบว่ามีกระบวนการผลิตที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของระบบ GMP ตั้งแต่สถานประกอบการ เครื่องมือเครื่องใช้ อุปกรณ์ในการผลิต การสุขาภิบาล และบุคลากรผู้ปฏิบัติงาน หลังจากที่ผู้ประกอบการได้รับการอบรมและคำแนะนำเรื่อง GMP ได้เห็นการแก้ไขปรับปรุงการผลิตให้สอดคล้องตามหลักเกณฑ์ GMP มากขึ้น โดยสังเกตจากคุณภาพทางจุลินทรีย์และทางเคมีของน้ำพริกหนุ่มมีแนวโน้มที่ดีขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารของผลิตภัณฑ์ชุมชนอื่นๆอีก เช่น ผลิตภัณฑ์น้ำพริกปลาร้าของกลุ่มแม่บ้านคงคาราม จังหวัดชัยนาท พบว่ากลุ่มแม่บ้านคงคารามยังคงใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านในการผลิตน้ำพริก โดยกลุ่มเริ่มที่จะพัฒนากระบวนการผลิตให้ได้มาตรฐานให้มากขึ้นกว่าเดิม โดยการปรับปรุงกระบวนการผลิตแบบผ่านการฆ่าเชื้อ บรรจุในขวดแก้ว และได้นำหลักสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารมาใช้ในกระบวนการผลิต จากการทดลองพบว่า แบบใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณเชื้อราเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ส่วนการปรับปรุงกระบวนการผลิตแบบผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 และ 105°C มีปริมาณจุลินทรีย์ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน การปรับปรุงกระบวนการผลิตแบบผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 และ 105°C นาน 60 นาที เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื่อน้ำพริกปลาร้าป่าบรรจุขวดแก้ว แต่การฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100°C จะเป็นการประหยัดพลังงานและต้นทุนในการผลิต และกลุ่มแม่บ้านสามารถใช้การฆ่าเชื้อในระดับความร้อนนี้ได้ (นราวุธ, 2549)

นอกจากนี้การศึกษาการพัฒนาคุณภาพมาตรฐานผลิตภัณฑ์เต้าหู้นมสดรสเผือกให้มีกระบวนการผลิตที่ถูกต้องตามหลักสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารของกลุ่มแปรรูปนมสด บ้าน

คอนกรีตที่ ตำบลเด่นใหญ่ อำเภอนาคู จังหวัดชัยนาท โดยมีการศึกษาปัจจัยทั้ง 7 ด้าน คือ ด้านวัตถุดิบ อาคารสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ การขนส่งลำเรียง เทคนิคกรรมวิธีการผลิต ผู้ปฏิบัติงาน และบรรจุภัณฑ์ พบว่า กลุ่มแปรรูปนมสดบ้านคอนกรีต มีปัญหาทั้ง 7 ด้าน และได้มีการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นตามหลักสัญลักษณ์ที่ดีในการผลิตอาหาร ยกเว้น ปัจจัยในด้านวัตถุดิบ อาคารสถานที่ และการขนส่งลำเรียง บางข้อที่ยังไม่ได้รับการแก้ไขเนื่องจากยังขาดงบประมาณในการดำเนินการ (พรพรรณ, 2549) และให้นำเอาหลัก GMP ไปใช้ในการปรับปรุงโรงงานของกลุ่มแปรรูปผลผลิตการเกษตรบ้านแคว ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาของสัญลักษณ์มือของผู้ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต อากาศในห้องบรรจุ และผลิตภัณฑ์ (กล้วยกวน กล้วยอบ ลำไยอบแห้ง และลำไยผง) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (พรชัย และมงคล, 2545)

Tome *et al.* (2000) ทำการทดลองโดยใช้หลัก GMP ปรับปรุงกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์สดแก่ร้านค้าในโรงอาหาร 4 แห่ง เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า สาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความสะอาดของสถานที่ผลิต สุขอนามัยส่วนบุคคล การปนเปื้อนข้าม อุปกรณ์การผลิต หลังจากอบรม GMP แก่ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับอาหาร 2 ครั้งในระยะเวลา 6 เดือน และติดตามผลโดยใช้ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์เป็นดัชนีชี้วัดการเปลี่ยนแปลง พบว่าตัวอย่างอาหารจากโรงอาหารทั้ง 4 มีปริมาณเชื้อ Aerobic Plate Counts และ Enterobacteriaceae ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยลดลงจาก 2.95 เหลือ 2.00 log CFU/g และ 1.82 เหลือ 0.95 log CFU/g ตามลำดับ ลดลงโดยเฉลี่ย 1 log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อในเดือนแรกกับเดือนสุดท้าย

ภูรินทร์ (2544) รายงานการใช้เทคนิค GMP เพื่อประเมินความเสี่ยงด้านจุลชีววิทยากับร้านอาหารในโรงอาหารภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามีสัญลักษณ์ตามหลักสุขาภิบาลว่าด้วยหลัก GMP ต่ำกว่า 50% หลังจากที่ทำกรอบรมผู้ประกอบการถึงหลักการของ GMP แล้วทำการประเมินผลโดยการตรวจหาเชื้อด้วยวิธี Total Plate Count พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงจนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Sariano *et al.* (2002) ศึกษาการปรับปรุงระบบ GMP ของร้านอาหาร 19 แห่งในมหาวิทยาลัยวาเลนเซีย ประเทศสเปน โดยใช้ผลวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์เป็นดัชนีชี้วัดความปลอดภัยในอาหาร พบว่าการอบรมสัญลักษณ์ที่ดีในกระบวนการผลิต การสุขาภิบาล กระบวนการผลิต และสัญลักษณ์ของผู้ปฏิบัติงานให้แก่ผู้ที่มีหน้าที่ปฏิบัติงานเกี่ยวกับอาหาร ตามข้อกำหนดของระบบ GMP ทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count ในไข่เจียวมันฝรั่ง (2.12-5.77 log CFU/g) และสเต็กหมู (1.84-5.30 log CFU/g) ทุกตัวอย่างลดลงจนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

อาหารปรุงสุกที่กำหนดไว้ให้มีไม่เกิน 5 log CFU/g ส่วนการตรวจพบ *E. coli* ในไข่เจียวมันฝรั่ง และสเต็กหมูลดลง จาก 21% เหลือเพียง 1% และจาก 20% เหลือเพียง 2% ตามลำดับ

นอกจากนี้แล้วยังมีการนำเอาหลัก GMP ไปใช้ในการปรับปรุงสุขลักษณะของโรงงานผลิตอาหารแช่แข็งและไอศกรีม โดยใช้แบบฟอร์มการตรวจสอบสถานที่ผลิตอาหารของกระทรวงสาธารณสุข พบว่าโรงงานที่ทำการศึกษา มีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดมาตรฐานตามหลัก GMP มากกว่า 50% มีปัญหาระบบน้ำไม่สะอาดรวมถึงไม่ผ่านการประเมินด้านบุคลากร จากการสุ่มอาหารแช่แข็ง 6 ชนิด ได้แก่ คอนเนลโลนี เปรสโต้ โฟโน ลาซานญา พิชซ่าชีส พิชซ่าฮาวายเอียน และไอศกรีมวานิลลา มาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด พบว่า อาหารแช่แข็งและไอศกรีมมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง $2 \times 10^5 - 1 \times 10^9$ CFU/g และ 3.25×10^4 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่เกินมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปริมาณ coliform เกินมาตรฐาน ในเปรสโต้ และคอนเนลโลนี ปริมาณ fecal coliform เกินมาตรฐาน ในเปรสโต้ โฟโน และคอนเนลโลนี ปริมาณ *E. coli* เกินมาตรฐานในเปรสโต้ และ *S. aureus* ในลาซานญา และไอศกรีม เท่ากับ 3.25×10^4 CFU/g และ 1.6×10^4 CFU/g ตามลำดับ (รยากร, 2545)

