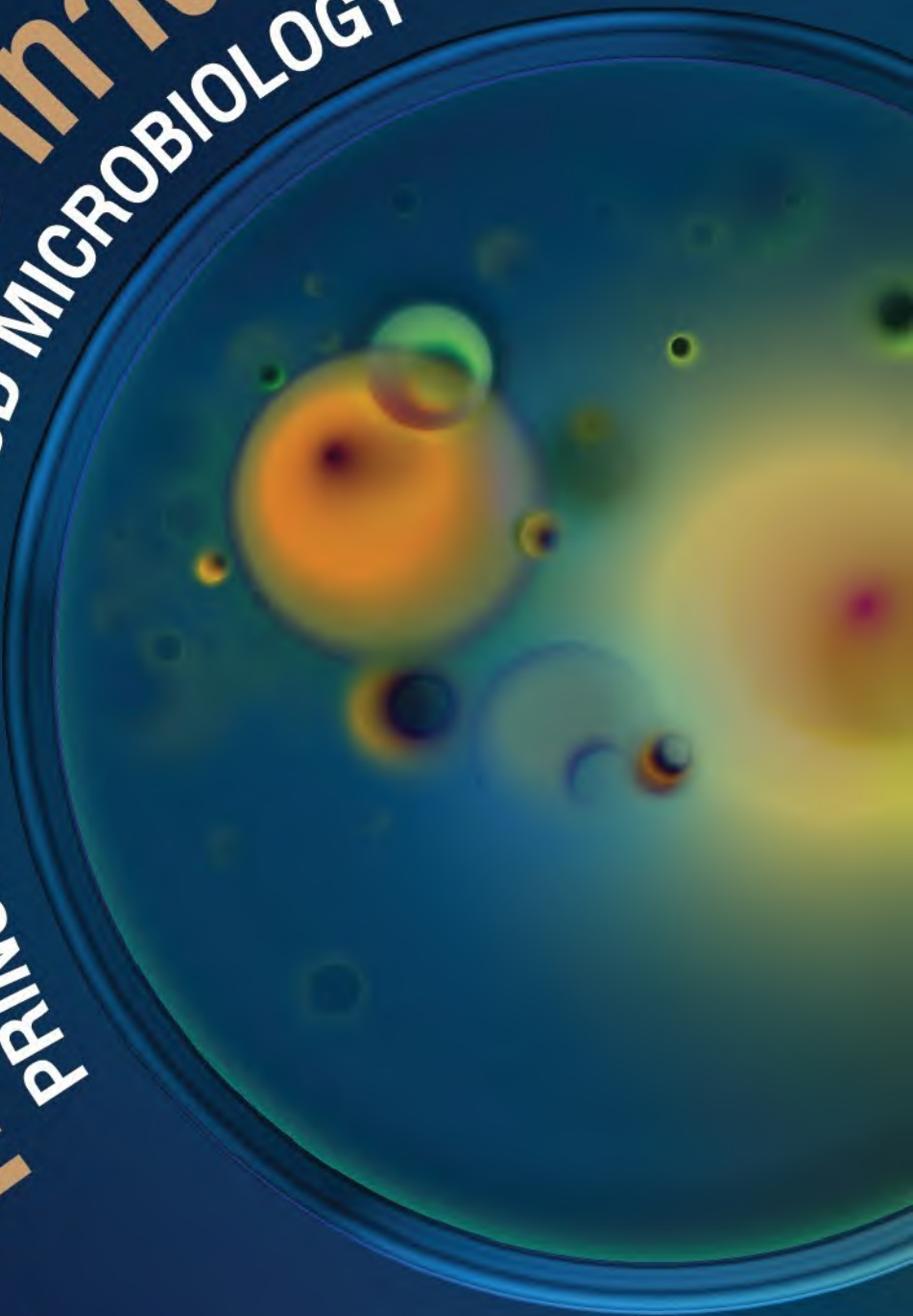


หลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร

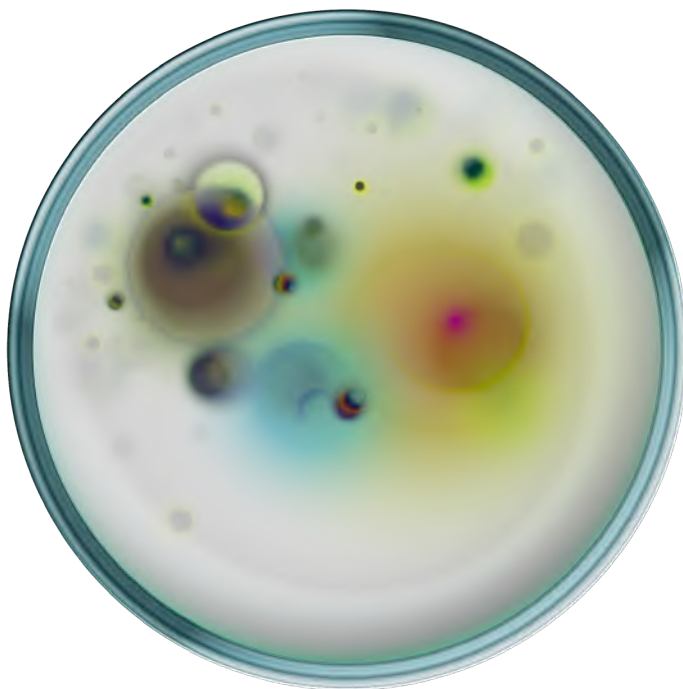
PRINCIPLES OF FOOD MICROBIOLOGY



จิตกร มหิสนันท์

หลักการ จุลชีววิทยา ทางอาหาร

PRINCIPLES OF FOOD MICROBIOLOGY



ฐิติกร มหิสนันท์

หลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร

PRINCIPLES OF FOOD MICROBIOLOGY

ผู้เขียน	ฐิติกร มหิสนันท์
บรรณาธิการบริหาร	จุฑาทิพย์ สุกาญจนาศเรษฐ
บรรณาธิการ	ศุภณัฐ วุฒิธาดา
กองบรรณาธิการ	รวงทอง หมั่นจิตร, ชุติมา สัมพันธ์
ศิลป์กรรม	พลิชฐ์สัทคุณ จุลละมณฑล, สุธน ตีระมณี

หนังสือเล่มนี้สงวนลิขสิทธิ์ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ (ฉบับเพิ่มเติม) พ.ศ. 2558

Copyright © 2022 ห้ามมิให้ส่วนหนึ่งส่วนใดหนังสือเล่มนี้เพื่อเป็นการผลิตใหม่ ห้ามทำซ้ำ ห้ามมิให้ทำการละเมิดลิขสิทธิ์ด้วยการส่งเนื้อหาสาระสำคัญทั้งทางอิเล็กทรอนิกส์หรือรูปแบบต่างๆ รวมถึงการถ่ายเอกสาร การทำสำเนา การเก็บข้อมูลในทุกรูปแบบ โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ

ฐิติกร มหิสนันท์.

หลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร.-นนทบุรี : สยามจุลละมณฑล, 2567.
280 หน้า.

1. จุลชีววิทยาทางอาหาร. 2. เทคโนโลยีการผลิตอาหาร. 3. วิทยาศาสตร์การอาหาร.
4. อาหารเทคโนโลยีชีวภาพ. I. ชื่อเรื่อง.

664

ISBN 978-616-94417-6-2

พิมพ์ครั้งที่ 1 เมษายน 2567

จัดพิมพ์โดย

บริษัท สยามจุลละมณฑล จำกัด

เลขที่ 98/28 ถนนเกตอุทัยพัฒนา ตำบลบางคูรัด อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี 11110

