สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 2013

การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมในจังหวัดชลบุรี

Microbiological Quality Examination of Ice-cream in Chonburi Province

นางสาวลลิต ขำวงษ์รัตนโยธิน

- 2 ก.ค. 2546
0537

ปัญหาทางจุลชีววิทยานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มีนาคม 2545

12 พ.ย. 2547

ลิขสิทธิ์เป็นของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวของนิสิตและคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปัญหาทางจุลชีววิทยาฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ดร. ศิริโฉม ทุ่งเก้า)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
( )

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน
(ดร. ศิริโฉม ทุ่งเก้า)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์พรรนิภา ศิริเพิ่มพูล)

..... กรรมการ
(อาจารย์สุดสายชล หอมทอง)

ภาควิชาจุลชีววิทยาอนุมัติให้รับปัญหาทางจุลชีววิทยาฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา

.....หัวหน้าภาควิชา
(ดร. ศิริโฉม ทุ่งเก้า)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาทางจุลชีววิทยาฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก ดร. ศิริโฉม ทุ่งเก้า, รองศาสตราจารย์พรรนิภา ศิริเพิ่มพูลและอาจารย์ สุดสายชล หอมทอง ที่เป็นที่ปรึกษาและให้คำแนะนำรวมทั้งแนะแนวทางในการทำปัญหาทางจุลชีววิทยาและสนับสนุนในด้านต่างๆ เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ช่วยอำนวยความสะดวกเอื้อเฟื้อเครื่องมือในการปฏิบัติงานทำให้งานวิจัยสะดวกและรวดเร็วขึ้น

ขอขอบพระคุณครอบครัวขำวงษ์รัตนโยธินที่ให้การอบรมดูแล เลี้ยงดู ให้ความรักและการสนับสนุนด้านการศึกษาและเป็นกำลังใจให้เสมอมา

ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่ให้คำแนะนำ ช่วยอำนวยความสะดวก และเป็นกำลังใจในการทำปัญหาทางจุลชีววิทยาฉบับนี้ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

และความดีของปัญหาทางจุลชีววิทยาฉบับนี้จึงขอมอบแด่ทุกคนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัยครั้งนี้

ลลิต ขำวงษ์รัตนโยธิน

กุมภาพันธ์ 2545

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อวิจัย การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมในจังหวัดชลบุรี

ชื่อผู้วิจัย นางสาวลลิต ขำวงษ์รัตนโยธิน

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2544

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม ซึ่งเก็บตัวอย่างจากบริเวณ อ.เมือง และ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2544 ถึงเดือนธันวาคม 2544 โดยทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ตัวอย่าง และตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา พบว่าในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 1 มีไอศกรีม 4 ตัวอย่าง จากแหล่งผลิต 4 แห่งไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) เนื่องจากพบจำนวนแบคทีเรียรวมเกินเกณฑ์กำหนด 2 ตัวอย่าง ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียรวมเกินเกณฑ์กำหนดและตรวจพบแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus* 1 ตัวอย่างและตรวจพบ *S. aureus* เพียงอย่างเดียว 1 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 2 มีไอศกรีม 6 ตัวอย่าง จากแหล่งผลิต 6 แห่งที่ไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากพบจำนวนแบคทีเรียรวมเกินเกณฑ์กำหนด 2 ตัวอย่าง ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียรวมเกินเกณฑ์กำหนด และ ตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 1 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* เพียงอย่างเดียว 2 ตัวอย่าง และตรวจพบ *E. coli* จำนวน 1 ตัวอย่าง แต่การตรวจสอบทั้ง 2 ครั้ง ตรวจไม่พบแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella*, *Shigella* และ *Vibrio cholerae*

คำสำคัญ : คุณภาพทางจุลชีววิทยา ไอศกรีม จ.ชลบุรี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Title	**Microbiological Quality Examination of Ice-Cream in Chonburi Province**
Name	**Miss Lalit Kumwongruttanayothin**
Department	**Microbiology**
Academic Year	**2001**

Abstract

The microbiological quality of ice-cream collected from Amphur Muang and Amphur Sriracha, Chonburi Province was investigated during October 2001 to December 2001. Twenty ice-cream samples were collected for analysis for each of the twice surveys. The results showed that 4 samples of the first inspection were not complied with the Notification of the Ministry of Public Health No.222 (B.E.2544) on the criteria of total bacterial number (2 samples), total bacterial number plus *S. aureus* (1 sample) and *Staphylococcus aureus* (1 sample). Moreover, 6 ice-cream samples from the second survey were not complied with this standard on the criteria of total bacterial number (2 samples), total bacterial number plus *S. aureus* (1sample), *S. aureus* (2 samples) and *E. coli* (1 sample). However, no *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio cholerae* was detected in both investigations.

Key words: Microbiological quality, ice-cream, Chonburi

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง..... ค

สารบัญภาพ..... ง

บทที่ 1 บทนำ..... 1

ความมุ่งหมายของการศึกษา..... 3

ความสำคัญของการศึกษา..... 3

สมมติฐานของการศึกษา..... 3

ขอบเขตของการศึกษา..... 3

สถานที่ทำการทดลอง..... 3

บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา..... 4

รายละเอียดเกี่ยวกับไอศกรีม..... 4

รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อที่นำมาศึกษา..... 9

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 21

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 23

การเก็บตัวอย่างไอศกรีม..... 24

การตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด..... 25

การตรวจหา *Escherichia coli* แบบมาตรฐาน..... 25

การตรวจหา *Escherichia coli* แบบ Fluorescence 25

การตรวจหา *Salmonella* 26

การตรวจหา *Shigella* 26

การตรวจหา *Vibrio cholerae* 26

การตรวจหา *Staphylococcus aureus* 27

บทที่ 4 ผลการทดลอง 28

บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง 41

สรุปผลการทดลอง 41

อภิปรายผลการทดลอง 41

ข้อเสนอแนะ 45

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง 46
ภาคผนวก 48
ภาคผนวก ก 49
ภาคผนวก ข 58
ภาคผนวก ค 59
ภาคผนวก ง 61
ภาคผนวก จ 65

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความสำคัญและข้อจำกัดขององค์ประกอบไอศกรีม.....	6
2	ลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* บนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก.....	12
3	การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นเพื่อจำแนก *Salmonella*.....	13
4	การทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมสำหรับจำแนก *Salmonella*.....	14
5	ลักษณะโคโลนีของ *Shigella* บนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก.....	16
6	การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นเพื่อจำแนก *Shigella*.....	16
7	การทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมสำหรับจำแนก *Shigella*.....	17
8	การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นสำหรับ *V. cholerae*.....	19
9	ผลการหาจุลินทรีย์ในไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและแบบตักแบ่งขาย ชนิดต่างๆ (ครั้งที่ 1).....	29
10	ผลการหาจุลินทรีย์ในไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและแบบตักแบ่งขาย ชนิดต่างๆ (ครั้งที่ 2).....	32
11	ประเภทและชนิดไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1.....	38
12	ประเภทและชนิดไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 2.....	38
13	ประเภท ชนิดและชื่อไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2.....	40

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	อัตราการตรวจพบแบคทีเรียทั้งหมด *E.coli* , *Salmonella* , *Shigella* , *V. cholerae* และ *S. aureus* ในตัวอย่างไอศกรีม.....	35
2	ความถี่ของระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียในไอศกรีม.....	36
3	จำนวนร้อยละของตัวอย่างไอศกรีมที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544).....	37
4	ตัวอย่างฉลากไอศกรีมชนิดต่างๆที่นำมาทำการตรวจสอบ.....	65

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1
บทนำ

อาหารเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งในหลายๆปัจจัยที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ อาหารที่ดีย่อมมีประโยชน์ทำให้ร่างกายเจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรง ส่วนอาหารที่ไม่ดีนอกจากจะทำให้สุขภาพร่างกายทรุดโทรมแล้ว ยังเป็นการสิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็น (บัญญัติ, 2534) ไอศกรีมเป็นของหวานประเภทแช่แข็งที่มีรสชาติชวนรับประทาน ประกอบด้วยคุณค่าทางอาหารที่สมบูรณ์ เป็นที่ชื่นชอบของชนทุกชนชั้นเหมาะกับทุกเพศทุกวัย (ศศิธร และมนตรี, 2541) เป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันทั่วไปโดยเฉพาะในขณะที่มีอากาศร้อน (นวลตา และน้อย, 2531) จังหวัดชลบุรีเป็นจังหวัดหนึ่งที่มีจำนวนประชากรสูงในประเทศไทย เนื่องจากเป็นจังหวัดที่มีสถานประกอบการทางอุตสาหกรรมมากมาย มีสถานศึกษาหลายแห่ง ประกอบกับมีสถานที่ท่องเที่ยวอีกหลายสถานที่ที่มักมีนักท่องเที่ยวจำนวนมากเดินทางมาท่องเที่ยว จากสภาพภูมิอากาศของจังหวัดชลบุรีที่มีอากาศค่อนข้างร้อนเกือบตลอดทั้งปีทำให้ประชาชนทั่วไปในจังหวัดชลบุรีนิยมบริโภคไอศกรีมกันมาก เนื่องจากมีการวางจำหน่ายและหาซื้อได้ทั่วไปหลากหลายชนิด มีรสชาติที่อร่อยและรูปแบบสีสันที่หลากหลาย สะดุดตาและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีทั้งแบบตักแบ่งขายและแบบบรรจุในภาชนะปิดสนิท เช่น ซองบรรจุชนิดต่างๆ , ถ้วยพลาสติก เป็นต้น นอกจากนั้นกรรมวิธีการผลิตที่ไม่สลับซับซ้อนนัก จึงมีการผลิตไอศกรีมกันอย่างกว้างขวางตั้งแต่ระดับอุตสาหกรรมในครอบครัวไปจนถึงอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ (ดวงดาว และคณะ, 2536) โดยปัจจุบันไอศกรีมได้รับการพัฒนาดัดแปลง เช่น รสชาติ ส่วนผสมทั้งในตัวสินค้าเอง ตลอดจนบรรจุภัณฑ์ที่ให้ความแปลกใหม่เป็นที่ดึงดูดใจลูกค้า ประกอบกับมีโรงงานทันสมัยในการผลิตไอศกรีม ทำให้เป็นที่ชื่นชอบและนิยมบริโภคกันมากขึ้น สามารถขยายขอบเขตการค้าได้ครอบคลุมและทั่วถึง ส่งผลให้ตลาดไอศกรีมมีศักยภาพในการเติบโตสูงขึ้นมาก (ศศิธร และมนตรี, 2541)

ในขณะที่ไอศกรีมเป็นอาหารที่มีประโยชน์ในการบริโภคของมนุษย์ แต่ก็เป็นอาหารที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยเนื่องจากมีส่วนประกอบหลายอย่าง เช่น นมระเหยน้ำ นมข้น นมผง สี สารแต่งกลิ่นรส ผลไม้ ถั่ว ไข่และสารคงตัวซึ่งจุลินทรีย์สามารถใช้เป็นอาหารได้ ทำให้ไอศกรีมเกิดการเน่าเสีย (สุมาลี, 2539) ไอศกรีมจึงเป็นอาหารที่เสียง่ายหรือทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคได้ง่าย ถ้ามีจุลินทรีย์ปะปนในไอศกรีมความเย็นจัดไม่สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อโรคตายได้ แต่เพียงจะทำให้มันชะงักการเจริญเติบโตไปชั่วขณะเท่านั้น โรคที่มักเกี่ยวข้องกับไอศกรีม คือ โรคทางเดินอาหารอันเกิดจากเชื้อ *Escherichia coli* และหรือเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งทำให้เกิดอาการท้องเดิน ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน (กุลวดี, 2539) นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อาจเป็นสาเหตุทำให้ผู้บริโภคเสียชีวิตได้ แต่ปริมาณของจุลินทรีย์นี้จะมากน้อยแตกต่างกันขึ้นกับกระบวนการผลิตนับตั้งแต่วัตถุดิบ ที่ใช้ในการผลิต ผู้ผลิต อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต การล้างทำความสะอาดภาชนะ และสถานที่ผลิต การตรวจปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *E. coli* , *S. aureus* , *Salmonella* sp. สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ได้ว่าการผลิตและการเก็บผลิตภัณฑ์ของผู้ผลิตถูกสุขลักษณะเพียงพอหรือไม่ (เนาวรัตน์ และคณะ, 2543)

จากที่กล่าวมาการเฝ้าระวังคุณภาพของไอศกรีมให้ได้คุณภาพตรงตามมาตรฐานและมีความปลอดภัยจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นโดยได้ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา เพื่อใช้เป็นแนวทางในการแนะนำ ปรับปรุง แก้ไขกรรมวิธีการผลิตอันจะเป็นการยกระดับอุตสาหกรรมการผลิตอาหารประเภทนี้ให้ดีขึ้น นับว่าจะได้ประโยชน์ทั้งต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค (เนาวรัตน์ และคณะ, 2543) รวมทั้งเพื่อให้เกิดความเป็นธรรมต่อผู้ซื้อและผู้ขาย โดยทำการสำรวจคุณภาพของไอศกรีมทั้งแบบตักแบ่งขายและบรรจุภาชนะปิดสนิทชนิดต่างๆที่ประชาชนในจังหวัดชลบุรีนิยมบริโภคว่ามีคุณภาพด้านจุลินทรีย์เป็นอย่างไร โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544) ซึ่งกำหนด มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของไอศกรีมไว้ให้มีจำนวนแบคทีเรียได้ไม่เกิน 6×10^5 ในไอศกรีม 1 กรัม ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *E. coli* ในไอศกรีม 0.01 กรัม และไม่พบแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ความมุ่งหมายของการศึกษา

เพื่อศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมที่จำหน่ายแบบตักแบ่งขาย และไอศกรีมที่จำหน่ายแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทในบริเวณอำเภอเมืองและอำเภอ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี

ความสำคัญของการศึกษา

1. เพื่อทราบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมที่วางจำหน่ายในบริเวณที่เก็บตัวอย่าง
2. เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในด้านการเฝ้าระวังโรคที่เกี่ยวกับทางเดินอาหารที่มีสาเหตุจากไอศกรีม
3. เพื่อนำข้อมูลที่ได้เป็นแนวทางปรับปรุงแก้ไขคุณภาพของไอศกรีมต่อไป

สมมติฐานของการศึกษา

ไอศกรีมแบบตักแบ่งขายน่าจะพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มากกว่าไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและไอศกรีมที่มีส่วนผสมของนมหรือกะทิน่าจะพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มากกว่าไอศกรีมชนิดอื่น

ขอบเขตการศึกษา

เป็นการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมแบบตักแบ่งขายชนิดต่างๆและไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท ได้แก่ ซองบรรจุชนิดต่างๆ ถ้วยพลาสติก ที่จำหน่ายในบริเวณอำเภอเมืองและอำเภอ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยตัวอย่างไอศกรีมที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 20 ตัวอย่าง 13 เครื่องหมายการค้า ทำการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ระหว่างเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2544 และตัดสินคุณภาพโดยใช้โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้าจำแนกได้ดังนี้

1. รายละเอียดเกี่ยวกับไอศกรีม
2. รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อที่นำมาศึกษา
3. รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. รายละเอียดเกี่ยวกับไอศกรีม

ไอศกรีม คือ ผลิตภัณฑ์นมแช่แข็ง ประกอบด้วยคือ ผลิตภัณฑ์จากนม น้ำตาลกลูโคส น้ำเชื่อมจากแป้งข้าวโพด น้ำและสารปรุงแต่งกลิ่นรส อาจมีการเติมไข่และสารทำให้คงรูปด้วยก็ได้ ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์ประเภทไอศกรีมจัดเป็นอาหารหวานแช่แข็ง ซึ่งได้แก่ frozen custard, ice milk และ fruit sherbet (วรรณา และวิบูลย์ศักดิ์, 2531)

จัดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะตามพระราชบัญญัติอาหารปีพ.ศ. 2522 ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ซึ่งในพระราชบัญญัติฉบับดังกล่าวแบ่งไอศกรีมเป็น 5 ชนิด ดังนี้

1. ไอศกรีมนม คือ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม
2. ไอศกรีมดัดแปลง คือ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ไขมันชนิดอื่นแทนมันเนยทั้งหมดหรือแต่บางส่วนหรืออาจทำจากวัตถุอื่นที่ตามธรรมชาติมีไขมันอยู่แต่ไม่ใช่นม เช่น ไอศกรีมกะทิ
3. ไอศกรีมผสม คือ ไอศกรีมนมหรือไอศกรีมดัดแปลงที่มีการเติมน้ำผลไม้ เนื้อผลไม้ ถั่ว ช็อกโกแลตและส่วนผสมอื่นๆ
4. ไอศกรีมหวานเย็น คือ ไอศกรีมที่ไม่มีส่วนผสมของนม ซึ่งทำจากน้ำ น้ำตาลแล้วเติมสี กลิ่น รส หรือน้ำผลไม้
5. ไอศกรีมชนิดผงหรือเหลว คือ ส่วนผสมของสิ่งที่ต้องใช้ในการทำไอศกรีมชนิดต่างๆ ที่กล่าวมา โดยจำหน่ายในรูปของผงซึ่งต้องนำมาเติมน้ำตามสัดส่วนที่กำหนดแล้วนำไปปั่นทำให้แข็งหรือแช่เย็นให้แข็งก่อนนำไปบริโภค หรืออาจจำหน่ายในรูปของเหลวซึ่งนำไปปั่นหรือแช่แข็งได้เลย ไอศกรีมชนิดนี้อาจเรียกว่า เป็นกึ่งสำเร็จรูป

ส่วนผสมในไอศกรีม ส่วนประกอบในไอศกรีม มีดังต่อไปนี้

1. ไขมัน

เป็นส่วนประกอบสำคัญในไอศกรีมแทบทุกชนิด ยกเว้นชนิดหวานเย็น ปริมาณไขมันที่ระบุในไอศกรีมมีตั้งแต่ร้อยละ 2.0-8.9 มีทั้งที่มาจากพืชและนม ไขมันเนยหรือไขมันจากนม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โดยไขมันเนยหรือไขมันจากนมนิยมเติมในไอศกรีมนม ส่วนไขมันพืชใช้เติมลงในไอศกรีมดัดแปลง ชนิดที่นิยม ได้แก่ น้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์ม

2. นมผงขาดมันเนย

เป็นส่วนประกอบที่นิยมใช้เติมแทนนมสดเพราะการผลิตนมสดในบ้านเรายังไม่เพียงพอ นมผงขาดมันเนยมีราคาถูกกว่าและยังเป็นแหล่งของโปรตีน แคลเซียมและฟอสฟอรัส ผลพลอยได้อีกอย่างหนึ่ง คือ มีน้ำตาลแล็กโทสที่ปนอยู่และยังช่วยให้ฟองอากาศในเนื้อไอศกรีมมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอและมีลักษณะเนียนน่ารับประทาน ปกติในไอศกรีมมีนมผงขาดมันเนยร้อยละ 4.5-6.8 ส่วนในไอศกรีมประเภทหวานเย็นจะไม่มีการเติมส่วนผสมนี้

3. น้ำตาล

เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของไอศกรีม เพราะให้รสหวานอันเป็นที่ปรารถนาของผู้บริโภค โดยทั่วไปไอศกรีมมีการเติมน้ำตาลทรายในปริมาณร้อยละ 8.5-12.6 ซึ่งถ้ารวมกับน้ำตาลตามธรรมชาติในนมผงขาดมันเนยด้วยก็ทำให้ปริมาณน้ำตาลสูงถึงร้อยละ 11-16 ส่วนในกรณีของไอศกรีมหวานเย็นมักเติมน้ำตาลถึงร้อยละ 20-22 ในไอศกรีมนมหรือดัดแปลงบางยี่ห้อก็ยังมีการเติมน้ำเชื่อมกลูโคสหรือน้ำผึ้งเพิ่มเติมด้วยซึ่งถือว่าเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานเช่นเดียวกับน้ำตาลทราย

4. อื่นๆ

ในไอศกรีมแต่ละชนิดแต่ละรสชาติก็แตกต่างหลากหลายออกไป เช่น ในกรณีไอศกรีมนมและดัดแปลงต้องเติมสาร emulsifier ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้น้ำและไขมันรวมตัวกันดีจนมีลักษณะเนียน นิยมใช้สารพวกโมโนและไดกลีเซอไรด์ บางครั้งก็เติมโปรตีนหรือคาร์โบไฮเดรตบางชนิดเพื่อใช้อุ้มน้ำไว้ เช่น gelatin คาราจีแนน แป้งข้าวโพด เป็นต้น ในไอศกรีมทุกชนิดมีการเติมสารให้สี กลิ่น รส โดยเฉพาะไอศกรีมหวานเย็นนิยมผลิตเป็นรสชาติผลไม้ที่เปรี้ยว เช่น ส้ม องุ่น สตรอเบอรี่ จึงมีการเติม กรดมะนาว (Citric acid) หรือกรดมะขาม (Tartaric acid) ด้วย สิ่งอื่นๆ เช่น เนื้อผลไม้ น้ำผลไม้ เศษขนมปังกรอบ ช็อกโกแลต เกล็ดถั่ว ใช้เติมเพื่อให้ความหลากหลายและเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ (วิสิฐ และสิติมา, 2537) โดยความสำคัญและข้อจำกัดขององค์ประกอบของไอศกรีมแสดงดังตารางที่ 1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 ความสำคัญและข้อจำกัดขององค์ประกอบไอศกรีม

องค์ประกอบ	ความสำคัญ	ข้อจำกัด
1. ไขมัน (Milk fat)	เพิ่มรสชาติความมัน ทำให้ไอศกรีมมีเนื้อนุ่มและสร้าง body ให้ไอศกรีม	ราคาแพง แคลอรีสูง ปริมาณไขมันสูงเป็นข้อจำกัดการบริโภคไอศกรีม นอกจากนี้ไขมันมีผลต่อต้านการตีขึ้นฟูเล็กน้อย
2. ธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยหรือนมผงขาดมันเนย (MSNF)	ปรับปรุงคุณภาพด้านเนื้อไอศกรีม สร้าง body และทำให้อัตราการตีขึ้นฟูสูงโดยไม่ทำให้เกิดเป็นเกล็ดน้ำแข็ง ราคาค่อนข้างสูง	มีผลทำให้เกิดลักษณะเนื้อทรายในไอศกรีม กลิ่นของนมข้นอาจไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค อาจทำให้เกิดรสชาติเค็มและมีกลิ่น"cooked flavor"
3. น้ำตาล	เป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกที่สุด ช่วยปรับปรุงคุณภาพด้านเนื้อไอศกรีม ตลอดจนช่วยเพิ่มรส	หากใช้ปริมาณมากไอศกรีมจะหวานจัดเกินไป และลดอัตราการตีขึ้นฟู ทำให้ใช้เวลาในการปั่นไอศกรีมนาน ตลอดจนต้องใช้อุณหภูมิต่ำๆ ในขั้นตอน "hardening"
4. Stabilizer	มีบทบาทต่อความเนียนของไอศกรีม ช่วยสร้าง body ให้แก่ไอศกรีม	หากใช้ในปริมาณมากเนื้อไอศกรีมจะแน่นและละลายได้ยากเวลารับประทาน
5. เนื้อไข่แดง	ช่วยในการตีขึ้นฟู ไอศกรีมมีเนื้อเนียน สร้างกลิ่น-รส	หากใช้มากเกินไปทำให้เกิดโฟมหรือฟองขณะไอศกรีมละลาย กลิ่น-รสของไข่อาจไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคและยังมีราคาแพง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 (ต่อ)

องค์ประกอบ	ความสำคัญ	ข้อจำกัด
6. ของแข็งทั้งหมด (total solid)	ช่วยทำให้ไอศกรีมมีเนื้อเนียน มี body ที่ดี ให้คุณค่าอาหาร เวลารับประทานช่วยทำให้รู้สึกว่าไม่เย็นจัดเกินไป	ไอศกรีมมีเนื้อเหนียว หากส่วนผสมมีปริมาณของแข็งสูง
7. สารปรุงแต่งกลิ่น-รส (flavor)	สร้างความนิยมในกลุ่มผู้บริโภค	ไอศกรีมมีกลิ่นฉุนหากเติมสารปรุงแต่งมากเกินไป ผู้บริโภคมักไม่นิยมรับประทานไอศกรีมกลิ่นฉุน
8. สี	ช่วยดึงดูดความสนใจต่อผลิตภัณฑ์สีช่วยบอกให้ทราบว่าไอศกรีมมีกลิ่นอะไร เช่น สีส้มสำหรับไอศกรีมรสส้ม	ไอศกรีมมักมีสีที่สร้างความน่ารับประทาน สีเข้มเกินไปไม่เป็นที่นิยมนัก

(ที่มา: วรรณาและวิบูลย์ศักดิ์, 2531)

กรรมวิธีการผลิตไอศกรีม

การผลิตไอศกรีมประกอบด้วยขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมส่วนผสมของไอศกรีม

การเตรียมส่วนผสมได้แก่ การลำเลียงวัตถุดิบจากโกดัง การชั่งหรือตวง การผสมส่วนผสมต่างๆ เข้าด้วยกัน พาสเจอไรเซชัน โฮโมจีไนเซชัน การทำให้ส่วนผสมเย็นลงและการเก็บไว้ในที่เย็นรอการปั่นและการแช่แข็ง

2. การลำดับประเภทวัตถุดิบก่อนการผสม

วัตถุดิบที่เป็นของเหลว เช่น ครีม นม นมข้น น้ำเชื่อมและอื่นๆจะผสมในถัง โดยทำให้ส่วนผสมร้อนพร้อมกับคนไปเรื่อยๆ วัตถุดิบแห้ง เช่น นมผงขาดมันเนย ไข่ผง โกโก้ น้ำตาลและ stabilizer จะเติมลงในส่วนที่เป็นของเหลวก่อนที่อุณหภูมิจะถึง 120 องศาฟาเรนไฮต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. พาสเจอไรเซชัน

การพาสเจอไรเซชันส่วนผสมไอศกรีมเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคโดยสภาวะที่ใช้แตกต่างกัน ดังนี้

ก. Batch method 155 องศาฟาเรนไฮต์ นานไม่น้อยกว่า 30 วินาที

ข. Continuous method (HTST) 175 องศาฟาเรนไฮต์ นานไม่น้อยกว่า 25 วินาที

ค. UHT 210-265 องศาฟาเรนไฮต์ นาน 40 วินาที

4. โฮโมจีไนเซชัน

การโฮโมจีไนเซชันส่วนผสมไอศกรีมนอกจากทำให้เม็ดไขมันมีขนาด 1-2 ไมครอน ซึ่งป้องกันการแยกชั้นของครีมแล้ว ยังช่วยทำให้ไอศกรีมมีเนื้อนุ่มและทำให้การปั่นส่วนผสมเป็นไปได้ง่าย รวดเร็ว ใช้เวลาบ่มส่วนผสมไม่นานนัก นอกจากนี้ยังสามารถลดปริมาณ stabilizer ที่ใช้ให้น้อยลง อุณหภูมิของส่วนผสมขณะโฮโมจีไนเซชันประมาณ 145-170 องศาฟาเรนไฮต์ ความดันที่ใช้ขึ้นอยู่กับความหนืด ลักษณะของส่วนผสม ความคงตัวของส่วนผสม ตลอดจนอุณหภูมิโดยทั่วไปจะใช้ความดันประมาณ 2 ,000-2 ,500 ปอนด์/ตร.นิ้ว

5. การบ่มส่วนผสมไอศกรีม

ส่วนผสมที่โฮโมจีไนซ์แล้วจะทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 32-40 องศาฟาเรนไฮต์ แล้วนำไปบ่มด้วยการเก็บส่วนผสมในห้องที่มีอุณหภูมิเย็น 36-40 องศาฟาเรนไฮต์ ซึ่งระหว่างการบ่มมีการเปลี่ยนแปลงในส่วนผสมดังนี้

. เม็ดไขมันในส่วนผสมจะกลายเป็นไขมันแข็ง

. เจลาตินที่ใช้เป็น stabilizer จะอมน้ำและพองตัว

. ความหนืดของส่วนผสมสูงขึ้น

จุดประสงค์ของการบ่มส่วนผสมก็เพื่อทำให้เนื้อไอศกรีมมีความนุ่ม ไม่เหลวตัวง่าย และทำให้การตีปั่นง่ายขึ้น เวลาที่ใช้ในการบ่มประมาณ 24 ชั่วโมง

6. การปั่นไอศกรีม

แบ่งออกเป็นสองขั้นตอน คือ

. นำส่วนผสมบรรจุลงในเครื่องปั่น มีการอัดอากาศและคนส่วนผสมจนกระทั่งกลายเป็นของแข็งหรือเยือกแข็ง ซึ่งประกอบด้วยผลึกน้ำแข็งขนาดเล็ก

. เมื่อส่วนผสมกลายเป็นของแข็งหรือมีความเหนียวแล้ว จะบรรจุในภาชนะก่อนนำไปแช่แข็งในห้องเย็นเพื่อทำให้เนื้อไอศกรีมทั้งหมดแข็งตัว

7. การแช่แข็ง

ไอศกรีมที่ได้จากเครื่องปั่นมีลักษณะค่อนข้างเหลว ไม่มีรูปร่างที่แน่นอนจำเป็นต้องนำมา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แช่แข็งจนมีอุณหภูมิถึง 0 องศาฟาเรนไฮต์หรือต่ำกว่า (ส่วนมากจะทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ -15 องศาฟาเรนไฮต์) ในเวลาสั้นที่สุดเพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ เวลาที่ใช้แช่แข็งแตกต่างกันไป โดยทั่วไปจะใช้เวลาที่ทำให้จุดกึ่งกลางของไอศกรีมในภาชนะเย็นลงถึงอุณหภูมิ 0 องศาฟาเรนไฮต์ โดยปัจจัยที่มีผลต่อเวลาของการแช่แข็ง ได้แก่ ขนาดและรูปร่างของภาชนะบรรจุ การหมุนเวียนของอากาศ อุณหภูมิของลม ตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ในห้องแช่แข็ง อุณหภูมิของไอศกรีมขณะออกจากเครื่องปั่น องค์ประกอบของไอศกรีม เป็นต้น

8. การเก็บไอศกรีม

ไอศกรีมหลังจากผ่านการแช่แข็งอาจจำหน่ายได้ทันที หรืออาจเก็บไว้ประมาณ 1-2 สัปดาห์ บางครั้งสามารถใช้ห้องแช่แข็งเป็นห้องเก็บไอศกรีมได้เลย ส่วนมากโรงงานมักสร้างห้องเก็บไอศกรีมแยกต่างหาก ซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่าห้องแช่แข็ง ที่สำคัญคือ อุณหภูมิของห้องเก็บต้องคงที่ในช่วง -10-0 องศาฟาเรนไฮต์ และภาชนะควรวางเรียงติดๆกัน

2. รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษา

2.1 *E. coli*

แบคทีเรียชนิดนี้มีเซลล์รูปท่อนตรงขนาด 1.1-1.5 x2.0-6.0 ไมโครเมตร เรียงตัวเดี่ยวๆ หรือเป็นคู่ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์หรือไม่เคลื่อนที่ สามารถใช้อะซิเตดเป็นแหล่งคาร์บอนแต่ไม่ใช้ซิเตรต การหมักกลูโคสและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆให้ไพรูเวตซึ่งเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดแลกติกและกรดฟอร์มิก กรดฟอร์มิกเปลี่ยนต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนโดยระบบเอนไซม์ไฮโดรเจนไลเอส ส่วนใหญ่สามารถหมักน้ำตาลแลคโทส คาตาเลสให้ผลบวก ออกซิเดสให้ผลลบ (วิลาวัลย์, 2539) เป็นเชื้อที่มีอยู่ประจำในลำไส้ของคนและสัตว์ทั่วไป เจริญได้ดีที่ 37 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมคือ 7-7.5 เชื้อไม่ทนความร้อนและจะถูกทำลายด้วยความร้อนที่ใช้ในการพาสเจอไรซ์ (สุมาลี, 2539) คุณสมบัติที่เด่นคือ การหมักแลคโทสเร็ว หมักกลูโคสให้กรดและก๊าซ และต่อปฏิกิริยา IMVIC ได้ผล ++-- บนEosin methylene blue agar จะให้โคโลนีสีเข้มแดงดำและมี Metalic sheen เป็น Coliform แบคทีเรียที่มีความสำคัญที่สุดทั้งในแง่ของการก่อโรคและสัญลักษณ์แห่งความสกปรกที่ปนเปื้อนด้วยอุจจาระ