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์นครราชสีมา (2548) ได้สำรวจโรงงานผลิตน้ำบริโภค พบว่า หลังการใช้เกณฑ์ GMP ระยะที่ 1 น้ำบรรจุขวดตมมาตรฐาน 20 และ 34% น้ำบรรจุถึง 40 และ 51% น้ำแข็งหลอด 34 และ 58% หลังการใช้เกณฑ์ GMP ระยะที่ 2 น้ำบรรจุขวดตมมาตรฐาน 29 และ 42% น้ำบรรจุถึง 52 และ 39% น้ำแข็งหลอด 67 และ 85% สาเหตุที่ตมมาตรฐานส่วนใหญ่เป็นคุณภาพทางจุลชีววิทยา คือ ปริมาณ coliform เกินมาตรฐาน พบเชื้อ *E. coli* และพบเชื้อโรคที่ทำให้อาหารเป็นพิษ (*Salmonella*, *S. aureus*, *C. perfringens*) ส่วนทางเคมี คือ ความเป็นกรด-ด่างต่ำ แม้ว่าโรงงานผลิตน้ำบริโภคฯ และน้ำแข็งทั้งหมดจะผ่านเกณฑ์ GMP ก็ตาม แต่คุณภาพของน้ำบริโภคฯ และน้ำแข็งหลอดในปี 2547 ยังตมมาตรฐานไม่แตกต่างจากปีที่ผ่านมา เนื่องจากเกณฑ์ GMP ไม่ได้มุ่งเฉพาะการผลิต และผลการตรวจวิเคราะห์เท่านั้น แต่ให้คะแนนจากหลายองค์ประกอบ เช่น สถานที่ อุปกรณ์ การปรับปรุงคุณภาพน้ำ ภาชนะบรรจุ สารฆ่าเชื้อ การบรรจุ การควบคุมคุณภาพ และผู้ปฏิบัติงานอีกด้วย

2.4 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร

ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture property) หมายถึง ลักษณะทางกายภาพที่เกิดจากโครงสร้างของอาหารที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง หรือการไหลของอาหารเมื่อมีแรงกระทำ โดยทั่วไปจะใช้คำว่า “ลักษณะเนื้อสัมผัส” กับของแข็ง และใช้คำว่า “ความหนืด” กับของเหลว การวัดเนื้อสัมผัสอาจทำได้โดยใช้ความรู้สึกของมนุษย์ หรือใช้เครื่องมือวัดออกมาในรูปของแรง ระยะทาง หรือเวลา (รัตนันท์, 2545) โดยทั่วไปเมื่อมีการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านเนื้อสัมผัส มักจะมีการประเมินโดยรวม แต่ผลการประเมินจะไม่สามารถนำมาอธิบายลักษณะของตัวผลิตภัณฑ์นั้นได้เท่าใดนัก ซึ่งยังมีค่าต่างๆ ที่สามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร ได้แก่ body, mouthfeel, crumb และ graininess นอกจากนี้การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสทางเชิงกล ยังรวมไปถึงค่าต่างๆ คือ hardness, springiness, gumminess, fracturability, chewiness, adhesiveness, และ cohesiveness ซึ่งลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมที่รู้สึกได้ตามความเข้าใจของมนุษย์แท้ที่จริงแล้วประกอบด้วยหลายๆ ลักษณะแตกต่างกันดังกล่าว ดังนั้นในการประเมินคุณภาพทางลักษณะเนื้อสัมผัส เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องควรประเมินหลายๆ ลักษณะมากกว่าที่จะประเมินเนื้อสัมผัสโดยรวมเพียงอย่างเดียว (Schur, 1987)

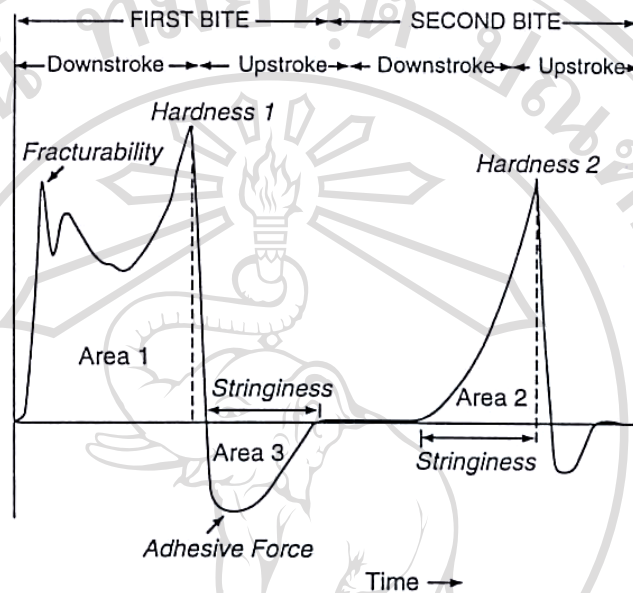
2.4.1 การวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่องมือ

2.4.1.1 Imitative methods

เป็นวิธีการทดสอบที่มีกลไกเลียนแบบจังหวะการบดเคี้ยวอาหารของมนุษย์ โดยเป็นการวัดค่าแรงกด (Stress) และ/หรือการเปลี่ยนรูป (Strain) ในแต่ละลำดับการทดสอบ วิธีการนี้ให้ค่าที่เป็นมาตรฐานของเนื้อสัมผัสอาหาร ได้แก่ Texture Profile Analysis (TPA) มีกลไกเลียนแบบการบดเคี้ยว 2 ครั้ง และให้ค่าที่สัมพันธ์กับการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมมากที่สุด (รัตนันท์, 2545)

วิธีการนี้ทำได้โดยใช้หัวกดปลายแบนกดลงบนตัวอย่างด้วยความเร็วคงที่ ตามอัตราการเปลี่ยนรูปที่กำหนดไว้ ค่าแรงด้านการกดที่เกิดขึ้นในตัวอย่างอาหารจะถูกวัดเมื่ออาหารถูกกด หลังจากการบดเคี้ยวครั้งแรกนี้ หัวกดจะถูกยกขึ้นเพื่อปล่อยให้ตัวอย่างคลายตัว ในขณะที่แรงดึง (Tension) ที่เกิดจากความเหนียวของชิ้นอาหารที่ทำให้ติดกับหัวกดขึ้นไปจะถูกวัดค่า และในการ

บดเคี้ยวครั้งที่สอง เมื่อตัวอย่างถูกกดอีกครั้ง จะเกิดแรงต้านขณะที่ตัวอย่างมีการเปลี่ยนรูป (Smewing, 1999)



รูป 2.1 แสดงกราฟที่ได้จากการวัด Texture Profile Analysis

จากกราฟในรูป 2.1 พารามิเตอร์ที่ชี้บ่งลักษณะเนื้อสัมผัสที่ได้จากการวัดตัวอย่างโดยวิธี Texture Profile Analysis ได้แก่

hardness : ค่าแรงที่ได้จากการกดหัววัดลงบนตัวอย่างครั้งแรก

fracturability : ค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างเปราะหรือแตกออกเมื่อกดหัววัดบนตัวอย่างครั้งแรก