โทร. 063-451-9359, 061-519-3641, 092-425-5229

www.siamclmt.com • E-mail: contact@siamclmt.com

ราคา 350 บาท

คำนิยม



ตำราที่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตติกร มหิสนันท์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะนวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล อีสานนครราชสีมา นี้ เรียบเรียงจากความรู้ ประสบการณ์ จากการเรียนการสอน และการทำวิจัยอย่างต่อเนื่องกว่าสิบปี บนฐานความรู้ทั้งทฤษฎีและปฏิบัติด้านจุลชีววิทยาทางอาหารผ่านโครงการวิจัยและกิจกรรมทางวิชาการร่วมกับหน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชนที่มีหลักฐานอ้างอิงทั้งระดับชาติและนานาชาติ เนื้อหาการเรียบเรียงจะมีคำอธิบาย การวิเคราะห์ การสังเคราะห์ การอ้างอิงแหล่งข้อมูลที่ทันสมัยครบถ้วนครอบคลุมหลักการพื้นฐานจุลชีววิทยาทางอาหารที่ใช้เป็นเครื่องมือต่อยอดความรู้เพื่อสร้างสรรค์งานนวัตกรรมอาหารและเทคโนโลยีการเกษตร มีตัวอย่างงานวิจัยจากแหล่งอ้างอิงที่น่าเชื่อถือแทรกไว้ในเนื้อหาที่เกี่ยวข้องแต่ละช่วงและตอนท้ายของแต่ละบทเชื่อมั่นว่า นักศึกษาและผู้สนใจประกอบวิชาชีพหรือนักวิชาการด้านอาหารและเทคโนโลยีการเกษตรจะใช้ตำรานี้เป็นแนวทางการเรียนรู้เพื่อนำไปใช้ปฏิบัติได้อย่างดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก)

คำนำสำนักพิมพ์

ตำราหลักการจุลชีววิทยาทางอาหารเล่มนี้ รวบรวมเนื้อหาด้านจุลชีววิทยาทางอาหารที่มีความครอบคลุมและครบถ้วน ทั้งหมด 7 บท ได้แก่ บทนำพื้นฐานทางจุลชีววิทยาทางอาหาร จุลินทรีย์กับการเสื่อมเสียในอาหาร จุลินทรีย์กับการก่อโรคในอาหาร ผลของเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารต่อเซลล์จุลินทรีย์ การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์และผลผลิตจากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร เทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร และมาตรฐานความปลอดภัยของอาหารด้านจุลชีววิทยา ซึ่งเนื้อหาทำความเข้าใจง่าย เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านกระบวนการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารให้ดียิ่งขึ้นไป

สำนักพิมพ์หวังเป็นอย่างยิ่งว่า หนังสือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ในการเรียนรู้ของนักศึกษาและบุคคลทั่วไป หากมีจุดบกพร่องประการใด หรือมีข้อเสนอแนะใดๆ เกี่ยวกับหนังสือเล่มนี้ สำนักพิมพ์ยินดีน้อมรับไว้ด้วยความขอบคุณเพื่อนำมาพัฒนาการจัดพิมพ์ในโอกาสต่อไป

สำนักพิมพ์สยามจุลละมณฑล

คำนำผู้เขียน

ตำรารายวิชา “หลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร” เล่มนี้ พัฒนามาจากเอกสารประกอบการสอนตั้งแต่ พ.ศ. 2560 เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน โดยผู้เขียนเรียบเรียงเนื้อหาขึ้นจากการค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ตำรา หนังสือ และงานวิจัย ทั้งในประเทศและต่างประเทศ จากคณาจารย์และนักวิจัยที่มีชื่อเสียงหลายท่าน และประสบการณ์ทำงานวิจัยในหัวข้อที่เกี่ยวข้องของผู้เขียนเอง ทั้งนี้ เพื่อใช้ประกอบการเรียนการสอนในรายวิชาหลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร (Principles of Food Microbiology) สำหรับนักศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขานวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร กลุ่มวิชาเอนกวัตกรรมการและเทคโนโลยีการอาหาร คณะนวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดนครราชสีมา และรวมถึงผู้สนใจในรายวิชาดังกล่าวที่ต้องการศึกษาด้วยตนเองจากตำราเล่มนี้

องค์ประกอบของเนื้อหาในตำรารายวิชาหลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร มีจำนวน 7 บท ประกอบด้วยบทนำพื้นฐานทางจุลชีววิทยาทางอาหาร จุลินทรีย์กับการเสื่อมเสียในอาหาร จุลินทรีย์กับการก่อโรคในอาหารผลของเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารต่อเซลล์จุลินทรีย์ การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์และผลผลิตจากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร เทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร และมาตรฐานความปลอดภัยของอาหารด้านจุลชีววิทยา ซึ่งผู้เขียนมุ่งหวังเป็นอย่างยิ่งว่า เนื้อหาในตำราเล่มนี้จะประโยชน์แก่นักศึกษาและผู้ที่อยู่ในวิชาชีพที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้ผู้อ่านมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร และนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ในวิชาชีพด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารได้ในอนาคต หากมีข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขออภัยไว้ ณ ที่นี้ อีกทั้งยินดีน้อมรับคำแนะนำด้วยความเต็มใจ และจะนำมาใช้ในการปรับปรุงตำราให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้นต่อไป