การจำแนก *E.coli* ตามกลไกของการก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคมี 3 พวก คือ

1. พวก Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) มักทำให้เกิดท้องเดินในทารกและเด็กเล็ก

2. พวก Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) เป็นพวกที่ทำให้เกิดท้องเดินได้โดยรุกล้ำกระจายเข้าสู่เยื่อผนังลำไส้ทำให้เกิดโรคลักษณะคล้ายโรคบิด

3. พวก Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็นพวกที่ให้ exotoxin ที่เป็น enterotoxin ออกมาและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดท้องเดินในเด็กและผู้ใหญ่ได้ (ภาควิชาจุลชีววิทยา ม.มหิดล, 2531)

วิธีการตรวจหา *E. coli* ในอาหาร

การตรวจหา *E. coli* ในอาหารทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมในปัจจุบันอาศัยหลักการตรวจสอบสมบัติสำคัญของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ซึ่งได้แก่ การเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน หมักแลคโทสได้กรดและก๊าซภายใน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงทำการทดสอบทางชีวเคมีที่จำเพาะต่อไป

การหาปริมาณ *E. coli* แบ่งขั้นของการทดสอบเป็น 3 ขั้น ดังนี้

1. การทดสอบขั้นต้น (presumptive test) เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติในการหมักแลคโทสได้กรดและก๊าซของ *E. coli* โดยเพาะเลี้ยงตัวอย่างด้วยอาหารเหลวที่มีแลคโทสเป็นส่วนประกอบ เช่น lauryl sulphate tryptose broth หรือ lactose broth ที่มีหลอดดักก๊าซซึ่งเป็นหลอดแก้วขนาดเล็กคว่ำอยู่ หลอดที่ขุ่นและเกิดก๊าซภายในเวลา 24-48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อ่านผลเป็นหลอดผลบวก อย่างไรก็ตามขั้นตอนนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าจุลินทรีย์ที่พบเป็น *E. coli* ทั้งนี้เนื่องจากมีจุลินทรีย์อื่นที่ให้ผลการทดสอบเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงต้องทำการทดสอบขั้นยืนยันต่อไป

2. การทดสอบขั้นยืนยัน (confirmed test) ขั้นตอนนี้เป็นการทดสอบเพื่อยืนยันผลจากขั้นต้น โดยถ่ายตัวอย่างที่ให้ผลบวกในขั้นต้นลงในอาหารเหลว brilliant green lactose bile broth ซึ่งมีแลคโทสเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งมี brilliant green และ bile ที่ช่วยยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก สำหรับ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบนั้นจะเจริญได้และทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นและเกิดฟองก๊าซภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ซึ่งอ่านหลอดเป็นหลอดผลบวก สำหรับหลอดที่ไม่ให้ผลการทดสอบ ดังกล่าวให้ถือเป็นหลอดผลลบ

3. การทดสอบขั้นสมบรูณ์ (completed test) ขั้นตอนนี้เป็นการทดสอบยืนยัน *E. coli* โดยนำหลอด BGLB broth ที่ให้ผลบวกมาขีดแยกเชื้อบนอาหารแข็ง Eosin methylene blue agar (EMB) บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าพบโคโลนีมีลักษณะดังนี้ คือ แบน ขนาด 2-3 มิลลิเมตร ผิวไม่เยิ้ม มีจุดสีเข้ม ผิวโคโลนีมีสีเขียวเหลือบแสง ซึ่งเรียกลักษณะการเหลือบแสงเช่นนี้ว่าเงาโลหะ (metalic sheen) ซึ่งเป็นโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้นำมาทำการทดสอบต่อดังนี้

ก. ทดสอบสมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญของ *E. coli* ด้วยชุดการทดสอบที่เรียกว่า IMVIC ซึ่งเป็นคำย่อที่ได้จากอักษรตัวแรกของชื่อการทดสอบย่อย ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

I มาจาก Indole test หรือการทดสอบอินโดล

M มาจาก methyl red test หรือการทดสอบเอ็มอาร์

V มาจาก Voges-Proskauer test หรือการทดสอบวีพี

C มาจาก citrate utilization test หรือการทดสอบการใช้ซิเตรต

โดย *E. coli* จะให้ผลการทดสอบ IMVIC คือ ++-- เป็นส่วนใหญ่ (ศิริโฉม, 2543)

2.2 *Salmonella*

Salmonella เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ ต้องการออกซิเจนในการเติบโต ส่วนใหญ่หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดและก๊าซ ใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอนได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตประมาณ 37 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชในการเติบโต 4.1-9.0 A_w ต่ำสุดสำหรับการเติบโตประมาณ 0.93-0.95 ความสามารถในการทนความร้อนแตกต่างกันขึ้นกับชนิดสายพันธุ์และผลจากสิ่งแวดล้อมในการเติบโต ความร้อนที่ใช้ในการทำลาย *Salmonella* ในอาหารคือ 66 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 12 นาที (วิลาวัลย์, 2539) สมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella* ที่สำคัญและช่วยในการจำแนกเชื้อ ได้แก่ การผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่ง *Salmonella* ส่วนใหญ่ผลิตได้ดี การมีเอนไซม์ไลซีนดีคาร์บอกซิเลส อาร์จีนีนดีคาร์บอกซิเลส และ ออร์นิทีนดีคาร์บอกซิเลส แต่ไม่ผลิตยูริเอส (ศิริโฉม, 2543) เป็นสมาชิกของ *Enterobacteriaceae* ที่สำคัญก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์ได้ยกเว้นบางตัว เช่น *S. typhi* ทำให้เกิดโรคเฉพาะในคนเท่านั้น โรคที่เกิดขึ้นมี Enteric fever (typhoid, paratyphoid), ทางเดินอาหารอักเสบเฉียบพลัน, การติดเชื้อในกระแสโลหิตและการติดเชื้อเฉพาะที่ตามอวัยวะภายใน แหล่งที่มาของ *Salmonella* อาจมาจากมนุษย์หรือสัตว์โดยทางตรงหรือทางอ้อมก็ได้ เชื้ออาจมาจากผู้ป่วยหรือมาจากพาหะหรืออาจมาจากแมว สุนัข สุกร โค กระบือแต่ที่สำคัญ คือ มาจากสัตว์ปีกและไข่ของสัตว์เหล่านี้ โดยมักพบเชื้ออยู่ตามอุจจาระ ไข่ และเป็ดไก่ที่ถอนขนแล้ว โรค Salmonellosis เป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุดในบรรดาโรคติดเชื้อจากอาหารทั้งหมดที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มี *Salmonella* เข้าไปในร่างกาย อาการที่สำคัญคือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและท้องเสีย อาจปวดท้องหรือหนาวสั่น อุจจาระอาจเป็นน้ำ มีสีเขียว อ่อนเพลีย มีไข้ปานกลาง ง่วง อัตราการตายต่ำกว่าร้อยละ 1 ส่วนใหญ่จะมีอาการอยู่ 2-3วัน (ภาควิชาจุลชีววิทยา ม.มหิดล, 2531)

วิธีการตรวจหา *Salmonella* ในอาหาร

การตรวจสอบเพื่อหาว่าอาหารมี *Salmonella* ปนเปื้อนอยู่หรือไม่ประกอบด้วยขั้นตอนโดยทั่วไป ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1. การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวชนิดไม่คัดเลือก

ขั้นตอนนี้มีความจำเป็นสำหรับตัวอย่างอาหารแห้งหรืออาหารที่ผ่านกรรมวิธีแปรรูปโดยอาหารเหลวชนิดไม่คัดเลือกที่นิยมใช้ฟื้นเซลล์ *Salmonella* ได้แก่ lactose broth, trypticase soy broth และ buffered peptone water เป็นต้น อาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ไม่มีส่วนผสมที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ แต่ช่วยทำให้เซลล์ *Salmonella* ที่อ่อนแอหรือบาดเจ็บฟื้นตัวขึ้น

2. การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวชนิดคัดเลือก

ขั้นตอนนี้เป็นการถ่ายเชื้อจากอาหารเหลวชนิดไม่คัดเลือกหรือเพาะเชื้อโดยตรงจากตัวอย่างที่คาดว่ามีการปนเปื้อนของ *Salmonella* สูงลงในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบที่ช่วยเสริมการเจริญของ *Salmonella* และมีส่วนประกอบที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ตัวอย่างของอาหารเหลวชนิดคัดเลือก *Salmonella* ได้แก่ selenite cystine broth เป็นต้น

3. การเพาะแยกเชื้อบนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพาะแยก *Salmonella* มักมีส่วนประกอบของสี เกลือน้ำดีและสารประกอบบางชนิดที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น และมีส่วนประกอบที่ใช้แสดงสมบัติสำคัญของ *Salmonella* เช่น การผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ และการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นต้น ตัวอย่างของอาหารแข็งชนิดเหล่านี้ ได้แก่ MacConkey agar, Brilliant green agar, *Salmonella-Shigella* agar เป็นต้น เมื่อ *Salmonella* เจริญบนอาหารแข็งดังกล่าวจะให้โคโลนีลักษณะเฉพาะ (ตารางที่ 2) เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้มีระดับความแรงในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไม่เท่ากัน จึงควรเลือกใช้อาหารแข็งเหล่านี้อย่างน้อย 2 ชนิดที่มีระดับการยับยั้งต่างกันเพื่อทำให้โอกาสในการแยกเชื้อ *Salmonella* สูงขึ้น

ตารางที่ 2 ลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* บนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ระดับการยับยั้ง	ลักษณะโคโลนี
MacConkey agar	ต่ำ	ไม่มีสี ทึบแสงเล็กน้อย
Brilliant green agar	สูง	สีแดงหรือชมพู โปร่งแสงหรือทึบแสง มีวงสีแดงเข้มล้อมรอบ
Desoxycholate citrate agar	ปานกลาง	ไม่มีสี ทึบแสงเล็กน้อย นูน มีจุดสีดำหรือไม่มี
Xylose lysine Desoxycholate agar	ค่อนข้างต่ำ	สีแดง มีจุดสีดำหรือไม่มี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2 (ต่อ)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ระดับการยับยั้ง	ลักษณะโคโลนี
Bismuth sulphate agar	สูง	สีน้ำตาล ดำ หรือสีเขียวมีเงาโลหะหรือไม่มีรอบโคโลนีมีสีดำ
Salmonella-Shigella agar	สูง	ไม่มีสีหรือสีชมพูจาง มีจุดสีดำหรือไม่มี

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

4. การทดสอบสมบัติทางชีวเคมี

ขั้นเป็นการตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีที่สำคัญของโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *Salmonella* ที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดคัดเลือกเพื่อจำแนกเชื้อเบื้องต้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบในขั้นนี้ ได้แก่

Triple sugar iron agar สำหรับทดสอบการใช้น้ำตาลกลูโคส ซูโคสและแลคโทส และการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟต์

Lysine iron agar สำหรับทดสอบการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลสและไฮโดรเจนซัลไฟต์

Urea agar สำหรับทดสอบการผลิตยูริเอส

โดย *Salmonella* จะให้ผลการทดสอบ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นเพื่อจำแนก *Salmonella*

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ	การเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจริญของ *Salmonella*	การอ่านผล	การบันทึกผล
Triple sugar iron agar	- ส่วนเอียงมีสีแดง - ส่วนก้นมีสีเหลือง - วุ้นมีรอยแตก - มีสีดำ	- ไม่หมักแลคโทสและซูโคส - หมักกลูโคส - ผลิตก๊าซ -ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟต์	Alkaline (K) slant Acid (A) butt Gas + H_2S +

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ	การเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจริญของ *Salmonella*	การอ่านผล	การบันทึกผล
Lysine iron agar	- เปลี่ยนเป็นสีม่วง - มีสีดำ	- ผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส - ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์	LDC + H_2S +
Urea agar	- ไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง	- ไม่ผลิตยูริเอส	Urease -

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

ในกรณีที่การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นดังกล่าวแสดงผลของ *Salmonella* ควรทำการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อยืนยันโดยเลือกจากตารางที่ 4 นอกจากนั้นยังควรทดสอบทางเซอโรโลยีเพื่อดูการเกาะกลุ่มกับแอนติซีรัมจำเพาะต่อ *Salmonella* อีกด้วย

ตารางที่ 4 การทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมสำหรับจำแนก *Salmonella*

การทดสอบ	ผลการทดสอบของ *Salmonella*
การเจริญใน KCN broth	+
Indole	-
MR test	+
VP test	-
การใช้น้ำตาลแลคโทส	-
การใช้น้ำตาลกลูโคส	-

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.3 *Shigella*

Shigella เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคปซูล ต้องการออกซิเจนในการเติบโต เป็นพวกมีโซไฟล์ ไม่ใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน หมักกลูโคสและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ให้กรดแต่ไม่ให้ก๊าซ โดยทั่วไปสร้างเอนไซม์คาตาเลส ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโต 37 องศาเซลเซียส ทนเกลือ 5-6 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทนความร้อน (วิลาวัลย์, 2539) ไม่เจริญในอาหารที่มี KCN ไม่สามารถใช้ซิเตรตหรือมาโลเนท ไม่สร้าง H_2S (ภาควิชาจุลชีววิทยา ม.มหิดล, 2531)ให้ผลบวกกับการทดสอบเอ็มอาร์ ให้ผลลบกับการทดสอบวีพี ไม่ผลิตเอนไซม์ไลซีนหรือออร์นิทีนดีคาร์บอกซิเลส *Shigella* แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มย่อย (Subgroup) ได้แก่ Subgroup A (*S. dysenteriae*), Subgroup B (*S. flexneri*), Subgroup C (*S. boydii*), Subgroup D (*S. sonnei*) (ศิริโฉม, 2543) แบคทีเรียพวกนี้ทำให้เกิด Shigellosis หรือโรคบิด โดยมีระยะฟักตัว 1-7 วัน โดยปกติน้อยกว่า 4 วัน อาการที่เกิดขึ้นได้แก่ ปวดท้อง หนาวมีไข้ ปวดศีรษะ ท้องร่วง มักถ่าย มีมูกเลือดปน การติดต่อส่วนใหญ่ติดต่อทางน้ำ อาจติดต่อทางอาหารได้ (วิลาวัลย์, 2539)

วิธีการตรวจหา *Shigella* ในอาหาร

การตรวจสอบอาหารว่ามีการปนเปื้อนด้วย *Shigella* หรือไม่ ประกอบด้วยขั้นตอนโดยทั่วไปคล้ายกับการตรวจหา *Salmonella* คือ การเพาะตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดคัดเลือก ได้แก่ Gram negative broth หรือ selenite cystine broth จากนั้นจึงเพาะแยกเชื้อบนอาหารแข็ง เช่น MacConkey agar, Xylose lysine desoxycholate agar เป็นต้น เมื่อ *Shigella* เจริญบนอาหารแข็งเหล่านี้จะให้โคโลนีลักษณะเฉพาะ (ตารางที่ 5) โดยควรเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความแรงในการยับยั้งต่างกันเช่นเดียวกับการเพาะแยก *Salmonella* ถ้าอาหารตัวอย่างมีเซลล์ *Shigella* ที่อ่อนแอควรทำให้ฟื้นตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดไม่คัดเลือก เช่น Trypticase soy broth ก่อนเช่นเดียวกัน

สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ตรวจสอบสมบัติทางชีวเคมีของ *Shigella* เบื้องต้น ได้แก่ Triple sugar iron agar, Lysine iron agar และ Urea agar โดย *Shigella* ส่วนใหญ่จะให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 6

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 ลักษณะโคโลนีของ *Shigella* บนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะโคโลนี
MacConkey agar	ไม่มีสี (เนื่องจากไม่หมักแลคโทส) ไม่มีจุดสีดำ (เนื่องจากไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์)
Desoxycholate citrate agar	ไม่มีสี (เนื่องจากไม่หมักแลคโทส) ไม่มีจุดสีดำ (เนื่องจากไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์)
Xylose lysine Desoxycholate agar	สีแดง ไม่มีจุดสีดำตรงกลาง (เนื่องจากไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์)
Salmonella-Shigella agar	ไม่มีสี (เนื่องจากไม่หมักแลคโทส) ไม่มีจุดสีดำ (เนื่องจากไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์)

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

ตารางที่ 6 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นเพื่อจำแนก *Shigella*

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ	การเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจริญของ *Salmonella*	การอ่านผล	การบันทึกผล
Triple sugar iron agar	- ส่วนเอียงมีสีแดง - ส่วนก้นมีสีเหลือง - วุ้นไม่แตก - ไม่มีสีดำ	- ไม่หมักแลคโทสและซูโคส - หมักกลูโคส - ไม่ผลิดก๊าซ - ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์	Alkaline (K) slant Acid (A) butt Gas - H_2S -

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 (ต่อ)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ	การเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจริญของ *Salmonella*	การอ่านผล	การบันทึกผล
Lysine iron agar	- เปลี่ยนเป็นสีเหลือง - ไม่มีสีดำ	- ไม่ผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส - ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์	LDC - H_2S -
Urea agar	- ไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง	- ไม่ผลิตยูริเอส	Urease -

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

นอกจากนั้นยังอาจเลือกการทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมเพื่อจำแนกยืนยัน *Shigella* (ตารางที่7) รวมทั้งทดสอบการเกาะกลุ่มกับแอนติซีรัมจำเพาะสำหรับ *Shigella* ด้วย

ตารางที่ 7 การทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมสำหรับจำแนก *Shigella*

การทดสอบ	ผลของ *Shigella*
การเจริญใน KCN broth	-
การเจริญใน Malonate broth	-
เอ็มอาร์	+
วีพี	-
การใช้ซิเตรต	-
Indole	+/-
ออร์นิทีนดีคาร์บอกซิเลส	-
การผลิตกรดจากกลูโคส	+
การผลิตกรดจากแลคโทส	-
การผลิตกรดจากแมนนิทอล	+
การผลิตกรดจากซูโครส	-
การผลิตกรดจากแรฟฟีโนส	-

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.4 V. cholerae

V. cholerae เป็นสาเหตุของโรคอหิวาต์ (cholerae) อันเป็นโรคระบาดทางเดินอาหารที่รุนแรงที่สุด มักระบาดในเมืองที่มีผู้คนหนาแน่น แต่แหล่งน้ำกินน้ำใช้ขาดแคลนและการสุขาภิบาลไม่ดี (ภาคจุลชีววิทยา ม.มหิดล, 2531) *V. cholerae* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคเรียกว่า ซีโรไทป์โอวัน (serotype O1) สำหรับซีโรไทป์ที่มีสมบัติทางชีวเคมีเหมือนหรือคล้ายกับของซีโรไทป์โอวัน แต่เมื่อทดสอบกับแอนติซีรัมต่อแอนติเจนชนิดโอ กลุ่ม 1 ของ *V. cholerae* จะไม่เกิดการเกาะกลุ่ม จึงจัดเป็นซีโรไทป์นอน-โอวัน (serotype non-O1) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการรุนแรงน้อยกว่าพวกแรก ซีโรไทป์โอวันอาจแบ่งย่อยออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ Inba Ogawa และ Higojima ถิ่นที่อยู่ของ *V. cholerae* ได้แก่ น้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง ตะกอนดิน และสัตว์ทะเล โดยพบมากในเขตร้อนและเขตอบอุ่น นอกจากนั้น ยังพบ *Vibrio* ชนิดนี้ได้ในน้ำกร่อยและน้ำจืด อาหารที่มักเป็นสาเหตุการระบาดของเชื้อนี้ ได้แก่ อาหารทะเลสด หรือปรุงไม่สุก ผักสด รวมทั้งอาหารที่ผ่านกรรมวิธีแปรรูปที่มีการปนเปื้อนของเชื้อลงไปภายหลัง (ศิริโฉม, 2543)

วิธีการตรวจหา *V. cholerae* ในอาหาร

การตรวจสอบเพื่อหาว่าอาหารมี *V. cholerae* ปนเปื้อนอยู่หรือไม่อาศัยสมบัติสำคัญของเชื้อ ได้แก่ การทนต่อเกลือน้ำดี การชอบเจริญในสภาวะด่างและการทนเกลือ ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. การเพิ่มจำนวนในอาหารเหลว

อาหารเหลวที่ใช้เพิ่มจำนวน *V. cholerae* ได้แก่ Alkaline peptone water ที่มีพีเอชเป็นด่าง คือ 8.6 และมีเกลือเข้มข้น 0.5 % นอกจากนั้นยังอาจเพาะเชื้อด้วย Gelatin phosphate salt broth

2. การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารแข็งชนิดคัดเลือก

อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่นิยมใช้เพาะแยก *Vibrio* โดยทั่วไปได้แก่ Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้มีซูโคสเป็นส่วนผสมและมีบรอมไธมอลบลูเป็นอินดิเคเดอร์ของการเปลี่ยนค่าพีเอช เมื่อ *V. cholerae* เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะให้โคโลนีสีเหลืองเนื่องจากสามารถหมักซูโคสโดยมีลักษณะดังนี้ คือ ขนาด 2-3 มิลลิเมตร สีเหลืองกลม ผิวเรียบ แบนเล็กน้อย ตรงกลางทึบแสง ขอบโคโลนีใส

3. การทดสอบสมบัติทางชีวเคมีและทางเซอโรโลยี

โคโลนีที่ให้ลักษณะเฉพาะของ *V. cholerae* บน TCBS agar ควรนำมาทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้น ได้แก่ การผลิตออกซิเดส ซึ่งให้ผลบวกและเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron agar และ Lysine iron agar โดย *V. cholerae* จะให้ผลการทดสอบ ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นสำหรับ *V. cholerae*

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ	การเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเจริญของ *V. cholerae*	การอ่านผล	การบันทึกผล
Triple sugar iron agar	- ส่วนเอียงมีสีเหลือง - ส่วนก้นมีสีเหลือง - ไม่มีรอยแตก - ไม่มีสีดำ	- หมักซูโคส - หมักกลูโคส - ไม่ผลิตก๊าซ - ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์	Acid (A) slant Acid (A) butt Gas - H_2S -
Lysine iron agar	- เปลี่ยนเป็นสีม่วง - ไม่มีสีดำ	- ผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส - ไม่ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์	LDC + H_2S -

(ที่มา: ศิริโฉม, 2543)

สำหรับการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อจำแนกเชื้อนั้นอาจทดสอบดูการยึดเหนียวเป็นสายของโคโลนีซึ่งเรียกว่า string test รวมทั้งทดสอบการเกาะกลุ่มกับแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อนี้ด้วย

2.5 ***S. aureus***

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเซลล์รูปกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ เป็นพวกแฟคัลเททีฟแอนแอโรบ เติบโตได้ดีและเร็วในสภาพมีออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตขึ้นกับชนิดของอาหาร โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโต 35-40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมในการเติบโต 7.0-7.5 โดยทั่วไปทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆได้ดี เช่น สามารถทนทานต่อความร้อนสูงถึง 60 องศาเซลเซียสได้เป็นเวลา 30 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น (4 องศาเซลเซียส) ได้เป็นเวลานานหลายเดือนทนต่อฟีนอลและเมอคิวริกคลอไรด์มากกว่าแบคทีเรียอื่นๆ มีชีวิตอยู่ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูง 6.5 % ได้ (ภาควิชาจุลชีววิทยา ม.มหิดล, 2531) *S. aureus* เจริญบนอาหารแข็งโคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง ส่วนใหญ่สามารถสลายเม็ดเลือดแดง สร้างเอนไซม์โคเอกูเลส บางสายพันธุ์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ทำให้อาหารเป็นพิษ *S. aureus* ผลิตสารพิษชนิดทนความร้อนได้เมื่อเจริญในอาหาร ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Staphylococcal food poisoning สารพิษที่เชื้อผลิตขึ้นมี 7 ชนิดได้แก่ A, B, C_1, C_2, C_3, D และE (ศิริโฉม, 2543) ชนิดที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิด A และ D อาหารเป็นพิษที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ซึ่งมีระยะฟักตัวสั้นกว่าอาหารเป็นพิษจากแบคทีเรียอื่นๆ คือ 2 หรือ 4 ชั่วโมง อาการที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ คือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องร่วง บางครั้งอาจพบมูกเลือดในอุจจาระ โดยอาการที่เกิดจากแบคทีเรียพวกนี้จะไม่รุนแรง (วิลาวัลย์, 2539) แหล่งที่มาของ *S. aureus* ได้แก่ มนุษย์และสัตว์ ที่พบมากคือ บริเวณช่องจมูกและผิวหนัง แผลติดเชื้อรวมทั้งเต้านมของวัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) และในผลิตภัณฑ์อาหารที่มักเป็นสาเหตุของการระบาดได้แก่ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ น้ำสลัด ผลิตภัณฑ์ขนมอบใส้ครีมและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น (ศิริโฉม, 2543)

วิธีการตรวจหา *S. aureus* ในอาหาร

การตรวจสอบเพื่อหาว่าอาหารมี *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่หรือไม่มักกระทำในกรณีอาหารผ่านการแปรรูปมาแล้ว ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนที่ทำให้เซลล์ที่อ่อนแอและมีจำนวนน้อยฟื้นตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดไม่คัดเลือก เช่น Trypticase soy broth ก่อนจากนั้นจึงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดคัดเลือกต่อไป ถ้าอาหารเป็นอาหารดิบที่ยังไม่ผ่านการแปรรูปและคาดว่ามี *S. aureus* ปริมาณน้อยแต่มีเชื้ออื่นอยู่ด้วยปริมาณมาก ควรเพิ่มจำนวน *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดคัดเลือก เช่น Trypticase soy broth ที่มี NaCl 7.5-10 % ก่อน จากนั้นจึงเพาะแยกเชื้อบนอาหารแข็งชนิดคัดเลือก เช่น Baird-Parker egg-yolk tellurite agar ที่ผสมไข่แดงเพื่อตรวจสอบการผลิตเลซิทิเนสของ *S. aureus* และมี potassium tellurite ซึ่ง *S. aureus* ทนได้ ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker egg-yolk tellurite agar มีขนาด 1.5 มิลลิเมตรหรือใหญ่กว่า ผิวเรียบ นูน ขอบเรียบ สีดำหรือสีเทาเข้ม (เนื่องจาก tellurite ถูกรีดิวซ์เป็น tellurium) มีวงขุ่นรอบโคโลนี (เนื่องจากกิจกรรมของเลซิทิเนส) และ/หรือ มีวงใสใด้วงขุ่น (เนื่องจากกิจกรรมของโปรติเอส)

เมื่อพบโคโลนีลักษณะเฉพาะดังกล่าว ควรนำไปทดสอบเพิ่มเติมเพื่อแยก *S. aureus* จาก Staphylococci ชนิดอื่น โดยทดสอบการผลิตโคแอกูเลส ซึ่งส่วนใหญ่ *S. aureus* ให้ผลบวกกับการทดสอบนี้

3. รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

ดวงดาว และคณะ (2536) รายงานถึงการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม 168 ตัวอย่างจากแหล่งผลิต 25 แหล่ง ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนนทบุรีและสิงห์บุรีนำส่งวิเคราะห์ ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปีตั้งแต่มกราคม 2531-ธันวาคม 2533 ผลปรากฏว่าไอศกรีม 28 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 16.7 จากแหล่งผลิต 11 แหล่งไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 33 (พ.ศ. 2522) เนื่องจากพบจำนวนจุลินทรีย์รวมและแบคทีเรียชนิด *E. coli* เกินเกณฑ์กำหนด นอกจากนั้นยังพบ *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ในแต่ละปี พบว่าไอศกรีมมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 19.4, 13.8, และ16.3 ตามลำดับ จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าไอศกรีมมีคุณภาพดีขึ้น

นวลตา และน้อย (2531) รายงานถึง ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 4 ขอนแก่นได้ทำการสำรวจคุณภาพด้านสุขลักษณะของไอศกรีม น้ำแข็ง และน้ำบริโภคตามร้านจำหน่ายอาหารในจังหวัดขอนแก่น ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2538-กันยายน 2530 จำนวนรวมทั้งหมด 688 ตัวอย่าง เป็นไอศกรีม 196 ตัวอย่าง น้ำแข็ง 173 ตัวอย่าง น้ำบริโภค 319 ตัวอย่าง ผลการสำรวจพบว่าไอศกรีมมีคุณภาพด้านสุขลักษณะไม่เข้ามาตรฐาน โดยตรวจพบ *E. coli* ร้อยละ 11.2 น้ำแข็ง และน้ำบริโภคมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานโดยตรวจพบ MPN Coliforms/100ml เกินมาตรฐานร้อยละ 97.7 และ 91.5 MPN Faecal Coliforms/100ml เกินมาตรฐานร้อยละ 82.1 และ 79.6 ตามลำดับ

ศศิธร และมนตรี (2541) รายงานถึง การเปรียบเทียบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมส่งออกจากโรงงาน 2 แห่งๆ ละ 73 ตัวอย่างในระหว่างเดือนมิถุนายน 2540 ถึงเดือนมีนาคม 2541 พบว่า จำนวนไอศกรีมจากโรงงานแรก 12.33 % โรงงานที่สอง 1.37 % ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขและมาตรฐาน APHA เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์ต่อกรัมสูงกว่าเกณฑ์กำหนดและตรวจพบการปนเปื้อนของ *E. coli* ที่เป็นดัชนีสุขาภิบาลอาหาร แต่ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ค่าเฉลี่ยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/g) ของโรงงานแรกและโรงงานที่สองมีค่าเท่ากับ 3.79 และ 2.59 ปริมาณ *E. coli* (MPN/g) เฉลี่ยเท่ากับ 1.50 และ 0.05 ตามลำดับซึ่งแสดงถึงคุณภาพทางจุลชีววิทยาของโรงงานทั้งสองที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.5$) นอกจากนั้นยังพบว่าไอศกรีมของโรงงานแรกมีระดับชั้นคุณภาพด้อยกว่าโรงงานที่สอง ข้อเสนอแนะจากการศึกษาในครั้งนี้ คือ โรงงานแรกควรเพิ่มมาตรการป้องกันและตรวจสอบสุขลักษณะการผลิต เพื่อหาสาเหตุและปรับปรุง แก้ไขคุณภาพสินค้าให้ได้มาตรฐานตามสากล

ธีระศักดิ์ (2542) รายงานถึง การศึกษาความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคสองชนิด คือ *S. aureus* และ *Salmonella* กับจุลินทรีย์บ่งชี้ชนิด *E. coli* ในอาหารประเภทต่างๆ 5 ชนิด คือ น้ำบริโภคในภาชนะปิดสนิท, น้ำแข็ง, ไอศกรีม, เครื่องดื่ม และซอส รวมทั้งสิ้น 5,707 ตัวอย่าง

พบว่าที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05 (ความเชื่อมั่น 95 %) ผลการตรวจพบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทั้งสองชนิดดังกล่าวไม่สัมพันธ์กับการตรวจพบจุลินทรีย์บ่งชี้ชนิด *E. coli* ในอาหารประเภทน้ำบริโภคในภาชนะปิดสนิท, น้ำแข็ง, ไอศกรีม, เครื่องดื่ม และซอส ยกเว้นเฉพาะการตรวจพบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคชนิด *S. aureus* มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบจุลินทรีย์บ่งชี้ชนิด *E. coli* ในอาหารประเภทน้ำแข็งและไอศกรีม