จากกราฟจะเป็นตำแหน่งของแรงสูงสุดก่อนที่แรงจะตกหลังจากที่ตัวอย่างแตกออก หลังจากนั้นแรงจะเพิ่มขึ้นไปอีกครั้งจนถึงค่าแรงสูงสุด ค่าความเปราะนี้บางครั้งอาจใช้คำว่า “brittleness”

adhesiveness : งานที่ต้องใช้ในการดึงหัววัดออกจากผิวหน้าของตัวอย่างจากการกดครั้งแรก คำนวณได้จากพื้นที่ใต้กราฟของ A3 ตัวอย่างที่มีผิวหน้าเหนียวหรือเกาะติดกับหัววัด จะทำให้มีพื้นที่ดังกล่าวมาก

cohesiveness : ค่าความความแข็งแรงของพันธะที่เกิดขึ้นภายในชิ้นของตัวอย่าง คำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่สองหารด้วยพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งแรก คำนวณพื้นที่โดยเริ่มจากการกดหัววัดลงบนตัวอย่างจนถึงตำแหน่งของแรงสูงสุดในแต่ละครั้ง

springiness : ระยะเวลาที่ตัวอย่างคลายตัวกลับขึ้นมาหลังจากดึงหวัคขึ้น คำนวณจากเวลาที่ใช้ในการกดตัวอย่างครั้งที่สองจนถึงจุดแรงสูงสุดหารด้วยเวลาที่ใช้ในการเริ่มกดตัวอย่างครั้งแรก จนถึงจุดแรงสูงสุด โดยเริ่มคิดเวลาเมื่อเริ่มมีแรงต้านเกิดขึ้นจากการกดตัวอย่าง บางครั้งอาจใช้คำว่า “elasticity”

gumminess : แรงที่ใช้ในการบดเคี้ยวอาหารกึ่งแข็งจนอยู่ในสภาพพร้อมจะกลืนคำนวณได้จากการนำค่า hardness คูณด้วยค่า cohesiveness

chewiness : แรงที่ใช้ในการบดเคี้ยวอาหารแข็งจนอยู่ในสภาพพร้อมจะกลืน คำนวณได้จากการนำค่า gumminess คูณด้วยค่า springiness (Smewing, 1999)

2.5 วัตถุกันเสีย

วัตถุกันเสียเป็นสารประกอบเคมีที่ช่วยในการถนอมหรือยืดอายุการเก็บของอาหาร ช่วยในการยับยั้ง ชะลอ หรือทำลายการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ หรือป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์แพร่กระจายออกไป จึงไม่เกิดการเน่าเสียทำให้สามารถเก็บอาหารได้นาน (จุไรรัตน์, 2537) วัตถุกันเสียอาจเป็นสารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ และมีผลในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มจำนวนขึ้นก็ได้ ผลการทำลายหรือยับยั้งโดยมากขึ้นกับปริมาณที่ใช้ ถ้าใช้ปริมาณสูงจุลินทรีย์ก็จะถูกทำลายได้มาก แต่การใช้กับอาหารมักถูกจำกัดในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ จึงมีผลเพียงช่วยควบคุมจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นเท่านั้น ด้วยเหตุนี้สารเคมีที่ใช้เป็นวัตถุกันเสียจึงมีประโยชน์ในแง่ของการควบคุมอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ไม่สูงมาก (สุมณฑา, 2545) อาหารที่มีสารกันบูดมาก เช่น น้ำพริก เครื่องแกงที่ขายกันโดยทั่วไป ซึ่งมักทำออกมาในปริมาณมากมักเก็บไว้ไม่ได้นานรวมไปถึงอาหารและของหวานสำเร็จรูป (ศิวาพร, 2546) วัตถุกันเสียที่ยังใช้กันแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบันแบ่งเป็นกลุ่มหลักๆ 4 กลุ่ม คือ กรดอินทรีย์และเอสเทอร์ (กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดเบนโซอิก พาราเบน กรดซอร์บิก และกรดโปรพิโอนิก) ไนไตรท์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสารกันเสียธรรมชาติ (น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ และไนซิน) (สุมณฑา, 2545)

2.5.1 กรดเบนโซอิก

2.5.1.1 สมบัติของกรดเบนโซอิก

มีชื่อทั่วไปคือ คาร์บอกซีเบนซีน (carboxybenzene) หรือกรดเบนโซอิก สูตรโมเลกุลคือ $C_6H_5CO_2$ สถานะเป็นผลึกของแข็ง มีกลิ่นฉุน จุดเดือด $249^{\circ}C$ จุดหลอมเหลว $122^{\circ}C$ น้ำหนักโมเลกุล 122.2 ความถ่วงจำเพาะ 1.32 เป็นสารกันบูดที่นิยมใช้กันมาก เพราะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ รา และแบคทีเรียได้หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* (นิธิยา และวิบูลย์, 2543) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ และราได้ดีกว่าแบคทีเรีย และพบมากตามธรรมชาติในลูกพรุน แครนเบอร์รี่ พลัม อบเชย แอปเปิ้ล และมะละกอสุก นิยมใช้ในรูปของเกลือ เนื่องจากละลายได้ง่ายกว่าในรูปของกรด (ศิวาพร, 2546) โซเดียมเบนโซเอตมีความเสถียร ไม่มีสี เม็ดสีขาว หรือเป็นผงผลึก ละลายได้ดีในน้ำ และเอทานอล มีประสิทธิภาพในการควบคุมยีสต์ รา และแบคทีเรียได้สูง 5-10 เท่า เมื่อค่าพีเอชลดจาก 7 เป็น 3.5 ในภาวะกรดจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าสภาวะที่เป็นกลางถึง 100 เท่า (Davidson, 2001)

2.5.1.2 การใช้กรดเบนโซอิกเป็นวัตถุกันเสีย

นิยมใช้ในอาหารเครื่องดื่ม น้ำผลไม้ น้ำหวาน น้ำอัดลม อาหารหมักดอง ซอสถั่วเหลือง แยม และเยลลี่ โดยไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S.FDA.) จึงได้อนุญาตให้ใช้เป็นสารกันบูดอาหาร (โครงการตำราวิทยาศาสตร์อุตสาหกรรมอาหาร, 2526)

1. มاکารีน และอาหารไขมันประเภทเดียวกัน อนุญาตโดยการใส่กรดเบนโซอิกประมาณ 0.1% ลงในส่วนที่เป็นของเหลว โดยขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณเกลือ และความเข้มข้นของของแข็งที่มีในนม
2. มายองเนส น้ำสลัดและซอส อนุญาตโดยการใส่กรดเบนโซอิก 0.1-0.15%
3. ผักดอง เครื่องเทศปรุงแต่ง จัดเป็นอาหารที่มีสภาพเป็นกรด ง่ายต่อการป้องกันยีสต์และรา โดยการใส่กรดเบนโซอิกปริมาณ 0.07-0.1%
4. ไข่แดงเค็ม เดิมกรดเบนโซอิก 0.1-0.5% ส่วนไข่แดงที่ไม่เค็ม ใช้อย่างน้อย 1.2%
5. อาหารกึ่งสำเร็จรูปพวกปลาและปู มักมีค่าพีเอชสูงกว่า 4.5 แนะนำให้ใช้กรดเบนโซอิก 0.02-0.1% ร่วมกับกรดซอร์บิก 0.03-0.05%

6. น้ำผลไม้ ใช้กรดเบนโซอิก 0.1-0.15% น้ำผลไม้ที่ผ่านกระบวนการผลิตเพื่อนำไปบริโภคทันทีไม่จำเป็นต้องใส่วัตถุกันเสีย แต่น้ำผลไม้ที่เก็บไว้เพื่อรอการผลิตนั้น การเติม วัตถุกันเสียจะช่วยหลีกเลี่ยงการใช้ความร้อนที่ไม่เหมาะสมได้

7. เนื้อผลไม้บด สามารถเก็บรักษาได้ด้วยส่วนผสมของวัตถุกันเสียหลายชนิด เช่น เบนโซอิก ซอร์บิก และซัลเฟอร์ไดออกไซด์

8. เครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ใช้กรดเบนโซอิก 0.025-0.035% ร่วมกับซัลเฟอร์ไดออกไซด์

9. แยม เยลลี่ ใส้ลูกกวาด และขนมหวาน ใช้ปริมาณกรดเบนโซอิก 0.1-0.2% ทั้งนี้ขึ้นกับค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณไขมันในอาหารดังกล่าว

10. อาหารชนิดอื่น ซอสที่ทำจากถั่วเหลืองถนอมด้วยกรดเบนโซอิก 0.06%

2.5.1.3 ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้โดยจะไปขัดขวางกระบวนการดูดซึมสารอาหารของเซลล์จุลินทรีย์ ขณะเดียวกันก็จะไปยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ และขัดขวางการสร้างเอนไซม์บางชนิดที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และราได้ดีกว่าแบคทีเรีย