ท้ายสุดนี้ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ให้คำแนะนำปรับแก้ตำราเล่มนี้ให้มีคุณภาพสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาและบุคคลทั่วไป

จิตติกร มหิสนันท์

พฤศจิกายน 2566

สารบัญ

คำนิยาม	3
คำนำสำนักพิมพ์	4
คำนำผู้เขียน	5
สารบัญ	6
สารบัญภาพ	10
สารบัญตาราง	12
คำอธิบายรายวิชา	13

1 บทนำพื้นฐานทางจุลชีววิทยาทางอาหาร	14
1.1 ความหมายของจุลชีววิทยาทางอาหาร	14
1.2 หลักความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับวัตถุดิบอาหาร	15
1.3 การประยุกต์ใช้ศาสตร์ด้านจุลชีววิทยากับอุตสาหกรรมอาหาร	16
1.4 แหล่งและการจัดจำแนกของจุลินทรีย์ที่พบในอาหาร	17
1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในอาหาร	23
1.6 กระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในอาหาร	38
1.7 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	42
1.8 สรุป	44
1.9 เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 1	45

2 จุลินทรีย์กับการเสื่อมเสียในอาหาร	48
2.1 หลักการพื้นฐานเกี่ยวกับการเสื่อมเสียของอาหาร	48
2.2 การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์	49
2.3 ลักษณะการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่าง ๆ	52
2.4 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	73
2.5 สรุป	75
2.6 เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 2	76

3 จุลินทรีย์กับการก่อโรคในอาหาร	80
3.1 โรคอาหารเป็นพิษจากจุลินทรีย์	80
3.2 การก่อโรคแบบ foodborne intoxication	81
3.3 การก่อโรคแบบ foodborne infection	90
3.4 การก่อโรคแบบ foodborne toxicoinfection	98
3.5 เชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส (opportunistic pathogen)	102
3.6 สารประกอบเอมีน (biogenic amines)	105
3.7 สารพิษซิกัวเทอราจากสาหร่าย (ciguatera poisoning)	105
3.8 สารพิษอัมพาตจากสัตว์น้ำจำพวกหอย (paralytic shellfish poisoning)	105
3.9 สารพิษต่อระบบประสาทจากสัตว์น้ำจำพวกหอย (neurotoxic shellfish poisoning)	106
3.10 สารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงจากสัตว์น้ำจำพวกหอย (diarrhetic shellfish poisoning)	106
3.11 ปรสิต (parasites)	106
3.12 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	108
3.13 สรุป	110
3.14 เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 3	111

4 ผลของเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารต่อเซลล์จุลินทรีย์	116
4.1 การใช้ความร้อน	116
4.2 การใช้อุณหภูมิต่ำ	123
4.3 การควบคุมค่า a_w	124
4.4 การใช้รังสี	125
4.5 การใช้สารเคมี/วัตถุกันเสีย	128
4.6 การดัดแปลงบรรยากาศ	133
4.7 เทคโนโลยีการแปรรูปอาหารแบบใหม่	135
4.8 เทคโนโลยีเฮิร์ดเดิล (Hurdle technology)	140
4.9 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	144
4.10 สรุป	147
4.11 เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 4	148

๕	การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์และผลผลิตจากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร	152
5.1	คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก	152
5.2	กล้ำเชื้อจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรีย	156
5.3	กล้ำเชื้อจุลินทรีย์ประเภทยีสต์	156
5.4	กล้ำเชื้อจุลินทรีย์ประเภทเชื้อรา	156
5.5	สารเมแทบอลิต์จากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์	157
5.6	ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์	165
5.7	จุลินทรีย์โพรไบโอติก	167
5.8	ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	170
5.9	สรุป	173
5.10	เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 5	174

๖	เทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร	178
6.1	แผนการสุ่มตัวอย่างสำหรับการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร	178
6.2	วิธีการเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อการวิเคราะห์จุลินทรีย์	181
6.3	เทคนิคการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative method)	182
6.4	เทคนิคการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative method)	192
6.5	เทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์แบบรวดเร็ว (rapid method)	193
6.6	ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	205
6.7	สรุป	207
6.8	เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 6	208