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. ตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส
2. ปิเปตปลอดเชื้อ
3. จานเพาะเชื้อ
4. หลอดทดลอง
5. ห่วงเขี่ยเชื้อ
6. ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. MacConkey agar (MAC)
3. Xylose lysine desoxycholate agar (XLD)
4. *Salmonella-Shigella* agar (SS)
5. Desoxycholate agar (DC)
6. Eosin methylene blue agar (EMB)
7. Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)
8. Baird-Parker egg-yolk tellurite agar
9. Triple sugar iron agar (TSI)
10. Lysine iron agar (LIA)
11. Urea agar
12. Simmon's citrate agar
13. Tryptone broth 1%
14. MR-VP broth
15. Fluorocult medium
16. Selenite cystine broth (SCB)
17. Gram negative broth (GN)
18. Alkaline peptone water (APW) + NaCl 0.5%
19. Trypticase soy broth (TSB) + NaCl 10%

0537
ป จ
ว145ท
2545

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารเคมี

1. Kovac's reagent
2. Methyl red reagent
3. Voges-Proskauer reagent
4. H_2O_2

แบคทีเรียอ้างอิง

แบคทีเรียอ้างอิง ได้แก่ *E. coli, Salmonella, Shigella, V. cholerae, S. aureus*

ตัวอย่าง

ตัวอย่างไอศกรีมแบ่งเป็น 3 ประเภท คือ ไอศกรีมบรรจุซองปิดสนิท 9 ตัวอย่าง ไอศกรีมบรรจุถ้วยพลาสติกปิดสนิท 4 ตัวอย่าง ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย 7 ตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่าง

1. ร้านค้าบริเวณหน้ามหาวิทยาลัยบูรพา
2. ร้านค้าบริเวณหน้าศูนย์แพทย์
3. ร้านค้าบริเวณตลาดหนองมน
4. ร้านค้าบริเวณหอพัก NA
5. ร้านค้าบริเวณโรงเรียนแสนสุขศึกษา
6. ห้างสรรพสินค้าแหลมทอง บางแสน
7. ห้างสรรพสินค้าโรบินสัน ศรีราชา

วิธีการทดลอง

1. การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมโดยใช้เกณฑ์ที่กำหนดตามประกาศกระทรวง สาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544)

ก. การเก็บตัวอย่างไอศกรีม

เก็บตัวอย่างไอศกรีมแต่ละตัวอย่างไม่น้อยกว่า 130 กรัมโดยเก็บตัวอย่างให้มีการปลอดเชื้อที่สุดหรือเก็บมาทั้งภาชนะบรรจุในสภาพแช่แข็ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ข. การตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โดยวิธี Pour plate technique

1. ชั่งตัวอย่างไอศกรีมที่ละลายแล้ว 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติมสารละลายเปบโตน 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างความเจือจาง 10^{-1}
2. ใช้ปิเปตถ่ายตัวอย่างจากข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดบรรจุสารละลายเปบโตน 9 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสม จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 10^{-2}
3. เจือจางตัวอย่างโดยวิธีเดียวกันกับข้อ 2 เป็นลำดับจนได้ตัวอย่างความเจือจางที่ต้องการ
4. นำตัวอย่างความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับมาทำพอร์เพลท
5. ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจาง ลงจานเพาะเชื้อปลอดเชื้อ 2 จาน จานละ 1 มิลลิลิตร
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA หลอมเหลวอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างจานละประมาณ 15 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันโดยการหมุนวนจานรอจนวุ้นแข็ง
7. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
8. นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ และคำนวนค่า CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง

ค. การตรวจหา *E.coli* แบบมาตรฐาน

1. ใช้ปิเปตตัวอย่างไอศกรีมที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดบรรจุ BGLB ปริมาตร 10 มิลลิลิตรที่มีหลอดดักก๊าซ
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ถ่ายเชื้อในหลอดที่ให้ผลบวกที่อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลอมเหลืองและเกิดที่ว่างในหลอดดักก๊าซมากกว่า 1/10 ของปริมาตรหลอด โดยขีดเชื้อลงบน EMB agar
4. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. เลือกโคโลนีที่ให้ลักษณะเฉพาะของ *E. coli* (โคโลนีแบน ขนาด 2-3 มิลลิเมตร ผิวไม่เย็บ มีจุดสีเข้ม ผิวโคโลนีมีสีเขียวเหลือบแสงแบบเงาโลหะ) นำไปทดสอบ IMViC
6. รายงานผลการพบ *E. coli* ในตัวอย่างไอศกรีม 0.01 กรัม

ง. การตรวจหา *E.coli* แบบ Fluorescence

1. ใช้ปิเปตตัวอย่างไอศกรีมที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Fluorocult ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ตรวจดูการเรืองแสง Fluorescence ด้วย UV ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร โดยผลบวกจะเกิดการเรืองแสงสีฟ้าขึ้นในหลอดที่มีการตรวจพบ *E. coli*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. รายงานผลการพบ *E. coli* ในตัวอย่างไอศกรีม 0.01 กรัม (หลอดที่ให้ผลบวก 2 หรือ 3 หลอดจากทั้งหมด 3 หลอดแสดงว่าพบ *E. coli*)

จ. การตรวจหา *Salmonella*

1. ชั่งตัวอย่างไอศกรีมที่ละลายแล้ว 25 กรัมใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม SCB 225 มิลลิลิตร
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ขีดแยกเชื้อบนอาหาร 3 ชนิด คือ MAC, XLD และ SS agar และขีดแยกเชื้อ *Salmonella* อ้างอิงลงบนอาหารอีกชนิดละ 1 จาน
4. ตรวจหาโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *Salmonella* จากตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับโคโลนีอ้างอิง
5. เลือกโคโลนีจากตัวอย่างและโคโลนีอ้างอิงมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยเพาะเชื้อลงบนอาหาร TSI, LIA และUrea agar
6. รายงานผลการพบ *Salmonella* ในตัวอย่างไอศกรีม

ฉ. การตรวจหา *Shigella*

1. ชั่งตัวอย่างไอศกรีมที่ละลายแล้ว 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม GN 225 มิลลิลิตร
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ขีดแยกเชื้อบนอาหาร 3 ชนิด คือ MAC, XLD และ DC agar และขีดแยกเชื้อ *Shigella* อ้างอิงลงบนอาหารอีกชนิดละ 1 จาน
4. ตรวจหาโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *Shigella* จากตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับโคโลนีอ้างอิง
5. เลือกโคโลนีจากตัวอย่างและโคโลนีอ้างอิงมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยเพาะเชื้อลงบนอาหาร TSI, LIA และUrea agar
6. รายงานผลการพบ *Shigella* ในตัวอย่างไอศกรีม

ช. การตรวจหา *V. cholerae*

1. ชั่งตัวอย่างไอศกรีม 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม APW ที่มี NaCl 0.5% 225 มิลลิลิตร
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
3. ขีดแยกเชื้อบนอาหาร 3 ชนิด คือ TCBS agar และขีดแยกเชื้อ *V. cholerae* อ้างอิงลงบนอาหารอีกชนิดละ I จาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. ตรวจหาโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *V. cholerae* จากตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับโคโลนีอ้างอิง
5. เลือกโคโลนีจากตัวอย่างและโคโลนีอ้างอิงมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยเพาะเชื้อลงบนอาหาร TSI และLIA agar และทดสอบการผลิตเอนไซม์ Oxidase
6. รายงานผลการพบ *V. cholerae* ในตัวอย่างไอศกรีม

ซ. การตรวจหา *Staphylococcus aureus*

1. ชั่งตัวอย่างไอศกรีม 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม TSB ที่มี NaCl 10% 225 มิลลิลิตร
2. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ขีดแยกเชื้อบนอาหาร Baird-Parker egg-yolk tellurite agar และขีดแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* อ้างอิงลงบนอาหารอีก 1 จาน
4. เลือกโคโลนีจากตัวอย่างและโคโลนีอ้างอิงมาทดสอบเอนไซม์ Coagulase
5. รายงานผลการพบ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างไอศกรีม

2. การตัดสินคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างไอศกรีม

โดยการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างไอศกรีมกับเกณฑ์มาตรฐานด้านสุขลักษณะของไอศกรีมตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ซึ่งกำหนดไว้ดังนี้

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดต่อกรัม	น้อยกว่า 6.0×10^5 โคโลนี
E. coli ใน 0.01 กรัม	ไม่พบ
แบคทีเรียก่อโรค	
Salmonella	ไม่พบ
Shigella	ไม่พบ
V. cholerae	ไม่พบ
S. aureus	ไม่พบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างไอศกรีม

จากการเก็บตัวอย่างไอศกรีมทั้งแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท ได้แก่ ถ้วยพลาสติก, ซองบรรจุปิดสนิทชนิดต่างๆและแบบตักแบ่งขายชนิดต่างๆจำนวน 20 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ที่จำหน่ายในบริเวณอำเภอเมืองและอำเภอ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี นำมาตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ การหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด การหา *E. coli* แบบมาตรฐานและแบบ Fluorescence รวมทั้งการหาแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *Salmonella, Shigella, V. cholerae* และ *S. aureus* ผลการศึกษาพบว่าในตัวอย่างไอศกรีม 20 ตัวอย่าง จากการตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ครั้งที่ 1 ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เกิน $6x10^5$ CFU/g 3 ตัวอย่าง มี 2 ตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* และมี 2 ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบจุลินทรีย์กลุ่มใด ส่วนในการตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ในครั้งที่ 2 ที่มีการเก็บตัวอย่างไอศกรีมชนิดเดียวกันในสถานที่เดียวกัน ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เกิน $6x10^5$ CFU/g 3 ตัวอย่าง ตรวจพบ *E. coli* 1 ตัวอย่าง มี 3 ตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* และมี 3 ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบจุลินทรีย์กลุ่มใดเลย รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 9 และ 10

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 9 ผลการหาจุลินทรีย์ในไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและแบบตักแบ่งขายชนิดต่างๆ (ครั้งที่ 1)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC	*E. coli*		แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ			
	แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	มาตรฐาน	Fluorescence	*Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
ก.ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท							
1. ไอศกรีมดัดแปลงผสมเผือก 10% มินิสติก (Cremo)	9.2×10^3	-	-	-	-	-	-
2. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ยักษ์คู่ (Wall)	2×10^2	-	-	-	-	-	-
3. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด ซันฟลาวเวอร์ (Nestle)	0	-	-	-	-	-	-
4. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ทรอปปิก (Cremo)	1.2×10^2	-	-	-	-	-	-
5. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิรสอูเบ้ (Cremo)	2.4×10^3	-	-	-	-	-	-
6. ไอศกรีมดัดแปลงกลิ่นวานิลลาเคลือบด้วย ช็อกโกแลตผสมถั่วลิสง (Nestle)	1.5×10^2	-	-	-	-	-	-
7. ไอศกรีมดัดแปลงกลิ่นวานิลลาผสม ช็อกโกแลตชิป แพดเดิลป๊อป (Wall)	9.0×10^2	-	-	-	-	-	-

บูรพาวิทยาลัย Burapha University

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC	*E. coli*		แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ			
	แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	มาตรฐาน	Fluorescence	*Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
8. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นส้ม ดัชชี่ป๊อปอาย (Dutchmill)	6.5×10^{1}	-	-	-	-	-	-
9. ไอศกรีมนมผสมโกโก้, กาแฟและอัลมอนด์ มอกก้า อัลมอนด์ฟัดจ์ เฟลเวอร์ไอศกรีม (Buds)	2.3×10^{3}	-	-	-	-	-	-
10. ไอศกรีมดัดแปลงรสช็อกโกแลต (Cartoon)	1.6×10^{4}	-	-	-	-	-	-
11. ไอศกรีมหวานเย็นรสถั่วดำ (Cartoon)	6.8×10^{4}	-	-	-	-	-	-
12. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด (McDonald)	0	-	-	-	-	-	-
13. ไอศกรีมนมผสมสติคกี้ ชูวี่ ช็อกโกแลต (Swensen's)	2.5×10^{2}	-	-	-	-	-	+
ข. ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย							
14. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (หน้าศูนย์แพทย์)	1.5×10^{6}	-	-	-	-	-	-
15. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (ตลาดหนองมน)	2.2×10^{6}	-	-	-	-	-	-

Burapha University มหาวิทยาลัยบูรพา

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC	*E. coli*		แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ			
	แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	มาตรฐาน	Fluorescence	*Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
16. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม)	1.4×10^6	-	-	-	-	-	+
17. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิสด (ร้านจัดจ้าน)	8.7×10^4	-	-	-	-	-	-
18. ไอศกรีมดัดแปลงรสช็อกโกแลต (United)	6.1×10^3	-	-	-	-	-	-
19. ไอศกรีมนม (KFC)	7.5×10^2	-	-	-	-	-	-
20 ไอศกรีมนม ซันเด (McDonald)	7.5×10^2	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

CFU/g = colony forming unit ต่อ กรัม

\- = ไม่พบ

\+ = พบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 10 ผลการหาจุลินทรีย์ในไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและแบบตักแบ่งขายชนิดต่างๆ (ครั้งที่ 2)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC	*E. coli*		แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ			
	แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	มาตรฐาน	Fluorescence	*Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
ก.ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท							
1. ไอศกรีมคัดแปลงผสมเผือก 10% มินิสติก (Cremo)	4.0×10^3	-	-	-	-	-	-
2. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ยักษ์คู่ (Wall)	0	-	-	-	-	-	-
3. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด ซันฟลาวเวอร์ (Nestle)	0	-	-	-	-	-	-
4. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ทรอปปิก (Cremo)	1.0×10	-	-	-	-	-	-
5. ไอศกรีมคัดแปลงกะทิรสอูเบ้ (Cremo)	3.7×10^3	-	-	-	-	-	-
6. ไอศกรีมคัดแปลงกลิ่นวานิลลาเคลือบด้วย ช็อกโกแลตผสมถั่วลิสง (Nestle)	9.0×10^1	-	-	-	-	-	-
7. ไอศกรีมคัดแปลงกลิ่นวานิลลาผสม ช็อกโกแลตชิป แพตเดิลป๊อป (Wall)	0	-	-	-	-	-	-

Burapha University มหาวิทยาลัยบูรพา

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC	*E. coli*		แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ			
	แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	มาตรฐาน	Fluorescence	*Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
8. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นส้ม ดัชชี่ป๊อปอาย (Dutchmill)	5.0×10^{2}	-	-	-	-	-	-
9. ไอศกรีมนมผสมโกโก้, กาแฟและอัลมอนด์ มอกก้า อัลมอนด์ฟัดจ์ เฟลเวอร์ไอศกรีม (Buds)	7.2×10^{3}	-	-	-	-	-	-
10. ไอศกรีมดัดแปลงรสช็อกโกแลต (Cartoon)	9.8×10^{3}	-	-	-	-	-	-
11. ไอศกรีมหวานเย็นรสถั่วดำ (Cartoon)	4.0×10^{4}	-	-	-	-	-	-
12. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด (McDonald)	2.0×10^{1}	-	-	-	-	-	-
13. ไอศกรีมนมผสมสติคกี้ ชูวี่ ช็อกโกแลต (Swensen's)	4.0×10^{1}	-	-	-	-	-	+
ข. ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย							
14. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (หน้าศูนย์แพทย์)	1.2×10^{6}	-	-	-	-	-	-
15. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (ตลาดหนองมน)	6.3×10^{5}	-	-	-	-	-	-

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	TPC แบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)	*E. coli* มาตรฐาน	*E. coli* Fluorescence	แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ *Salmonella*	*Shigella*	*V. cholerae*	*S. aureus*
14. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม)	1.4×10^6	-	-	-	-	-	+
15. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิสด (ร้านจัดจ้าน)	7.2×10^3	+	-	-	-	-	-
16. ไอศกรีมดัดแปลงรสช็อกโกแลต (United)	1.3×10^3	-	-	-	-	-	-
19. ไอศกรีมนม (KFC)	2.1×10^3	-	-	-	-	-	+
20. ไอศกรีมนม ซันเด (McDonald)	2.7×10^3	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