2.5.1.4 ความเป็นพิษ

มีความเป็นพิษในคนและสัตว์น้อยมาก เนื่องจากเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต ไม่ทำให้เกิดการสะสมในร่างกาย เพราะร่างกายจะมีกลไกขจัดออก โดยจะเกาะเกี่ยวกับไกลซีนในตับเกิดเป็นกรดฮิปพูริก (hippuric acid) แล้วขจัดออกทางปัสสาวะภายใน 10-14 ชั่วโมง ส่วนที่เหลือในร่างกายที่ยังไม่ถูกขับออกจะไปรวมกับกรดไกลคูโรนิก (glycuronic acid) และถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปของกรดเบนโซอิลไกลคูโรนิก (benzoyl glycuronic acid) แม้ว่าจะมีความเป็นพิษน้อย สามารถขับออกทางปัสสาวะได้ แต่ถ้าได้รับในปริมาณมากเป็นเวลาดิ่ต่อกันนานๆ อาจเป็นอันตรายต่อร่างกาย โดยมีผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหาร มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและ

ท้องเสียหรือเกิดอาการแพ้มีผื่นคันได้ องค์การอนามัยโลก (WHO) จึงได้กำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) ของกรดเบนโซอิก 0-5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน การใช้สารกันบูดจึงควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสมและจำเป็นเท่านั้น ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้โดยทั่วไปคือไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ดวงพร, 2539; ศิวาพร, 2546)

2.5.2 กรดซอร์บิก

2.5.2.1 คุณสมบัติของกรดซอร์บิก

กรดซอร์บิก (sorbic acid) เป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส จึงไม่ทำให้กลิ่นรสหรือสีของอาหารเปลี่ยนแปลง มีลักษณะเป็นผงสีขาวละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่จะละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และยังเพิ่มอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นการละลายก็จะยิ่งเพิ่มขึ้น กรดซอร์บิก เกลือโปแตสเซียม แคลเซียม หรือ โซเดียมของกรดซอร์บิก หรือที่เรียกว่าเกลือซอร์เบตเป็น fungistatic agent ที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถยับยั้งเชื้อรา ยีสต์และพวกที่สร้าง mycotoxin เนื่องจากโครงสร้างคล้ายกรดไขมันจึงมีความปลอดภัยสูง และมีประสิทธิภาพในการทำลายยีสต์ รา และแบคทีเรียได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5-6 อีกทั้งถูกขับออกจากร่างกายได้ง่าย จึงไม่เกิดการสะสมในร่างกาย WHO ได้กำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) ของกรดซอร์บิก 0-25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (Davidson, 2001)

2.5.2.2 การใช้กรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสีย

อาหารที่นิยมใช้กรดซอร์บิก เกลือซอร์เบตเป็นวัตถุกันเสีย ได้แก่ อาหารจำพวกเนยเทียม เนยแข็ง เครื่องดื่มอัดคาร์บอน ไดออกไซด์ น้ำหวาน น้ำผลไม้ แยม เยลลี่ น้ำสลัด ผักผลไม้แห้ง ผักดอง เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ และผลิตภัณฑ์ขนม จำพวกเค้ก พาย โดนัท หรือประเภทที่มีการทำให้ฟูโดยผงฟู นิยมใช้กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตในการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ และรา (ศิวาพร, 2546) นอกจากนี้ยังนิยมใช้กับอาหารอีกหลายประเภท สรุปได้ดังนี้

1. ไขมัน กรดซอร์บิกมีค่าสัมประสิทธิ์การละลายดีเมื่อเทียบกับวัตถุกันเสียชนิดอื่น ปริมาณที่ใช้ระหว่าง 0.05-0.1% โดยเติมกรดซอร์บิกในส่วนที่เป็นไขมัน และเติมโพแทสเซียมซอร์เบตในส่วนที่เป็นน้ำ

2. นมและเนื้อสัตว์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในไส้กรอกเมื่อใช้ในรูปโพแทสเซียมซอร์เบต 10-20% และเมื่อใช้ร่วมกับไนไตรท์สามารถควบคุมแบคทีเรียที่สร้างสารพิษและแบคทีเรียพวก Clostridia ได้ (Robach, 1980) ในเนื้อไก่กระทบพบว่าเมื่อจุ่มในสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบต เข้มข้น 5% เป็นเวลา 30 วินาที จะสามารถเก็บไว้ได้ถึง 19 วัน ที่อุณหภูมิ 3°C ในขณะที่ปกติสามารถเก็บไว้ได้เพียง 10 วัน ส่วนในเนื้อปลาการเติมโพแทสเซียมซอร์เบต 0.1% ในเนื้อปลาและในน้ำแข็งที่ใช้แช่ปลาสามารถหยุดการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ที่ทำให้ปลาเน่าเสียได้ ทำให้อายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แล้วยังนิยมใช้กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตเป็นวัตถุกันเสียในเนยแข็งกันอย่างแพร่หลาย (ไพบูลย์, 2544)

3. ผักและผลไม้ นิยมใช้กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต ระหว่าง 0.05-0.15% ในผักดอง เนื่องจากไม่มีผลรุนแรงต่อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก สามารถยับยั้งเชื้อราและยีสต์ที่ไม่ต้องการในกระบวนการหมักได้ การใช้กรดซอร์บิกเข้มข้น 0.05% สามารถป้องกันไม่ให้เกิดการกระบวนการหมักได้ และป้องกันการถูกทำลายจากเชื้อราในผลไม้จำพวกพ룬แห้ง มะเดื่อแห้ง และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แยม มาร์มาเลด และเยลลี่ นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดซอร์บิกเป็นสารเคลือบผิวของผลิตภัณฑ์อีกด้วย (ไพบูลย์, 2544)

4. ขนมนมและลูกกวาด กรดซอร์บิก 0.1-0.2% เมื่อเติมในขณะที่เตรียมโคของ ขนมนมปังจะสามารถป้องกันเชื้อราในขนมนมปังได้ โดยเฉพาะเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซินได้ นอกจากนี้ กรดซอร์บิกยังสามารถป้องกันยีสต์ที่ทนน้ำตาลสูงได้ จึงนิยมใช้กับชอกโกแลตและลูกกวาด (ไพบูลย์, 2544)

5. เครื่องดื่ม กรดซอร์บิกในรูปโพแทสเซียมซอร์เบต 0.05-0.2% ใช้ป้องกันการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากยีสต์ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ และยังมีคุณสมบัติช่วยให้ไวน์มีความคงตัวป้องกันการหมักของยีสต์ในไวน์ได้ (ไพบูลย์, 2544)

2.5.2.3 ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต และทำลายยีสต์ราได้ดีกว่าแบคทีเรีย โดยจะไปมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์และผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และชะงักการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus sp.* ได้ กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตจะมีประสิทธิภาพดีในรูปที่ไม่แตกตัวหรือในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่างต่ำ กรดที่ไม่แตกตัวจะผันแปรตามความเป็นกรด-

ต่าง ที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำกรดซอร์บิกจะแตกตัวได้น้อย แต่จะแตกตัวได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่างสูง ซึ่งเป็นลักษณะที่ตรงกันข้ามกับวัตถุกันเสียชนิดอื่นๆ การที่ประสิทธิภาพดีในรูปที่ไม่แตกตัว จึงไม่เหมาะกับอาหารที่มีกรดต่ำหรือความเป็นกรด-ด่างสูง (Blocher *et al.*, 1982) มีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วงความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าหรือเทียบเท่ากับ 6.5 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณความเข้มข้นน้อยที่สุดของกรดซอร์บิกที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่างๆกัน ปฏิกิริยาของกรดซอร์บิกเกิดขึ้นเมื่อกรดไม่แตกตัวของซอร์บิกเจาะทะลุผ่านเข้าไปยังเซลล์ของจุลินทรีย์ แล้วเกิดปฏิกิริยาขึ้นภายใน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำประมาณ 40% ของกรดซอร์บิกที่มีอยู่จะทะลุผ่านเข้าไปในเซลล์ ในขณะที่ช่วงความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางกรดซอร์บิก ประมาณ 97% จะคงอยู่ในอาหาร แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่าง และส่วนที่ไม่แตกตัวเท่านั้นที่จะมีผลต่อจุลินทรีย์ กรดซอร์บิกไม่เหมาะกับอาหารที่มีปริมาณจุลินทรีย์สูง เหมาะกับอาหารที่มีจุลินทรีย์เริ่มต้นต่ำและมีมาตรฐานการสุขาภิบาลที่ดี (ไพบูลย์, 2544)