๗	มาตรฐานความปลอดภัยของอาหารด้านจุลชีววิทยา	212
7.1	การสุขาภิบาลอาหาร	212
7.2	จุลินทรีย์ดัชนีและฟิล์มชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการสุขาภิบาลอาหาร	214
7.3	การสุขาภิบาลในกระบวนการผลิตอาหาร	217
7.4	หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหาร (good manufacturing practice; GMP)	220

7.5 ระบบการวิเคราะห์อันตรายโดยอาศัยจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (hazard analysis and critical control points; HACCP)	222
7.6 วิธีการปฏิบัติมาตรฐานด้านสุขาภิบาลอาหาร (sanitation standard operating procedure; SSOP)	225
7.7 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	226
7.8 สรุป	228
7.9 เอกสารอ้างอิงท้ายบทที่ 7	229
บรรณานุกรม	231
ดัชนีค้นคำ	252
ประวัติผู้เขียน	274

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1	ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์	24
ภาพที่ 2	ค่า pH ของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่าง ๆ	28
ภาพที่ 3	ช่วงอุณหภูมิที่ใช้พิจารณาการเก็บรักษาอาหาร	34
ภาพที่ 4	ลักษณะการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์จากนํ้านม	55
ภาพที่ 5	ลักษณะการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์	59
ภาพที่ 6	ลักษณะการเสื่อมเสียของผักและผลไม้	64
ภาพที่ 7	ลักษณะการเสื่อมเสียของขนมปัง	67
ภาพที่ 8	ลักษณะการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋อง	70
ภาพที่ 9	ตัวอย่างการเสื่อมเสียของไข่ในลักษณะต่าง ๆ	71
ภาพที่ 10	<i>S. aureus</i>	81
ภาพที่ 11	<i>C. botulinum</i>	83
ภาพที่ 12	โครงสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน	85
ภาพที่ 13	โครงสร้างสารพิษสเทอริกมาโทซิสทิน	86
ภาพที่ 14	โครงสร้างสารพิษฟูโมนิซิน	86
ภาพที่ 15	โครงสร้างสารพิษดีออกซินิวาลีนอล	87
ภาพที่ 16	โครงสร้างสารพิษซีราลีโนน	88
ภาพที่ 17	โครงสร้างสารพิษพาทูลิน	88
ภาพที่ 18	โครงสร้างสารพิษโอคราทอกซิน A และ B	89
ภาพที่ 19	โครงสร้างสารพิษโรควฟอทีนซี	90
ภาพที่ 20	<i>S. typhimurium</i>	91
ภาพที่ 21	<i>L. monocytogenes</i>	92
ภาพที่ 22	<i>C. jejuni</i>	93
ภาพที่ 23	<i>S. flexneri</i>	94
ภาพที่ 24	<i>Y. enterocolitica</i>	95
ภาพที่ 25	<i>V. parahaemolyticus</i>	96
ภาพที่ 26	<i>C. perfringens</i>	99
ภาพที่ 27	<i>B. cereus</i>	100
ภาพที่ 28	<i>V. cholerae</i>	101
ภาพที่ 29	<i>A. hydrophila</i>	103
ภาพที่ 30	<i>P. shigelloides</i>	104
ภาพที่ 31	เครื่องหมาย Radura	126
ภาพที่ 32	อุตสาหกรรมอาหารที่มีการใช้ไมโครเวฟและคลื่นวิทยุ	136