CFU/g = colony forming unit ต่อ กรัม

\- = ไม่พบ

\+ = พบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากตารางที่ 9 พบว่าตัวอย่างไอศกรีมมีการตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐาน คือ $6x10^5$ CFU/g 3 ตัวอย่างได้แก่ ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย(หน้าศูนย์แพทย์), ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย(ตลาดหนองมน) และไอศกรีมดัดแปลงกะทิ ส.มาลีไอศกรีม (หน้า ม.บูรพา) โดยจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีค่าระหว่าง $1.4 x10^6$- $2.2 x10^6$CFU/g สำหรับการตรวจหาแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ มีการตรวจพบ *S. aureus* ในตัวอย่างไอศกรีม 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมนมผสมสติคกี้ ชูวี่ ช๊อกโกแลต (Swensen's) และไอศกรีมกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม) แต่ไม่มีการตรวจพบแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ ซึ่งได้แก่ *Salmonella* , *Shigella* และ *V. cholerae* เลย

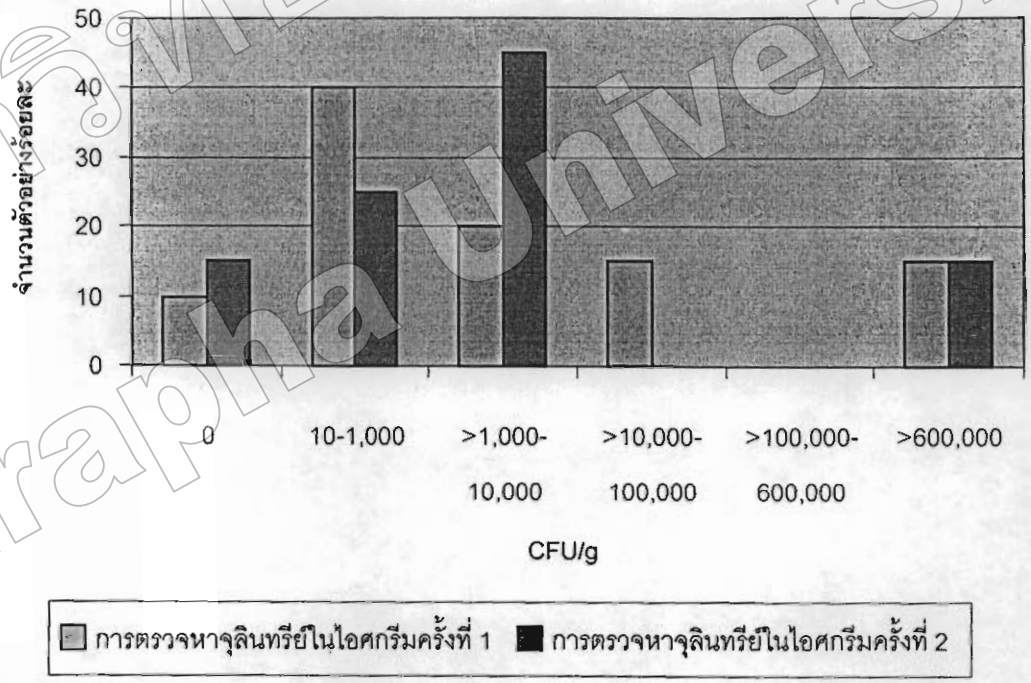
และจากตารางที่ 10 พบตัวอย่างไอศกรีมที่ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกิน $6x10^5$ CFU/g จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (หน้าศูนย์แพทย์), ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย (ตลาดหนองมน) และไอศกรีมดัดแปลงกะทิ ส.มาลีไอศกรีม (หน้าม.บูรพา) เช่นเดียวกันกับในครั้งแรก โดยมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีค่าระหว่าง $6.3x10^5$-$1.46x10^6$ CFU/g สำหรับ *E.coli* มีการตรวจพบจำนวน 1 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมดัดแปลงกะทิสด (ร้านจัดจ้าน) นอกจากนั้นยังตรวจพบ *S. aureus* ในตัวอย่างไอศกรีมอีก 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมนมผสมสติคกี้ ชูวี่ ช๊อกโกแลต, ไอศกรีมดัดแปลงกะทิ ส.มาลีไอศกรีม (หน้าม.บูรพา) และไอศกรีมนม (KFC)

จากข้อมูลในตารางที่ 9 และ 10 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในตัวอย่างไอศกรีมทั้ง 2 ครั้งได้ผลดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1 อัตราการตรวจพบแบคทีเรีย *E.coli* , *Salmonella* , *Shigella* , *V. cholerae* และ *S. aureus* ในตัวอย่างไอศกรีมจากการเก็บตัวอย่างทั้ง 2 ครั้ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าอัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียในไอศกรีมในการตรวจสอบคุณภาพทั้ง 2 ครั้งมีอัตราการปนเปื้อนแตกต่างกัน โดยในการตรวจสอบพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในครั้งที่ 1 มีการตรวจพบแบคทีเรียในตัวอย่างถึงร้อยละ 90 แต่ในการตรวจสอบครั้งที่ 2 มีการตรวจพบลดลงเหลือร้อยละ 85 เมื่อทำการแจกแจงความถี่ของระดับการปนเปื้อนของตัวอย่างไอศกรีมจะได้ดังภาพที่ 2 จากภาพจะเห็นได้ว่าไอศกรีมส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในระดับต่ำถึงปานกลางคือ 10 ถึง 10,000 CFU/g ส่วนอัตราการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ มีดังนี้(ภาพที่ 1) คือ มีการตรวจพบ *E. coli* คิดเป็นร้อยละ 5 ในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 2 และตรวจพบ *S. aureus* คิดเป็นร้อยละ 10 และร้อยละ 15 ตามลำดับการตรวจสอบคุณภาพในครั้งที่ 1และครั้งที่ 2 ส่วนเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆได้แก่ *Salmonella* , *Shigella* และ *V. cholerae* ไม่มีการตรวจพบจากการตรวจสอบทั้ง 2 ครั้ง



ภาพที่ 2 ความถี่ของระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียในไอศกรีม

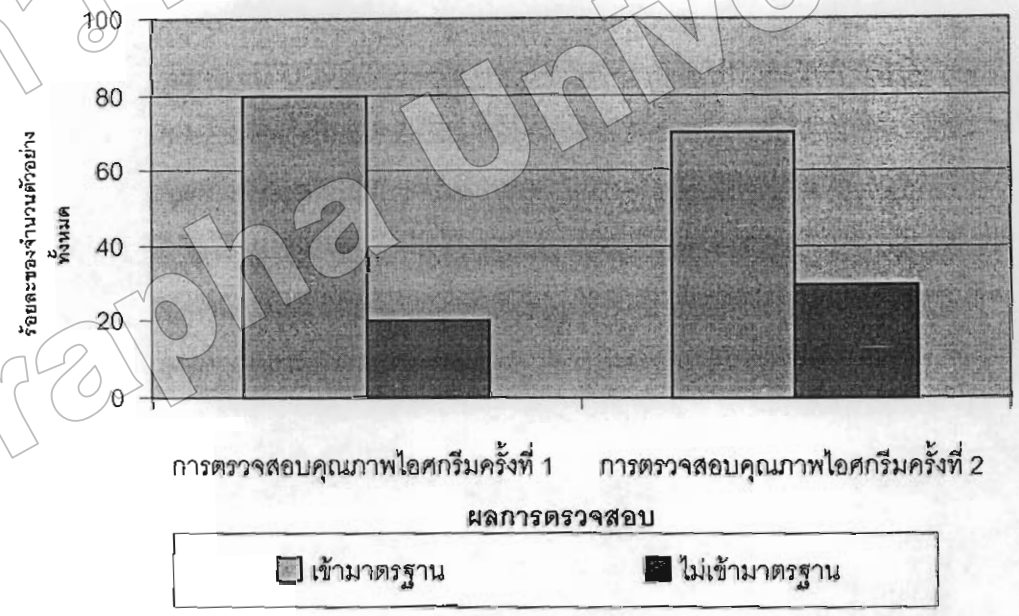
2. การตัดสินคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างไอศกรีม

เมื่อนำผลการตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างไอศกรีมชนิดต่างๆเทียบกับมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ซึ่งกำหนดไว้ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดต่อกรัม	น้อยกว่า $6x10^5$ โคโลนี
E. coli ใน 0.01 กรัม	ไม่พบ
แบคทีเรียก่อโรค	
Salmonella	ไม่พบ
Shigella	ไม่พบ
V. cholerae	ไม่พบ
S. aureus	ไม่พบ

จากข้อมูลในตารางที่ 9 และตารางที่ 10 พบว่าไอศกรีมที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพในครั้งที่ 1 ได้มาตรฐานคิดเป็นร้อยละ 80 และไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 20 และในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 2 มีไอศกรีมที่ได้มาตรฐานคิดเป็นร้อยละ 70 และไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 30 ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 จำนวนร้อยละของตัวอย่างไอศกรีมที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544)

เมื่อจำแนกประเภทและชนิดไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาทั้ง 2 ครั้งได้ผลแสดงดังตารางที่ 11 และตารางที่ 12

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 11 ประเภทและชนิดไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1

สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐาน	ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท					ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย				
	หวานเย็น	ผสม	ดัดแปลง	นม	รวม	หวานเย็น	ผสม	ดัดแปลง	นม	รวม
- จุลินทรีย์เกิน	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
- จุลินทรีย์เกิน + *S. aureus*	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
- พบ *S. aureus*	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
รวม					1					3

ตารางที่ 12 ประเภทและชนิดไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 2

สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐาน	ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท					ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย				
	หวานเย็น	ผสม	ดัดแปลง	นม	รวม	หวานเย็น	ผสม	ดัดแปลง	นม	รวม
- จุลินทรีย์เกิน	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
- จุลินทรีย์เกิน + *S. aureus*	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
- พบ *E. coli*	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
- พบ *S. aureus*	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1
รวม					1					5

จากตารางที่ 11 และ 12 จะพบว่าในการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1 มีไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทชนิดไอศกรีมนม 1 ตัวอย่างมีการตรวจพบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

S. aureus และไอศกรีมแบบตักแบ่งขายชนิดไอศกรีมดัดแปลง 2 ตัวอย่างพบจำนวนจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน,ชนิดไอศกรีมดัดแปลง 1 ตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์เกินมาตรฐานและตรวจพบ *S. aureus*

ส่วนในการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 2 พบว่ามีไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทชนิดไอศกรีมนม 1 ตัวอย่างที่มีการตรวจพบ *S. aureus* และไอศกรีมแบบตักแบ่งขายชนิดไอศกรีมดัดแปลง 2 ตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์เกินมาตรฐาน, ชนิดไอศกรีมดัดแปลง 1 ตัวอย่างที่ตรวจพบจุลินทรีย์เกินมาตรฐานและ *S. aureus* , ชนิดไอศกรีมดัดแปลง 1 ตัวอย่างตรวจพบ *E. coli* , ไอศกรีมนม 1 ตัวอย่างที่พบ *S. aureus* เพียงอย่างเดียว

จากการเปรียบเทียบการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาทั้ง 2 ครั้งจะพบว่ามีไอศกรีมชนิดเดียวกันจำนวน 4 ชนิดที่ไม่ได้มาตรฐานด้วยสาเหตุเดียวกัน คือ ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท 1 ตัวอย่าง ชนิดไอศกรีมนม ได้แก่ ไอศกรีมนมผสมสติ๊คกี้ ชูวี่ รสช็อกโกแลต ของ Swensen's ที่ตรวจพบ *S. aureus* และไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย 2 ตัวอย่าง ชนิดไอศกรีมดัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมดัดแปลงกะทิฟ้าไทย ที่จำหน่ายบริเวณหน้าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.บูรพา และคลาดหนองมนที่มีการตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์ที่กำหนด และไอศกรีมดัดแปลงกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม)ที่ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและยังตรวจพบ *S. aureus* และในการตรวจสอบครั้งที่ 2 ยังมีการตรวจพบไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานเพิ่มขึ้นอีก 2 ชนิดจากการตรวจสอบในครั้งแรก ได้แก่ ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย 2 ตัวอย่าง ชนิดไอศกรีมดัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมดัดแปลงกะทิ ที่จำหน่ายบริเวณร้านจัดจ้าน หน้าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.บูรพา ที่มีการตรวจพบ *E. coli* และไอศกรีมนม ของ KFC ที่ตรวจพบ *S. aureus* ซึ่งแสดงดังตารางที่ 13 ที่จะแสดงการเปรียบเทียบประเภท ชนิดและชื่อไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาทั้ง 2 ครั้ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 13 ประเภท ชนิดและชื่อไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) จากการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 1
ก. ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท 1 ตัวอย่าง (ชนิดไอศกรีมนม) - ไอศกรีมนมผสมสติ๊คกี้ ชูวี่ รสช็อกโกแลต ของ Swensen's ---------- ตรวจพบ *S. aureus* **ข. ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย** 3 ตัวอย่าง (ชนิดไอศกรีมคัดแปลง) - ไอศกรีมคัดแปลงกะทิฟ้าไทย 2 ตัวอย่าง จำหน่ายบริเวณหน้าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.บูรพา และตลาดหนองมน ----------ตรวจพบTPCเกินเกณฑ์กำหนด - ไอศกรีมคัดแปลงกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม) ----------ตรวจพบTPCเกินเกณฑ์ที่กำหนดและตรวจพบ *S. aureus*
การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาครั้งที่ 2
ก. ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท 1 ตัวอย่าง (ชนิดไอศกรีมนม) - ไอศกรีมนมผสมสติ๊คกี้ ชูวี่ รสช็อกโกแลต ของ Swensen's ---------- ตรวจพบ *S. aureus* **ข. ไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย** 5 ตัวอย่าง (ชนิดไอศกรีมคัดแปลง) - ไอศกรีมคัดแปลงกะทิฟ้าไทย 2 ตัวอย่าง จำหน่ายบริเวณหน้าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.บูรพา และตลาดหนองมน ----------ตรวจพบTPCเกินเกณฑ์กำหนด - ไอศกรีมคัดแปลงกะทิ (ส.มาลีไอศกรีม) ----------ตรวจพบTPCเกินเกณฑ์ที่กำหนดและตรวจพบ *S. aureus* - ไอศกรีมคัดแปลงกะทิ จำหน่ายบริเวณร้านจัดจ้าน หน้าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.บูรพา ----------ตรวจพบ *E. coli* - ไอศกรีมนม ของ KFC ----------ตรวจพบ *S. aureus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างไอศกรีมเพื่อวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยาเทียบกับมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) โดยเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่ายเดียวกัน พบว่าตัวอย่างไอศกรีมมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน 4 ตัวอย่างหรือคิดเป็นร้อยละ 20 และ 6 ตัวอย่างหรือคิดเป็นร้อยละ 30 ตามลำดับการตรวจสอบคุณภาพในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2โดยในการตรวจสอบคุณภาพในครั้งที่ 1 ตรวจพบตัวอย่างที่มีแบคทีเรียทั้งหมดเกิน 6×10^5 CFU/g ร้อยละ 15 ของตัวอย่างทั้งหมด และตรวจพบ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษคิดเป็นร้อยละ 10 ของตัวอย่างทั้งหมด ส่วนในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 2 ตรวจพบตัวอย่างที่มีแบคทีเรียทั้งหมดเกิน 6×10^5 CFU/g เท่ากับในการตรวจสอบคุณภาพครั้งแรก คือ ร้อยละ 15 ของตัวอย่างทั้งหมด ตรวจพบ *E. coli* คิดเป็นร้อยละ 5 ของตัวอย่างทั้งหมดและตรวจพบ *S. aureus* ร้อยละ 15 ของตัวอย่างทั้งหมด