2.5.2.4 ความเป็นพิษ

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต จัดเป็นวัตถุกันเสียที่มีความปลอดภัยในการใช้ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับวัตถุกันเสียชนิดอื่น จากผลการทดลองในหนูทดลอง 100 ตัว ที่ได้รับอาหารที่มีกรดซอร์บิกในระดับ 0 และ 5 % พบว่าไม่มีอาการผิดปกติที่อวัยวะ (ไพบูลย์, 2529) หนูที่ได้รับการฉีดกรดซอร์บิก 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวันเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการสืบพันธุ์และพฤติกรรมอื่นๆ และไม่ทำให้เกิดเนื้องอก แต่ถ้าเพิ่มเป็น 80 มิลลิกรัม พบว่าหนูมีการเจริญเติบโตช้าลง ส่วนการเติบโตของเซลล์มะเร็งซอร์เบต 1-2% ในอาหารสุนัข นาน 3 เดือน ไม่พบความผิดปกติใดๆ (นิธิยา, 2545)

ผู้ที่มีความไวต่อกรดซอร์บิกหรือเกลือเบนโซเอตหากรับประทานในปริมาณมากอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการแพ้ระคายเคืองผิวหนังได้ อย่างไรก็ตามจะพบอาหารดังกล่าวเฉพาะผู้ที่มีความไวต่อสารดังกล่าวเท่านั้น ยังไม่พบอาการแพ้ในผู้บริโภคทั่วไป องค์การอนามัยโลกกำหนดให้ปริมาณต่ำสุดที่ร่างกายควรได้รับกรดซอร์บิกต่อวันสำหรับคนหนัก 60 กิโลกรัม อยู่ในช่วง 0-1,500 มิลลิกรัมต่อวัน (นิธิยา, 2545)

2.5.3 การสำรวจการใช้วัตถุกันเสียในอาหาร

จากการสำรวจการใช้วัตถุกันเสียในเครื่องดื่มหาบเร่แผงลอยประเภทน้ำผลไม้ผสมสี และ น้ำหวานผสมสีในเขตกรุงเทพมหานคร พบว่านิยมใช้กรดเบนโซอิกมากกว่ากรดซอร์บิกโดยใช้มากถึง 55.3% และใช้ในปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน (ลดาพรรณ และคณะ, 2533) ตรงกันข้ามกับในต่างประเทศกลับพบว่านิยมใช้กรดซอร์บิกเป็นวัตถุกันเสียในเครื่องดื่มถึง 45% ในขณะที่พบการใช้กรดเบนโซอิกเพียง 9% เนื่องจากกรดซอร์บิกมีความปลอดภัยมากกว่ากรดเบนโซอิก ในประเทศญี่ปุ่นและออสเตรเลียกำหนดค่ามาตรฐานของกรดเบนโซอิกในเครื่องดื่มมีค่าไม่เกิน 600 และ 400 ppm และกรดซอร์บิกมีค่าไม่เกิน 1,000 และ 400 ppm (ขวัญตา และอโณทัย, 2547) จะเห็นได้ว่าการกำหนดค่ามาตรฐานปริมาณวัตถุกันเสียแต่ละชนิดของต่างประเทศจะต่างกับกฎหมายอาหารของประเทศไทยซึ่งการใช้กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเป็นสารกันบูดต้องใช้ในปริมาณที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนด คือไม่เกิน 1,000 ppm (กระทรวงสาธารณสุข, 2547)

นอกจากเครื่องดื่มแล้ว ยังพบว่ามีการใช้วัตถุกันเสียกับอาหารอีกหลายประเภท เช่น อาหารพื้นเมือง น้ำพริกแดง น้ำพริกหนุ่ม หมูยอ ใส่อั่ว จากการตรวจหาโดยวิธีโครมาโทกราฟีกระดาษ และสเปกโตรโฟโตเมตรีในน้ำพริกหนุ่ม 6 ตัวอย่าง พบว่าทั้ง 6 ตัวอย่างมีปริมาณกรดเบนโซอิกอยู่ในช่วง 220-2,445 ppm มีตัวอย่างที่มีปริมาณกรดเบนโซอิกเกินมาตรฐานที่ใช้ 4 ตัวอย่าง (ปริมาณที่อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยสำหรับการบริโภคไม่เกิน 1,000 ppm) (ดวงพร, 2539) และพบกรดเบนโซอิกในปริมาณที่สูงกว่าที่อนุญาตมากในหมูยอและลูกชิ้น (สุชีวรรณ และจรัส, 2529) ในอาหารบรรจุปิดสนิทประเภทต่างๆ ที่ผลิตและจำหน่ายในประเทศ จำนวน 586 ตัวอย่าง พบว่ามีการใช้สารกันบูด 145 ตัวอย่าง คิดเป็น 24.7% โดยแบ่งเป็นกรดเบนโซอิก 17.1% กรดซอร์บิก 7.7% ปริมาณที่ใช้ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค (จิรายุ และศุภมาส, 2533)

อาหารบรรจุภาชนะปิดสนิทประเภทต่างๆ ที่ผลิตและจำหน่ายภายในประเทศ จำนวน 586 ตัวอย่าง พบว่ามีการใช้สารกันบูด 145 ตัวอย่าง คิดเป็น 24.7% โดยแบ่งเป็นกรดเบนโซอิก 17.1% กรดซอร์บิก 7.7% ปริมาณที่ใช้ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค (จิรายุ และศุภมาส, 2533)

จากปัญหาการใช้วัตถุกันเสียเกินมาตรฐานในปริมาณมากในอาหารประเภทต่างๆ นั้น ได้มีการศึกษาวัตถุกันเสียจากสมุนไพรทดแทนการใช้สารเคมีในการถนอมอาหาร โดยการใช้เครื่องเทศและสารปรุงรสจากพืชบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง ป้องกันหรือทำลายจุลินทรีย์บางชนิดได้ เช่น มัสตาร์ดมีผลต่อยีสต์ อบเชยและกานพลูมีผลต่อแบคทีเรีย และพบว่ามีผู้ศึกษาโดยใช้สารสกัด

จากจึงร่วมกับความร้อนต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิห้องได้ถึง 4 วัน พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของยีสต์บางสายพันธุ์จากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ไม้พะยอม หมาก และไม้มะเกลือ พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในการยืดอายุการเก็บรักษาของเค้กด้วยผลข้างที่ปริมาณต่างๆ สามารถยืดอายุได้สูงสุด 7 เดือน พบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* O157H:7, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลและเนื้อสัตว์ด้วยสมุนไพรเครื่องต้มยำที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเป็นอย่างดี และได้รับข้อมูลจากผู้ผลิตกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรนาดี อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย ว่ามีการผลิตน้ำผักสะทอนเป็นเครื่องปรุงรส และใช้ผสมในน้ำพริก พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำพริกได้นานหลายเดือน และจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ คุณพะยอม ผ่างและสะทอน พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* และแกรมลบ *E. coli* ได้ในความเข้มข้นต่างๆ ทำการคัดเลือกสารสกัด 3 ชนิดมาผสมในน้ำพริกนรกและน้ำพริกปลาอย่าง ได้แก่ สารสกัดผ่าง 0.296% และ 0.592% สารสกัดคุณ 4.125% สารสกัดทอน 0.9625% พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์และราได้ดี หากสามารถพัฒนาการใช้พืชสมุนไพรให้ใช้ประโยชน์ได้จริงจะสามารถลดการใช้วัตถุกันเสียเคมี ส่งเสริมการใช้วัตถุกันเสียจากธรรมชาติ สามารถเพิ่มมูลค่าแก่สมุนไพรและตัวผลิตภัณฑ์น้ำพริกให้เป็นที่ยอมรับ และเป็นจุดขายทางการตลาดเกี่ยวกับความปลอดภัยและการใช้ส่วนประกอบในการผลิตจากธรรมชาติได้ (รุ่งระวี และคณะ, 2548)