ภาพที่ 33 อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการให้ความร้อนแบบโอทีมิกในอาหาร	137
ภาพที่ 34 เครื่องโฮโมจีไนส์เซอร์ที่ใช้หลักการอัลตราโซนิก	137
ภาพที่ 35 ห้องปฏิบัติการที่ใช้เทคโนโลยีคลื่นแสงแบบจางหะ	138
ภาพที่ 36 เครื่องพัลส์สนามไฟฟ้าแรงสูง	139
ภาพที่ 37 เครื่อง high hydrostatic pressure	140
ภาพที่ 38 ตัวอย่างผลของเฮอร์เคิลต่อจุลินทรีย์ในอาหาร	141
ภาพที่ 39 กลไกของแบคทีเรียโอซินในการทำลายแบคทีเรียแกรมบวก	161
ภาพที่ 40 กลไกของแบคทีเรียโอซินในการทำลายแบคทีเรียแกรมลบ	162
ภาพที่ 41 แผนผังการแบ่งประเภทของ EPS จากจุลินทรีย์	163
ภาพที่ 42 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธีการย้อมสีแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบ LIVE/DEAD® BacLight™ bacterial viability kit แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด fluorescence	183
ภาพที่ 43 วิธีการตรวจนับจุลินทรีย์ด้วยวิธี pour plate และ spread plate	184
ภาพที่ 44 การตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มในน้ำดื่ม ขั้นตอน presumptive test ด้วยวิธี MPN	187
ภาพที่ 45 การตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มในน้ำดื่ม ขั้นตอน confirmed test และ completed test ด้วยวิธี MPN	188
ภาพที่ 46 ปฏิกริยาการเปลี่ยนโครงสร้างของ methylene blue	191
ภาพที่ 47 ปฏิกริยาการเปลี่ยนโครงสร้างของ resazurin	192
ภาพที่ 48 การใช้เทคนิค metabolic fingerprint ในการศึกษาสาร metabolite ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต	194
ภาพที่ 49 ขั้นตอนการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหารด้วยเทคนิค IMS	195
ภาพที่ 50 ตัวอย่างผลการทดสอบ RPLA	196
ภาพที่ 51 รูปแบบของ ELISA	198
ภาพที่ 52 แผนภาพองค์ประกอบของการวิเคราะห์ด้วย flow cytometer	199
ภาพที่ 53 ปฏิกริยาการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยเทคนิค ATP bioluminescence	200
ภาพที่ 54 ขั้นตอนการทำ PCR	201
ภาพที่ 55 ประเภทของสารเรืองแสงที่ใช้ในการทำ real-time PCR ได้แก่ SYBR green detection (ซ้าย) และ taqman-probe detection (ขวา)	202
ภาพที่ 56 ขั้นตอนการทำ DNA fingerprinting	204
ภาพที่ 57 ลักษณะการสร้างฟิล์มชีวภาพจาก <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	216
ภาพที่ 58 แผนผังการตัดสินใจ (decision tree) ที่ใช้ในระบบ HACCP	224

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	สมภาวะค่า a_w ต่ำสุดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหารที่จะเจริญได้	27
ตารางที่ 2	ค่า Eh ของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่าง ๆ	30
ตารางที่ 3	ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบในอาหารแต่ละชนิด	32
ตารางที่ 4	สารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่สำคัญที่ได้จากวิถีการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตจากจุลินทรีย์	40
ตารางที่ 5	สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยองค์ประกอบอาหารของเมแทบอลิซึมจุลินทรีย์	49
ตารางที่ 6	องค์ประกอบของน้ำนมที่รีดได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมชนิดต่าง ๆ ในปริมาณ กรัมต่อ 100 กรัม	52
ตารางที่ 7	ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบต่าง ๆ และโปรตีนในน้ำนมจากข้อมูลอ้างอิงองค์การอาหาร และเกษตรแห่งสหประชาชาติ	53
ตารางที่ 8	องค์ประกอบของไขมันในน้ำนมวัวจากข้อมูลอ้างอิงองค์การอาหารและเกษตรแห่ง สหประชาชาติ	53
ตารางที่ 9	ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่างน้ำนมที่รีดจากกระบือและวัว	54
ตารางที่ 10	องค์ประกอบสารอาหารที่สำคัญในเนื้อสัตว์ประเภทต่าง ๆ	56
ตารางที่ 11	องค์ประกอบแร่ธาตุที่สำคัญในเนื้อสัตว์ประเภทต่าง ๆ	56
ตารางที่ 12	องค์ประกอบวิตามินที่สำคัญในเนื้อสัตว์ประเภทต่าง ๆ	57
ตารางที่ 13	องค์ประกอบของน้ำ เกล็ด ไขมัน และโปรตีนในวัตถุดิบอาหารจากทะเล	61
ตารางที่ 14	องค์ประกอบของวิตามินในวัตถุดิบอาหารจากทะเล	61
ตารางที่ 15	องค์ประกอบกรดอะมิโนในวัตถุดิบอาหารจากทะเล	62
ตารางที่ 16	องค์ประกอบเพกทินในผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ	63
ตารางที่ 17	องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของธัญพืชชนิดต่าง ๆ	65
ตารางที่ 18	ความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ	120
ตารางที่ 19	การทดสอบคุณสมบัติและวิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติของกลีเซอรีนที่สกัดแยกได้	154
ตารางที่ 20	คุณสมบัติของกลีเซอรีนเพื่อใช้ผลิตอาหารหมักแต่ละชนิด	155
ตารางที่ 21	เอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	159
ตารางที่ 22	ประเภทและตัวอย่างแบคทีเรียโอสิน	160
ตารางที่ 23	การประยุกต์ใช้ EPS ชนิดต่าง ๆ ในอุตสาหกรรม	164
ตารางที่ 24	ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก	168
ตารางที่ 25	ตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในแต่ละกระบวนการผลิต กึ่งซูปแบ่งทอดด้วยการสุ่มตัวอย่างแบบ three class sampling plan	181
ตารางที่ 26	ค่า MPN และค่าความเชื่อมั่นที่ 95% สำหรับผลบวกและผลลบ เมื่อใช้ตัวอย่าง 10, 1 และ 0.1 มิลลิลิตร ในการสอบด้วยระบบ 3 หลอด	189
ตารางที่ 27	จุลินทรีย์ที่สร้างฟิล์มชีวภาพที่แยกจากแหล่งผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่าง ๆ	215