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์ไอศกรีมด้านจุลชีววิทยาที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพ 2 ครั้ง กับตัวอย่างไอศกรีมชนิดเดียวกันที่ทำการเก็บสถานที่จำหน่ายเดียวกันพบว่าในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 1 มีไอศกรีม 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 ของตัวอย่างทั้งหมดมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) และในการตรวจสอบครั้งที่ 2 มีไอศกรีม 6 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 30 ที่มีคุณภาพไม่ได้ตามมาตรฐาน โดยในการตรวจสอบคุณภาพครั้งที่ 1 ไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐาน คือ มีจำนวนแบคทีเรียรวมเกินเกณฑ์ซึ่งกำหนดให้พบได้ไม่เกิน 6×10^5 CFU/g โดยพบประมาณ 1.4×10^6-2.2×10^6CFU/g และมีการตรวจพบ *S. aureus* ส่วนในครั้งที่ 2 ไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐาน พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียรวมประมาณ 6.3×10^5-1.4×10^6CFU/g ตรวจพบ *S. aureus* เช่นกัน แต่พบแบคทีเรียชนิด *E. coli* ด้วย

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของดวงดาวและคณะ (ดวงดาว และคณะ,2536) ที่ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมโดยเทียบกับมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) พบว่ามีไอศกรีมร้อยละ 16.7 ที่ไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากพบจำนวนจุลินทรีย์รวมและแบคทีเรียชนิด *E. coli* เกินเกณฑ์กำหนด และมีการตรวจพบ *S. aureus* ส่วนงานวิจัยของศศิธรและมนตรี (ศศิธร และมนตรี,2541) ศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่งออกจากโรงงานผลิต 2 แห่ง พบว่า จำนวนไอศกรีมจากโรงงานที่ 1 ร้อยละ 12.33 โรงงานที่ 2 ร้อยละ 1.37 ไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขและมาตรฐาน APHA เนื่องจากปริมาณแบคทีเรียต่อกรัม สูงกว่าเกณฑ์กำหนด และตรวจพบการปนเปื้อนของ *E. coli* แต่ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษและงานวิจัยของนวลตาและน้อย (นวลตา และน้อย,2541) ศึกษาลักษณะด้านจุลชีววิทยาของไอศกรีม ในจังหวัดขอนแก่น ผลการสำรวจพบว่าไอศกรีมมีคุณภาพด้านสุขลักษณะไม่เข้ามาตรฐาน โดยตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินมาตรฐานร้อยละ 52 ตรวจพบ *E. coli* ร้อยละ 11.2

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ พบว่าไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานที่ได้ทำการศึกษาครั้งนี้มีอัตราสูงกว่าไอศกรีมที่ไม่ได้มาตรฐานในงานวิจัยนั้นๆ แต่เมื่อได้ศึกษาดูจะพบว่าผลการสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมส่วนใหญ่ที่ไม่ได้มาตรฐานนั้นจะมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์กำหนด มีการตรวจพบ *E. coli* และ *S. aureus* คล้ายคลึงกัน แสดงให้เห็นว่าการที่มีปริมาณแบคทีเรียจำนวนมาก การปนเปื้อนของ *E. coli* และ *S. aureus* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ไอศกรีมไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) ซึ่งกำหนดว่าในไอศกรีมต้องไม่พบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกิน $6x10^5$ CFU/g ไม่พบ *E. coli* ใน 0.01 กรัมและแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษได้แก่ *Salmonella , Shigella ,V. cholerae* และ *S. aureus* โดยในการตรวจพบจุลินทรีย์ชนิด *E. coli* อาจเนื่องมาจากสุขลักษณะการผลิตไอศกรีมไม่ดีทำให้อาจมีการปนเปื้อนของ *E. coli* ลงในผลิตภัณฑ์ (บัญญัติ, 2534) ส่วน *S. aureus* นั้นมีการแพร่กระจายในไอศกรีมได้จากการสัมผัสด้วยมือของผู้เตรียมและผู้จำหน่าย เพราะเชื้อนี้สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะผิวหนังของมนุษย์ (สุมณฑาและคณะ, 2523)

เมื่อทำการเปรียบเทียบไอศกรีมชนิดต่างๆที่ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาทั้ง 2 ครั้งในปัญหาพิเศษนี้ผลปรากฏว่า ในการตรวจสอบครั้งที่ 1 ไอศกรีมตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐานตามเกณฑ์มี 4 ตัวอย่าง คือไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท 1 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมนม ซึ่งตรวจพบ *S. aureus* และไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมตัดแปลงกะทิ 2 ตัวอย่างที่ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์ที่กำหนด และไอศกรีมตัดแปลงกะทิ 1 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐานและยังตรวจพบ *S. aureus* ส่วนในการตรวจสอบครั้งที่ 2 ไอศกรีมตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนดมี 6 ตัวอย่าง คือ ไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท 1 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมนม 1 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบ *S. aureus* และไอศกรีมแบบตักแบ่งขาย 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ไอศกรีมตัดแปลงกะทิ 2 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐาน ไอศกรีมตัดแปลงกะทิ 1 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจพบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเกินเกณฑ์มาตรฐานและยังตรวจพบ *S. aureus* ไอศกรีมตัดแปลงกะทิ

1 ตัวอย่างที่มีการตรวจพบ *E. coli* และไอศกรีมนม 1 ตัวอย่าง ที่มีการตรวจพบ *S. aureus* ซึ่งตรงตามสมมติฐานที่คาดว่า ในไอศกรีมแบบตักแบ่งขายน่าจะพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มากกว่าไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและไอศกรีมที่มีส่วนผสมของนมหรือกะทิน่าจะพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มากกว่าไอศกรีมชนิดอื่น ซึ่งสาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากไอศกรีมแบบตักแบ่งขายนั้นอาจมีการปนเปื้อนเกิดได้ทุกขั้นตอนของการผลิตตั้งแต่การเตรียมวัตถุดิบ เครื่องมือเครื่องใช้ น้ำที่ใช้ในการผลิตไม่สะอาด การฆ่าเชื้อด้วยความร้อนไม่เพียงพอ สิ่งแวดล้อมของสถานที่ผลิตไม่ดีพอ โดยส่วนมากการผลิตไอศกรีมแบบตักแบ่งขายมักเป็นการผลิตขนาดเล็กระดับครัวเรือน เป็นการผลิตไอศกรีมที่มีการผลิตและจำหน่ายวันต่อวันจึงทำให้ไอศกรีมที่ได้เก็บรักษาไว้ได้ไม่นานเนื่องจากมีกระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน และขณะจำหน่ายตัวไอศกรีมอาจมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอกได้ เช่น จุลินทรีย์ที่อยู่ในอากาศ เป็นต้น นอกจากนั้นตัวผู้ประกอบการผลิตเองก็อาจเป็นสาเหตุการปนเปื้อนของ *S. aureus* ลงสู่ไอศกรีมได้ เช่น จากแผลบริเวณมือและ ผิวหนัง หรือจากลำคอและจมูกโดยการไอหรือจาม ซึ่งต่างกับไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทที่มักเป็นการผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ไอศกรีมที่ผลิตสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานและได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาว่าได้มาตรฐานตามที่พระราชบัญญัติอาหารกำหนดไว้ว่าสะอาดปราศจากสารพิษและเชื้อก่อโรคที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ โดยไอศกรีมที่มีส่วนผสมของนมหรือกะทิเป็นชนิดไอศกรีมที่พบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มากที่สุดมากกว่าไอศกรีมประเภทหวานเย็นหรือไอศกรีมชนิดอื่นๆ เนื่องจากนมหรือกะทิเป็นส่วนผสมไอศกรีมที่ใช้ในการผลิตนั้นมีคุณภาพต่ำ มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มาก และมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนั้นเพราะเป็นส่วนผสมที่ได้จากธรรมชาติไม่มีการปรุงแต่งหรือสังเคราะห์ใดๆจึงอาจพบ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ที่อาจก่อโรคอาหารเป็นพิษทำให้ท้องเสียอย่างรุนแรงในทารกและผู้ใหญ่ได้ โดยเชื้อนี้อาจจะปะปนกับอาหารที่หุงต้มไม่สุกหรือในอาหารที่มีการปรุงสุกเชื้อนี้ก็อาจปนเปื้อนมากับมือผู้ประกอบการผลิต ภาชนะ และโดยวิธีการอื่นอีกหลายทางรวมทั้งสถานที่ผลิตอาจอยู่ใกล้กองขยะมูลฝอย ที่เลี้ยงสัตว์ หรือห้องน้ำ อุปกรณ์ที่ใช้ไม่สะอาดและไอศกรีมผ่านการสัมผัสจากมือของผู้ผลิตบ่อยครั้ง

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมทั้งแบบบรรจุภาชนะปิดสนิทและแบบตักแบ่งขายนั้นไอศกรีมตักแบ่งขายส่วนใหญ่ยังไม่เหมาะสมกับการบริโภค เนื่องจากมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ.2544) เมื่อเปรียบเทียบกับไอศกรีมแบบบรรจุภาชนะปิดสนิท โดยเฉพาะไอศกรีมที่มีส่วนผสมของนมและกะทิที่มักไม่ได้มาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนด โดยพบว่าไอศกรีมที่มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานก็ยังคง

มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานเหมือนเดิมและในการตรวจสอบครั้งที่ 2 ไอศกรีมที่มีคุณภาพได้มาตรฐานกลับมีคุณภาพลดลงเมื่อเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ซ้ำ เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 ครั้ง ผลปรากฏว่าไอศกรีมมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 20 และร้อยละ 30 ตามลำดับ จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าไอศกรีมมีคุณภาพดีขึ้น ดังนั้นการเลือกบริโภคไอศกรีมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญจึงควรพิจารณาถึงประเภทของไอศกรีม ชนิดของไอศกรีม สถานที่จำหน่าย สถานที่ผลิตและเครื่องหมายรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ข้อเสนอแนะ

1. ตัวอย่างที่ทำการตรวจวิเคราะห์ควรมีมากกว่านี้เพื่อเป็นการเพิ่มความแม่นยำและความถูกต้องในการประเมินคุณภาพ
2. ในตัวอย่างที่ตรวจพบแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษควรทำการเก็บตัวอย่างซ้ำอีกครั้งเพื่อเป็นการศึกษาสาเหตุของการปนเปื้อน
3. ควรมีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านอื่นด้วย เช่น ทางด้านเคมี เพื่อเป็นการยืนยันว่าตัวอย่างที่มีการตรวจวิเคราะห์นั้นได้มาตรฐานทั้งในด้านจุลชีววิทยาและด้านเคมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. 2542. ไอศกรีมสวนจิตรลดา. ผลิตภัณฑ์แปรรูปนมที่ได้รับความนิยมเกินคาด. อุตสาหกรรมสาร : 13-15.

กุลวดี ตรองพาณิชย์. 2539. ไอศกรีม (2). แม่บ้าน (176): 30-34.

คัคนางค์ ทองสุก. 2542. การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไอศกรีม. อาหาร (1): 59-61.

คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2543. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช. 2535. ข้อกำหนดสุขลักษณะอาหารทั่วไป. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 34(2): 131-139.

ตวงดาว วงศ์สมมาตร์และคณะ. 2536. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 35(3): 201-206.

ธีรศักดิ์ สุภาไชยกิจ. 2542. ความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดกับจุลินทรีย์บ่งชี้ชนิด *E. coli* ในอาหาร 41(2): 131-139

นวลตา ม่วงน้อยเจริญ และน้อย ทองสกุลพานิชย์. 2531. สุขลักษณะด้านจุลชีววิทยาของไอศกรีม น้ำแข็งและน้ำบริโภคจากร้านอาหารใน จ. ขอนแก่น. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 30(1): 57-67.

เนาวรัตน์ ปานแจ่มและคณะ. 2543. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มทำจากผักและผลไม้ใน 6 จังหวัดชายแดนภาคใต้ พ.ศ.2535-2540. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 42(3): 240-248.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.

ประกาย จิตรกร. 2526. นมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ: สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย.

พัฒน์ สุจำนงค์. 2537. กฎหมายควบคุมอาหารและมาตรฐานอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2531. เภสัชจุลชีววิทยา. กรุงเทพฯ: อักษรบัณฑิต.

วรรณา ตั้งเจริญชัย, วิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ. 2531. นมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วรรณา ตั้งเจริญชัย, วิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ. 2531. นมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ: โอเดียน สโตร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2543. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.

วิสิฐ จะวะสิต และสิติมา จิตตินันทน์. ไอศกรีม. หมอชาวบ้าน (179): 76-78.

ศศิธร สุวรรณสนธิชัย และมนตรี กลิ่นจันทร์หอม. 2541. เปรียบเทียบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมส่งออกจากโรงงานผลิต 2 แห่ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. (1): 22-29.

ศิริโฉม ทุ่งเก้า. 2543. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ชลบุรี. มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2540. การวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา. วารสารบาร์พา (33): 47-52.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคณะ. 2523. การแพร่กระจายของเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 22(4): 193-205.

สุาลี เหลืองสกุล. 2527. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. Alkaline peptone water 0.5% NaCl (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 8.6 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. Baird-Parker egg-yolk tellurite agar (ศิริโฉม, 2543)

2.1 ส่วนผสมพื้นฐาน

Tryptone	10.0 กรัม
Meat extract	5.0 กรัม
Yeast extract	1.0 กรัม
Lithium chloride, hydrate	5.0 กรัม
Agar	20.0 กรัม
Sodium sulphadimidine(0.2%)	25.0 กรัม

PH 7.0 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หมายเหตุ

เตรียมสารละลาย Sodium sulphadimidine เข้มข้น 0.2 % โดยละลาย sulphadimidine (sulphamezathine) ใน 0.1 N Sodium hydroxide 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.2 ส่วนผสมเพิ่มเติม

. Glysine 20 %

วิธีเตรียม

ชั่ง Glysine 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร กำจัดเชื้อโดยการการกรองผ่านเยื่อกรองขนาดช่อง 0.45 ไมครอน

. Potassium tellurite 1 %

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีเตรียม

ชั่ง Potassium tellurite 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร กำจัดเชื้อโดยการการกรองผ่านเยื่อกรองขนาดช่อง 0.45 ไมครอน

. Egg-yolk emulsion

วิธีเตรียม

แช่ไข่ไก่ในเอธานอลเข้มข้น 70 % นาน 1 ชั่วโมง แยกไข่แดงออกจากไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 4 ส่วนลงในไข่แดง 1 ส่วน ผสมให้เข้ากัน (เก็บไว้ในตู้เย็น)

วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อครบสูตร

เติมส่วนผสม ก 6.5 มิลลิลิตร ส่วนผสม ข 1.1 มิลลิลิตรและส่วนผสม ค 5.4 มิลลิลิตร ลงในส่วนผสมพื้นฐาน (อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีก่อนเทใส่จานเพาะเชื้อ

3. Brilliant green lactose bile broth (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Oxgall	20.0 กรัม
Brilliant green	0.0133 กรัม

pH 7.2 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.2 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 16 x 150 มิลลิลิตร หลอดละ 10 มิลลิลิตรและใส่หลอด Durham 1 หลอด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. Desoxycholate citrate agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Sodium desoxycholate	0.5 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Neutral red	0.03 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

pH 7.1 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.1 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. Eosin methylene blue agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Lactose	5.0 กรัม
Sucrose	5.0 กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2.0 กรัม
Eosin Y	0.4 กรัม
methylene blue	0.065 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 7.2 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.2 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เขย่าให้เข้ากันก่อนเทใส่จาน เพาะเชื้อ

6. Gram negative broth (ศิริโฉม, 2543)

Tryptose	20.0 กรัม
D-glucose	1.0 กรัม
Mannitol	2.0 กรัม
Sodium citrate	5.0 กรัม
Sodium desoxycholate	0.5 กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	4.0 กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.4 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม

pH 7.0 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

7. Lysine iron agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	5.0 กรัม
Yeast extract	3.0 กรัม
Glucose	1.0 กรัม
L-lysine hydrochloride	10.0 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.5 กรัม
Sodium thiosulphate	0.04 กรัม
Bromcresol purple	0.02 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 6.7 ± 0.2