2.6 โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High-Performance Liquid Chromatography; HPLC)

2.6.1 หลักการ HPLC

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบโดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบในเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ของคอลัมน์โดยมีเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับดีเทคเตอร์ (detector) จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่อง สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยได้ยากหรือน้ำหนักโมเลกุลสูง HPLC สามารถวิเคราะห์สาร

ได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ สารประกอบที่เสถียรภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100% การแยกสารอาศัยเทคนิคอัตราการเคลื่อนที่ และการกระจายตัวของสารที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ระหว่างเฟสที่อยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ มีคอลัมน์ทำหน้าที่แยกองค์ประกอบออกจากกัน และมีดีเทคเตอร์เป็นตัวตรวจวัด สารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมีเฟสเคลื่อนที่ เป็นตัวพาไป สารที่ถูกดูดซับหรือละลายในเฟสอยู่กับที่ได้ดีก็จะถูกแยกออกมาช้า ส่วนสารใดที่ถูกดูดซับหรือละลายได้ไม่ดีก็จะถูกแยกออกมาก่อน (วันทนี, 2542; วราภรณ์, 2545)

2.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยเทคนิค HPLC

การใช้เทคนิค HPLC เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจหาปริมาณสารกันเสีย เพราะสามารถตรวจหาวัตถุกันเสียหลายชนิดได้ในคราวเดียวกัน สามารถวิเคราะห์หากรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น น้ำผลไม้ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ มาการีน โยเกิร์ต เยลลี่ ชีส ผลิตภัณฑ์จากแป้งสาลี ซอส ผักผลไม้กระป๋อง ผัก และ ผลไม้แห้ง (Onishi *et al.*, 2004; Saad *et al.*, 2004; Tfouni and Toledo, 2002) แต่เดิมการวิเคราะห์ปริมาณวัตถุกันเสียจะใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี ซึ่งมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน สารสกัดที่ใช้เป็นอีเทอร์ซึ่งอันตรายต่อสุขภาพ ขวัญตา และวิระพร (2547) จึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ โดยใช้วิธีโคโลชิสในการสกัดสารจากตัวอย่างร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารโดยใช้ HPLC คอลัมน์ Bds Hypersil C18 เฟสเคลื่อนที่ ใช้ 0.01 โมลาร์ แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ต่อเมทานอล อัตราส่วน 60:40 อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ดีเทคเตอร์ที่ความยาวคลื่น 235 นาโนเมตร พบมีความแม่นยำสูง ($r = 0.9995$) ไม่ถูกรบกวนโดยวิตามินและสารให้ความหวานในน้ำผลไม้ วิธีที่พัฒนาขึ้นจึงเหมาะสมที่จะใช้ในงานบริการเพื่อความรวดเร็ว

เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการสกัดตัวอย่างที่แตกต่างกันออกไป เช่น แยมพิวสั่ม เยลลี่และน้ำผลไม้ พบว่าวิธีการที่เหมาะสมคือการใช้การสกัดด้วยเมทานอล เพราะประหยัด ใช้เวลาน้อย และให้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% Recovery) เฉลี่ย 95.91 และ 94% ตามลำดับ ซอสและไขมันสกัดด้วย n-hexane และ acetate buffer ให้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ 98% (Mota *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2000)

Mihya (1999) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณกรดซอร์บิกและเบนโซอิกใน Labaneh (อาหารกึ่งแห้งทำจากโยเกิร์ต) จาก 14 แหล่งในประเทศจอร์แดน ทำการวิเคราะห์ 2 ชั่วโมง โดยวิธี HPLC ใช้ดีเทคเตอร์ 277 นาโนเมตร คอลัมน์ ODS C-18 ขนาด 150 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ใช้ฟอสเฟตและเมทานอลในอัตราส่วน 90:10 อัตราการไหล 1.2 มิลลิเมตร ต่อนาที ผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างที่พบกรดเบนโซอิกมี 8 ตัวอย่าง โดยปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 33-2,000 ppm

Tfouni (2002) ได้ใช้วิธี HPLC วิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในอาหารบราซิลเลียน ได้แก่ เครื่องดื่มผลไม้ เครื่องดื่มอัดลม มาการีน โยเกิร์ต และเนยแข็ง โดยใช้เครื่อง HPLC แบบฉีดอัตโนมัติ (Auto Sampling) คอลัมน์ C-18 ขนาด 30 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ใช้ส่วนผสมระหว่างน้ำ อะซิโตรไนไตรล์ และ 0.5 โมลาร์ แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.2 ด้วยกรดอะซิติก ในอัตราส่วน 81:17:2 ตามลำดับ ฉีดตัวอย่างครั้งละ 20 ไมโครลิตร พบว่ามีเนยแข็ง 1 ตัวอย่างที่มีปริมาณกรดซอร์บิก และเบนโซอิกเกินมาตรฐานกฎหมายอาหารของประเทศบราซิล และพบกรดซอร์บิกในเครื่องดื่มอัดลม 1 ตัวอย่าง น้ำผลไม้ 2 ตัวอย่าง เครื่องดื่มอัดลมจำนวน 2 ใน 3 ยี่ห้อไม่พบการใส่วัตถุกันเสีย สำหรับมาการีนพบมีการใช้ทั้งกรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิก

ในอาหารประเภทเครื่องดื่มผลไม้ ผักผลไม้กระป๋อง แยมหรือผลไม้ที่เป็นเยลลี่ ซอส ผลไม้อบแห้ง สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก ซอร์บิก เมทิลพาราเบนและโพรพิลพาราเบนพร้อมกันได้โดยวิธี HPLC คอลัมน์ C-18 กว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 4.6 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร ดีเทคเตอร์ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ฉีดสารครั้งละ 20 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.4 และเมทานอลในอัตราส่วน 36:65 เป็นเวลา 9 นาที แล้วเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 50:50 เฟอร์เซ็นต์การคืนกลับ คือ 106, 104, 102 และ 102% สำหรับกรดเบนโซอิก ซอร์บิก เมทิลพาราเบนและโพรพิลพาราเบน ตามลำดับ

ขวัญตา และ วีระพร (2547) ได้ทำการสำรวจเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปีดสนิท ได้แก่ น้ำผลไม้ น้ำผัก น้ำหวาน น้ำอัดลม ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ระหว่างปี พ.ศ. 2540-2543 จากผู้ประกอบการและส่วนราชการที่เกี่ยวข้อง 194 ราย จำนวนทั้งหมด 555 ตัวอย่าง ทางเคมีนำมาตรวจหาปริมาณวัตถุกันเสีย ได้แก่ กรดเบนโซอิก และซอร์บิก โดยเครื่อง HPLC พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% Recovery) ของเบนโซอิก และซอร์บิก คือ 92.5-98.8 และ 96.9-103.9% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 214 (พ.ศ. 2543) เรื่องอาหารในภาชนะที่บรรจุปีดสนิท พบว่าตัวอย่างที่มีวัตถุกันเสียเกินมาตรฐานลดลงอย่างชัดเจน โดยเฉพาะปี 2543

ลดลงประมาณ 6 เท่าเมื่อเทียบกับปี 2540 และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของการใช้วัตถุกันเสียต่อการตรวจพบจุลินทรีย์พบว่า การใช้กรดเบนโซอิกอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับกรดซอร์บิกมีผลต่อการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทุกกลุ่ม ยกเว้น *S. aureus*, *Salmonella* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะเห็นได้ว่าถึงแม้ว่าจะใช้วัตถุกันเสียก็ยังคงตรวจพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