<u>วิธีเตรียม</u>

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 6.7 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำมาวางในลักษณะเอียง (slant)

8. MacConkey's agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	20.0 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Bile salt	1.5 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Neutral red	0.03 กรัม
Crytal violet	0.001 กรัม

pH 7.1± 0.2

<u>วิธีเตรียม</u>

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.1 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

9. MR-VP broth (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	5.0 กรัม
Glucose	5.0 กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	5.0 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

pH 6.9 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 6.9 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

10. Peptone (0.1%) (ศิริโฉม, 2543)

วิธีเตรียม

ละลาย Peptone ในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.1 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

11. Plate count agar (ศิริโฉม, 2543)

Tryptone	5.0 กรัม
Yeast extract	2.5 กรัม
D-glucose	1.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 7.0± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

12. *Salmonella-Shigella* agar (ศิริโฉม, 2543)

Beef extract	5.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Bile salt	8.5 กรัม
Sodium citrate	10.0 กรัม
Sodium thiosulphate	8.5 กรัม
Ferric citrate	1.0 กรัม
Brilliant green	0.33 มิลลิกรัม
Neutral red	0.025 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 7.0± 0.2

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

13. Selenite cystine broth (ศิริโฉม, 2543)

Tryptose	4.0 กรัม
Lactose	4.0 กรัม
Sodium hydrogen selenite	4.0 กรัม
Disodium hydrogen phosphate	5.0 กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	5.0 กรัม
L-Cystine	0.01 กรัม

pH 7.0± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

14. Simmon's citrate agar (ศิริโฉม, 2543)

Sodium chloride	5.0 กรัม
Magnesium sulphate heptahydrate	0.2 กรัม
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0 กรัม
Sodium citrate	5.0 กรัม
Bromthymol blue	0.08 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 6.8 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 6.8 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำมาวางในลักษณะเอียง (slant)

15. Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Yeast extract	5.0 กรัม
Sodium thiosulphate pentahydrate	10.0 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Trisodium citrate dihydrate	10.0 กรัม
Bile salt	8.0 กรัม
Sucrose	20.0 กรัม
Sodium chloride	10.0 กรัม
Ferric citrate	1.0 กรัม
Bromthymol blue	0.04 กรัม
Thymol blue	0.04 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 8.6 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 8.6 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

16. Triple sugar agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	20.0 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Sucrose	10.0 กรัม
Glucose	1.0 กรัม
Ferrous sulphate	0.2 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Sodium thiosulphate pentahydrate	0.3 กรัม
Phenol red	0.024 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 7.4 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.4 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำมาวางในลักษณะเอียง (slant)

17. Trypticase soy broth (10% NaCl) (ศิริโฉม, 2543)

Tryptone หรือ trypticase	17.0 กรัม
Soya peptone หรือ phytone	3.0 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Dipotassium hydrogen phosphate	2.5 กรัม
Sodium chloride	80.0 กรัม
D-glucose	2.5 กรัม

pH 7.2± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.2 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

18. 1% Tryptone broth (ศิริโฉม, 2543)

วิธีเตรียม

ละลาย Tryptone ในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

19. Urea agar (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	1.0 กรัม
Glucose	1.0 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Disodium phosphate	1.2 กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.8 กรัม
Phenol red	0.012 กรัม
Urea	20.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 6.8± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดยกเว้น agar ด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร กรองผ่านเยื่อกรองขนาดช่อง 0.45 ไมครอน ละลาย agar ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน15 นาที ทิ้งให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ผสมส่วนผสมทั้งสองเข้าด้วยกัน บรรจุหลอดแก้วขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร วางในลักษณะอาหารเอียง

20. Xylose lysine desoxycholate agar (ศิริโฉม, 2543)

Ycast extract	3.0 กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Xylose	3.75 กรัม
L-lysine monochloride	5.0 กรัม
Lactose	7.5 กรัม
Sucrose	7.5 กรัม
Sodium desoxycholate	2.5 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8 กรัม
Sodium thiosulphate	6.8 กรัม
Phenol red	0.08 กรัม
Agar	15.0 กรัม

pH 7.4 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.4 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข
สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. Kovac's reagent

p-Dimethylaminobenzadehyde	5.0 กรัม
Amyl alcohol	75.0 มิลลิลิตร
Hydrochloric acid (conc.)	25.0 มิลลิลิตร

<u>วิธีเตรียม</u>

ละลาย p-Dimethylaminobenzadehyde ใน Amyl alcohol ค่อยๆเติม Hydrochloric acid ลงไป เก็บไว้ในขวดสีชา

2. Methyl red reagent

Methyl red	0.1 กรัม
Ethanol 95 %	300.0 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200.0 มิลลิลิตร

<u>วิธีเตรียม</u>

ละลาย Methyl red ใน Ethanol เติมน้ำกลั่น 200.0 มิลลิลิตร

3. Voges-Proskauer reagent

<u>สารละลาย ก</u>

ละลาย ∝ - naphthol 5.0 กรัม ใน Ethanol (absolute) 100มิลลิลิตร

<u>สารละลาย ข</u>

ละลาย Potassium hydroxide 40.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค
รายชื่อและสถานที่ผลิตของไอศกรีมที่นำมาศึกษา

1. ไอศกรีมดัดแปลงผสมเผือก 10% มินิสติก จัดจำหน่ายโดย Cremo ผลิตโดย บริษัทจอมธนา จำกัด 92 หมู่ 4 ถ. แจ้งวัฒนะ ปากเกร็ด จ. นนทบุรี (อย. ผอ.58/2534)
2. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ยักษ์คู่ จัดจำหน่ายโดย Walls ผลิตโดย บริษัทยูนิลิเวอร์ไทย โฮลดิ้งส์ จำกัด 63 นิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง กรุงเทพฯ (อย. ผอ.35/2540)
3. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด ซันฟลาวเวอร์ จัดจำหน่ายโดย Nestle ผลิตโดย บริษัทเนสท์เล่ไอศกรีม (ประเทศไทย) จำกัด ก. 40 ม.13 นิคมอุตสาหกรรมบางชัน ถ.เสรีไทย มีนบุรี กรุงเทพฯ (อย. ผอ.59/2540)
4. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นโคลา ทรอปปิก จัดจำหน่ายโดย Cremo ผลิตโดย บริษัทจอมธนา จำกัด 92 หมู่ 4 ถ. แจ้งวัฒนะ ปากเกร็ด จ. นนทบุรี (อย. นบ-ผอ.7/2540)
5. ไอศกรีมดัดแปลงกะทิและไอศกรีมดัดแปลงรสอูเบ้ จัดจำหน่ายโดย Cremo ผลิตโดยบริษัท จอมธนา จำกัด 92 หมู่ 4 ถ. แจ้งวัฒนะ ปากเกร็ด จ. นนทบุรี (อย. นบ-ผอ.9/2538)
6. ไอศกรีมดัดแปลงกลิ่นวานิลลาเคลือบด้วยช็อกโกแลตผสมถั่วลิสง จัดจำหน่ายโดย Nestle ผลิตโดย บริษัทเนสท์เล่ไอศกรีม (ประเทศไทย) จำกัด ก. 40 ม.13 นิคมอุตสาหกรรมบางชัน ถ.เสรีไทย มีนบุรี กรุงเทพฯ (อย. ผอ.46/2541)
7. ไอศกรีมดัดแปลงกลิ่นวานิลลาผสมช็อกโกแลตชิป แพดเดิลป๊อป จัดจำหน่ายโดย Walls ผลิตโดย บริษัทยูนิลิเวอร์ไทยโฮลดิ้งส์ จำกัด 63 นิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง กรุงเทพฯ (อย. ผอ.52/2543)
8. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นส้ม ดัชชี่ป๊อปอาย จัดจำหน่ายโดย Dutchmill ผลิตโดยบริษัท ดัชมิลล์ จำกัด 137/6 ถ. พุทธมณฑลสาย 8 นครชัยศรี จ.นครปฐม (อย. นฐ-ผค.36/2542)
9. ไอศกรีมนมผสมโกโก้, กาแฟและอัลมอนด์มอกก้า อัลมอนด์ฟัดจ์เฟลเวอร์ไอศกรีมจัดจำหน่ายโดย Buds ice-cream ผลิตโดย บริษัท อเมริกันฟู้ด จำกัด 52/2 ซ.บ่อเงิน-บ่อทอง ถ.ลาดหลุมแก้ว-ปทุมธานี อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี (อย. ผอ.66/2535)
10. ไอศกรีมดัดแปลงรสช็อกโกแลต จัดจำหน่ายโดย Cartoon ผลิตโดย บริษัท จิตตานิช แปดริ้ว จำกัด 19/2 ถ.สุวินทวงศ์ ต.โสธร อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา (อย. ฉช-ผอ.20/2536)
11. ไอศกรีมหวานเย็นรสถั่วดำ จัดจำหน่ายโดย Cartoon ผลิตโดย บริษัท จิตตานิช แปดริ้ว จำกัด 19/2 ถ.สุวินทวงศ์ ต.โสธร อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา (อย. ฉช-ผอ.14/2536)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

12. ไอศกรีมหวานเย็นกลิ่นสละและสับปะรด จัดจำหน่ายโดย McDonald ผลิตโดยบริษัทเนสท์เล่ ไอศกรีม (ประเทศไทย) จำกัด ก. 40 ม.13 นิคมอุตสาหกรรมบางชัน ถ.เสรีไทย มีนบุรี กรุงเทพฯ (อย. ผอ.73/2543)
13. ไอศกรีมนมผสมสติคกี้ชูวี่ ช็อกโกแลต จัดจำหน่ายโดย Swensen's ผลิตโดย บริษัทไมเนอร์ แครี่ จำกัด 9/1 ถ.มิตรภาพ ต.กลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (อย. นม-ผอ.6/2537)
14. ไอศกรีมคัดแปลงกะทิฟ้าไทย จำหน่ายบริเวณ หน้าศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
15. ไอศกรีมคัดแปลงกะทิฟ้าไทย จำหน่ายบริเวณ ตลาดหนองมน จ. ชลบุรี (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
16. ไอศกรีมคัดแปลงกะทิ ผลิตโดย ส.มาลีไอศกรีม จำหน่ายบริเวณหน้ามหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
17. ไอศกรีมคัดแปลงกะทิสด จำหน่ายบริเวณ หน้าศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
18. ไอศกรีมคัดแปลงรสช็อกโกแลต ตรา United (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
19. ไอศกรีมนม จัดจำหน่ายโดย KFC (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)
20. ไอศกรีมนม ซันเด จัดจำหน่ายโดย McDonald (ไม่ปรากฏสถานที่ผลิตและเครื่องหมาย อย.)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง

ไอศกรีม

ตามกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 222 (พ.ศ.2522) ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมายรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ.2522) เรื่องกำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ.2529) เรื่องกำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ.2529

ข้อ 2 ให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 ไอศกรีมตามข้อ 2 แบ่งเป็น 5 ชนิด

(1) ไอศกรีมนม ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม

(2) ไอศกรีมดัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมตาม ข้อ (1) ที่ทำขึ้นโดยใช้ไขมันชนิดอื่นแทนมันเนยทั้งหมดหรือแต่บางส่วนหรือไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันแต่ผลิตภัณฑ์นั้นไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม

(3) ไอศกรีมผสม ได้แก่ ไอศกรีมตาม ข้อ (1) หรือ (2) แล้วแต่กรณีซึ่งมีผลไม้หรือวัตถุอื่นที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

(4) ไอศกรีมตาม ข้อ (1) ,(2) หรือ(3) ชนิดเหลวหรือแห้งหรือผง

(5) ไอศกรีมหวานเย็น ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำและน้ำตาลหรืออาจมีวัตถุอื่นที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

ไอศกรีมดังกล่าวอาจใส่วัตถุแต่งกลิ่น รสและสีด้วยก็ได้

ข้อ 4 ไอศกรีมทุกชนิดยกเว้นไอศกรีมตามข้อ 3 (4) ต้องผ่านกรรมวิธีตามลำดับดังต่อไปนี้

(1) การผ่านความร้อนต้องผ่านกรรมวิธีหนึ่งวิธีใดดังต่อไปนี้

(1.1)ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 68.5 องศาเซลเซียสและคงไว้ที่อุณหภูมินี้ ไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(1.2) ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียสและคงไว้ที่อุณหภูมินี้ ไม่น้อยกว่า 25 วินาที และจะต้องมีเครื่องวัดอุณหภูมิพร้อมด้วยเครื่องบันทึกอัตโนมัติแสดงอุณหภูมิ เวลาที่ใช้จริงหรือ

(1.3) ทำให้ร้อนโดยกรรมวิธีอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

(2) ทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและคงไว้ที่อุณหภูมินี้

(3) ปั่น กวน หรือผสมแล้วแต่กรณีและทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า -2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุลงในภาชนะบรรจุเพื่อจำหน่ายและต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า –2.2 องศาเซลเซียสนี้จนกว่าจะจำหน่าย

ข้อ 5 ไอศกรีมต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้

(1) ไอศกรีมนมต้องมีมันเนยเป็นส่วนผสมไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนักและมีธาตุ

น้ำนมไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่าร้อยละ 7.5 ของน้ำหนัก

(2) ไอศกรีมตัดแปลงต้องมีไขมันทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(3) ไอศกรีมผสมต้องมีมาตรฐานเช่นเดียวกันกับ(1)หรือ(2)แล้วแต่กรณี ทั้งนี้โดยไม่นับรวมน้ำหนักของผลไม้หรือวัตถุที่เป็นอาหารอื่นผสมอยู่

(4) ไอศกรีมหวานเย็นและไอศกรีมตามข้อ 3 (1),(2)หรือ(3)ต้อง

(4.1) ไม่มีกลิ่นหืน

(4.2) ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาลนอกจากการใช้น้ำตาลได้โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร FAO/WHO Codex ที่ว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหารและฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม

ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรค 1 ให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(4.3) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(4.4) มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน 600,000 ในอาหาร 1 กรัม

(4.5) ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *E. coli* ในอาหาร 0.01 กรัม

(4.6) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(4.7) ไม่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

(5) ไอศกรีมชนิดเหลวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม(1),(2)หรือ(3)แล้วแต่กรณี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

และต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม (4) ด้วย

ข้อ 6 ไอศกรีมชนิดแห้งหรือผงต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้

(1) ไม่มีกลิ่นหืน

(2) มีกลิ่นตามลักษณะเฉพาะของไอศกรีมเหล่านั้น

(3) มีลักษณะไม่เกาะเป็นก้อนผิดไปจากลักษณะที่ทำขึ้น

(4) ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาลนอกจากการใช้น้ำตาลได้ โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร FAO/WHO Codex ที่ว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหารและฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม

ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรค 1 ให้สำนักงานคณะกรรมการอาหาและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(5) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(6) มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(7) มีแบคทีเรียไม่เกิน 100,000 ในอาหาร 1 กรัม

(8) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(9) ไม่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหารให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าไอศกรีมเพื่อจำหน่ายต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องวิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุไอศกรีมให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากของไอศกรีมให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องฉลาก

ข้อ 11 ประกาศฉบับนี้

(1) ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารซึ่งออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ.2522) เรื่องกำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ.2529) เรื่องกำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพพรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ.2529 ก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ต่อไป

(2) ให้ใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารซึ่งออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่องฉลาก ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2535 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 95 (พ.ศ.2528) เรื่อง ฉลาก (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2528 และฉบับที่เกี่ยวข้องก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ต่อไปไม่เกิน 2 ปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 12 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าไอศกรีมที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายใน 1 ปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อได้ยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 8 ภายใน 2 ปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับและให้คงใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปจนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกิน 2 ปีนับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก จ
ไอศกรีมที่นำมาทำการศึกษา

ภาพที่ 4 ตัวอย่างฉลากไอศกรีมชนิดต่างๆที่นำมาทำการตรวจสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University