ลัดดา และกุลวดี (2537) สกัดกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกจากน้ำกระเจียบ น้ำมะตูม และน้ำหวานเข้มข้นด้วยการกลั่นไอน้ำ ซึ่งตัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน แล้ววิเคราะห์กรดที่สกัดได้ด้วยโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ใช้คอลัมน์ Platinum EPS C₁₈ อะซิเตดบัฟเฟอร์ 0.01 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 และเมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร พบว่าประสิทธิภาพของวิธีการสกัดกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกด้วยการกลั่นไอน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 50-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ในเกณฑ์ดี คือ 90-107% และ 87-118% ตามลำดับ สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับอาหารชนิดอื่นโดยใช้เวลาในการสกัด วิเคราะห์และใช้สารเคมีที่มีความอันตรายน้อยกว่า

มีศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในเครื่องดื่ม โดยใช้สารละลายซิงค์อะซิเตด และสารละลายโปแตสเซียมเพอร์โรโซยานเนตตกตะกอนสารรบกวนก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC พบว่ามีความแม่นยำที่ได้จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์คืนกลับของการเติมกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกลงในตัวอย่างน้ำส้มเกี๊ยะหิมะ ความเข้มข้น 47.81 ถึง 399.52 ppm และกรดเบนโซอิกเท่ากับ 98.1 ถึง 100.1 % และกรดซอร์บิกเท่ากับ 96.3 ถึง 100.0% โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) หรือค่าความเที่ยงของทุกระดับความเข้มข้น อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับเมื่อเปรียบเทียบกับ Horwitz's equation ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบ มีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 9.51 – 399.52 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ (r^2) ของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเท่ากับ 0.9998 และ 0.9999 ซึ่งค่าพารามิเตอร์ทั้งสามอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สามารถนำวิธีนี้ไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในเครื่องดื่มแทนวิธีสกัดได้ (ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุบลราชธานี, 2550)

2.7 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา จะทำการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) เชื้อยีสต์และราทั้งหมด (Yeast and Mould) แบคทีเรีย Coliform และ *E. coli* จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหารนั้นๆ หากมีจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์อยู่มากแสดงว่าวัตถุดิบที่นำมาผลิตอาหารนั้นด้อยคุณภาพ หรือ ขั้นตอนการผลิตที่ไม่ดีพอ โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารมักจะตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เนื่องจากเจริญเพิ่มจำนวนได้ดีในอุณหภูมิห้อง ตามมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ อาหารปรุงสำเร็จ มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 1×10^6 CFU/g (กระทรวงสาธารณสุข, 2536) อาหารที่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมากจะทำให้อาหารนั้นเน่าเสียได้ง่าย เชื้อยีสต์และรา นับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารไม่น้อยกว่าเชื้อแบคทีเรีย โดยปกติแล้ว เชื้อราเจริญได้ดีในอาหารที่มีความชื้นต่ำ และมีค่าน้ำอิสระ (Water activity) ไม่สูงมากนัก รวมทั้ง ขึ้นอยู่กับสภาพของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ตัวอย่างเชื้อราที่มีความสำคัญ ต่ออุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ เชื้อราในจีนัส *Mucor*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Monilia*, *Penicillium*, *Rhizopus* และ *Geotrichum* เชื้อราบางชนิดสามารถสร้าง สารพิษที่เป็นอันตรายต่อคนได้ เช่น เชื้อรา *Aspergillus flavus* จะสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ที่เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งในคน เชื้อราชนิดนี้มักเจริญในถั่วลิสงและพริกแห้งได้ สำหรับเชื้อยีสต์ นั้นเป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเสีย และเกิดการหมัก โดยเฉพาะในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็น องค์ประกอบ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณของเชื้อยีสต์ และราจึงมีความสำคัญยิ่ง เพื่อใช้เป็นดัชนี ในการบ่งชี้ถึงความสะอาด คุณภาพของวัตถุดิบ และคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร (สุมณฑา, 2545)

2.7.1 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก พบกระจัดกระจายอยู่ทั่วไปในอากาศ ดิน น้ำ อาหาร รวมทั้งตามมือและทางเดินอาหารของคนและสัตว์ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารสามารถแบ่งออก ได้ตามหน้าที่ของจุลินทรีย์ คือ กลุ่มที่ก่อให้เกิดประโยชน์กับอาหาร จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง กับอาหารในลักษณะที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เช่น กระบวนการหมัก (fermentation) นำนมถูก เปลี่ยนไปเป็นเนยแข็ง (cheese) น้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ และผักเปลี่ยนเป็นผัก-ดอง (วรา วุฒิ, 2538) กลุ่มที่ก่อให้เกิดอันตรายแก่สุขภาพของผู้บริโภคทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food

poisoning) ซึ่งอาจพบได้ในพืช สัตว์และผลผลิตจากจุลินทรีย์ โรคติดเชื้อในอาหาร (food infection) เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียเข้าไปในร่างกาย (สุมาลี, 2535) และกลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ผู้บริโภคไม่สามารถยอมรับได้ ทั้งในแง่ของสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและรูปลักษณะของอาหาร (วารวูฒิ, 2538)

แบคทีเรีย Coliform และ *E. coli* จัดอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของอาหารเนื่องจากการตรวจวิเคราะห์เชื้อก่อโรค ที่ปนเปื้อนทั้งโดยตรง และโดยอ้อมจากอุจจาระของคนและสัตว์ เช่น เชื้อ *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* และ *E. coli* บางสายพันธุ์ การตรวจหาปริมาณเชื้อโดยตรงนั้นทำได้ยากและสิ้นเปลือง ดังนั้นจึงนิยมตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ช่วยเป็นดัชนีบ่งชี้แทน ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีแหล่งอาศัยปกติ (normal flora) อยู่ในระบบทางเดินอาหารของคนหรือสัตว์ มักปนเปื้อนในอุจจาระเป็นจุลินทรีย์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกได้ดี เชื้อแบคทีเรีย Coliform เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน (rod) ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สามารถย่อยแลคโตสแล้วได้กรด และก๊าซที่อุณหภูมิ 30-37 °C ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ตามมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขกำหนดให้อาหารปรุงสำเร็จมีเชื้อ Coliform น้อยกว่า 500 MPN/g และมีเชื้อ *E. coli* น้อยกว่า 3 MPN/g (กระทรวงสาธารณสุข, 2536)

S. aureus เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะกลม (cocci) อยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น จัดอยู่ในพวกที่สร้างสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxins) มีผลให้เกิดอาการท้องเดิน เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อที่พบได้ตามร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ เช่น จมูก มือ ซอกเล็บ แขน และส่วนอื่นๆ ของร่างกาย การควบคุมการเกิดโรคจากเชื้อนี้ โดยการประกอบอาหารให้ถูกสุขลักษณะการเก็บรักษาอาหารในอุณหภูมิที่เหมาะสม (น้อยกว่า 4 °C หรือมากกว่า 60 °C) และการหลีกเลี่ยงให้ผู้ประกอบอาหารที่มีบาดแผลจับต้องอาหารโดยตรง (สุมณฑา, 2545)

C. perfringens เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ เจริญในสภาวะไร้อากาศ กระจายอยู่ในดินและในสิ่งแวดล้อม ฟุนละออง ปุ๋ย อาหารตกแห้งกับพื้น ผลผลิตทางการเกษตรรวมทั้งเครื่องเทศตกแห้ง การพบเชื้อนี้ในทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์ และในอุจจาระถือเป็นเรื่องปกติ หรือพบได้ในอาหารซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนไม่เพียงพอ ไม่สามารถทำลายสปอร์ได้ และเซลล์สามารถสร้างเอนโทโรทอกซินซึ่งก่อให้เกิดโรคได้ สามารถควบคุมได้โดยกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนต้องปฏิบัติตามหลักการ การเก็บรักษาอาหารในภาชนะและอุณหภูมิที่เหมาะสม (มาลัย, 2547)

Salmonella เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง อยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae เช่นเดียวกับแบคทีเรีย Coliform และ *E. coli* แหล่งที่พบ คือ ลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มนุษย์ รวมทั้งแมลง แต่บางทีอาจพบได้ตามร่างกายของมนุษย์และสัตว์ และในระบบทางเดินอาหาร การควบคุมการเกิดโรคจากแบคทีเรียชนิดนี้โดยการบริโภคอาหารที่สุก และการประกอบอาหารให้ถูกสุขลักษณะ

2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร

(1) แหล่งไนโตรเจนและคาร์บอน

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถใช้โปรตีนเป็นทั้งแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอน เช่นแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารซึ่งมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบเล็กน้อยหรือไม่มี โดยแบคทีเรียนี้จะย่อยสลายโปรตีนให้ได้เป็นกรดอะมิโน สำหรับคาร์บอนเป็นส่วนประกอบของไซโทพลาซึม เอนไซม์ ผนังเซลล์และส่วนอื่นๆ ของเซลล์ จุลินทรีย์สร้างพลังงานขึ้นมาจากการเผาผลาญสารประกอบคาร์บอนโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน แหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์ทั้งยีสต์ รา และแบคทีเรียใช้ได้ง่าย คือ น้ำตาลกลูโคส

(2) แร่ธาตุ

แร่ธาตุเกี่ยวข้องกับระบบเอนไซม์ ดังแสดงในตาราง 2.1 แร่ธาตุบางชนิดทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) เช่น แมงกานีส แมกนีเซียมและสังกะสีเป็นโคเอนไซม์ในกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) แร่ธาตุในกลุ่มอโลหะ (nonmetallic elements) เช่น ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของแหล่งพลังงานที่เรียกว่า ATP (adenosine triphosphate)

ตาราง 2.1 แร่ธาตุที่จำเป็นต่อกิจกรรมของเอนไซม์

แร่ธาตุ	เอนไซม์
Calcium	Amylase, Proteinase
Cobalt	Peptidase
Copper	Tyrosinase, Oxidase
Iron	Cytochrome, Electron-transport systems in mitochondria, Ferredoxin
Magnesium	Phosphatase, ATP reactions, Carboxylases
Manganese	Peptidase, Isomerase
Molybdenum	Nitrate reduction, Xanthine oxidase
Potassium	Phosphopyruvate, Transphosphorylase, Fructokinase
Zinc	Dehydrogenase, Peptidase, Carbonic anhydrase

ที่มา: Banwart (1983)

(3) ความชื้น

ความชื้นเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ น้ำในอาหารมีอยู่หลายสภาพด้วยกัน เช่น สภาพอิสระ (free water) สภาพที่จับอยู่กับโมเลกุลของอาหาร (bound water) ถ้าทำให้น้ำอิสระลดลงมาระดับหนึ่งจะทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ เช่น ผักต้องปรับให้ความชื้นต่ำประมาณ 35% ในขณะที่ผลไม้ไม่ต้องปรับความชื้นเพียง 15-20% เนื่องจากในผลไม้มีปริมาณน้ำตาลมากกว่าในผัก เมื่อความชื้นของผลไม้ลดลงส่งผลให้ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงขึ้น ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารกันบูด (preservative agent) ไปในตัว

(4) ค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity: a_w)

ค่ากิจกรรมของน้ำของอาหาร คำนวณได้จากความดันไอของอาหาร (vapor pressure of food) หารด้วยความดันไอน้ำ (vapor pressure of water) ที่อุณหภูมิเดียวกัน

$$a_w = \frac{\text{vapor pressure of food}}{\text{vapor pressure of water}}$$

ค่ากิจกรรมของน้ำของน้ำบริสุทธิ์เท่ากับ 1.00 กรณีอาหารมีค่ากิจกรรมของน้ำสูง จะเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรีย แต่ถ้าอาหารถูกควบคุมค่ากิจกรรมของน้ำให้ลดลง สาเหตุการเสื่อมเสียอาหารชนิดนั้นจะเนื่องมาจากเชื้อรา ตามปกติจุลินทรีย์มีค่ากิจกรรมของน้ำที่สูงสุด (maximum) เหมาะสม (optimum) และต่ำที่สุด (minimum) วิธีการหนึ่งในการป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ คือ การปรับค่าของค่ากิจกรรมของน้ำของอาหารให้มีค่าต่ำกว่าค่ากิจกรรมของน้ำต่ำที่สุด ที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะเจริญได้ ค่ากิจกรรมของน้ำของอาหารที่มีความปลอดภัยในระหว่างการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 0.70 หรือต่ำกว่า แม้อาหารจะถูกควบคุมโดยปรับค่ากิจกรรมของน้ำให้ต่ำ เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ แต่อาหารอาจเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ในอาหารนั้น แม้จะมีอัตราในการเปลี่ยนแปลงที่ต่ำก็ตาม

(5) ศักยภาพของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน (Oxidation-Reduction

Potential: Eh)

การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย อาจใช้ความสัมพันธ์ของเชื้อต่อความต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น aerobic bacteria, anaerobic bacteria หรือ facultative anaerobic bacteria ในสภาพที่มีออกซิเจนจะเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอน ในขณะที่สภาพรีดิวซ์จะมีการรับอิเล็กตรอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ การตรวจวัดสภาพของปฏิกิริยาค่า Eh ในอาหารหรืออาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกวัดออกมาเป็นค่ามิลลิโวลต์ (millivolt) ถ้ามีค่าเป็นบวก แสดงว่าอาหารนั้นอยู่ในสภาพมีอากาศ แต่ถ้าค่าเป็นลบ แสดงว่า อาหารนั้นอยู่ในสภาพที่ไม่มีอากาศ

(6) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เซลล์เมมเบรน (cell membrane) ของจุลินทรีย์ยอมให้ประจุของไฮโดรเจน (H^+) หรือประจุของไฮดรอกซิล (OH^-) ผ่านเข้าออกได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์มีระบบบัฟเฟอร์ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างจึงทำให้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์มีค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียง 7.0 จุลินทรีย์มีความต้องการค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญเติบโตของมันแยกออกเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุด (minimum pH) ที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้กับค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต (optimum pH) และค่าความเป็นกรด-ด่างสูงสุดที่จุลินทรีย์ยังสามารถเจริญอยู่ได้ (maximum pH) แบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตใกล้ 7.0 แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ในสภาพที่ค่อนข้างไปทางกรด เช่น *Lactobacillus* และ *Streptococcus* แบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาพที่ค่อนข้างไปทางด่าง เช่น *Pseudomonas* ในแง่ของค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของอาหาร ชนิดของกรดในอาหารเป็นสิ่งจำเป็นในการ

พิจารณา โดยกรดนั้นอาจเป็นกรดธรรมชาติที่มีอยู่เดิมในอาหาร กรดที่เติมลงไปนี้อาหารหรือกรดที่ถูกสร้างขึ้นมาในอาหารเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์หรือจุลินทรีย์

(7) อุณหภูมิ

จุลินทรีย์ถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มๆ ตามระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต แสดงในตาราง 2.2

ตาราง 2.2 ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มที่ถูกแบ่งตามระดับอุณหภูมิ

กลุ่ม	อุณหภูมิ (°C)		
	ต่ำที่สุด	เหมาะสม	สูงที่สุด
Psychrotrophic	-15.5	10-30	20-40
- Obligate	-15.0	10-20	20-22
- Facultative	-5.5	20-30	30-40
Psychrotrophic	-5.5	25-30	30-40
Mesophilic	5-25	25-40	40-50
Thermophilic	35-45	45-65	60-90
- Obligate	40-45	55-65	70-90
- Facultative	35-40	45-55	60-80

ที่มา: Banwart, 1983

Psychrophiles

จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญระหว่าง 0-30°C ส่วนมากก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารแช่เย็น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ ปลา หอย

Mesophiles

จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญระหว่าง 35-37°C จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสารพิษในอาหารก็ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย

Thermophile

จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญระหว่าง 40-70°C ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋องซึ่งเรียกว่า flat sour แบคทีเรียในกลุ่มนี้ยังสร้างสปอร์ที่มีคุณสมบัติในการต้านทานความร้อนได้อย่างดี