คำอธิบายรายวิชา หลักการจุลชีววิทยาทางอาหาร (Principles of Food Microbiology)

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชานวัตกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร
กลุ่มวิชาเอกนวัตกรรมและเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

คำอธิบายรายวิชาภาษาไทย

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหาร ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร ผลของเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารที่มีต่อจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักอาหารและสุขภาพ นวัตกรรมการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์และผลผลิตจากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร แผนการสุ่มตัวอย่างและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร มาตรฐานความปลอดภัยของอาหารด้านจุลชีววิทยา

คำอธิบายรายวิชาภาษาอังกฤษ

Significant microorganisms in foods, factors affecting on microbial growth in foods, microbial food spoilages, food-borne pathogens, effect of food processing on microorganisms, microorganisms associated with food fermentation and health, innovation of beneficial used of microorganism and its metabolite in food industry, sampling plan and microbial analysis techniques in foods, microbiological safety standard in foods

บทที่ 1

บทนำพื้นฐานทางจุลชีววิทยาทางอาหาร



การศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์จัดจำแนกสาขาย่อยตามวิทยาศาสตร์ธรรมชาติได้หลากหลายสาขา ได้แก่ แบคทีเรียวิทยา (Bacteriology) ราวิทยา (Mycology) โพรโทซัววิทยา (Protozoology) สาหร่ายวิทยา (Phycology) และไวรัสวิทยา (Virology) ซึ่งแต่ละสาขานี้จะเน้นองค์ความรู้ที่เกี่ยวกับลักษณะทางสรีรวิทยา โครงสร้าง ลักษณะทางชีวเคมี ลักษณะการแสดงออกทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ยังแบ่งเป็นวิทยาศาสตร์ประยุกต์ได้หลายด้าน ได้แก่ จุลชีววิทยาทางการแพทย์ (Medical microbiology) จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม (Industrial microbiology) เทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology) และจุลชีววิทยาทางการเกษตร (Agricultural microbiology) รวมถึงจุลชีววิทยาทางอาหาร (Food microbiology) เพื่อให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาองค์ความรู้ด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ (ธีรพร กงบังเกิด, 2546)

1.1 ความหมายของจุลชีววิทยาทางอาหาร

จุลชีววิทยาทางอาหาร (Food microbiology) เป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร เช่น จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (food spoilage microorganisms) จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (foodborne pathogens) การใช้

ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแปรรูปอาหารด้วยวิธีการหมักดอง รวมถึงการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค การศึกษาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษโดยใช้เทคนิคดั้งเดิมและเทคนิคที่ทันสมัยตามเกณฑ์มาตรฐานสากล โดยมุ่งเน้นเพื่อควบคุมและแก้ไขปัญหาที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่เป็นความเสี่ยงสูงสุดในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละประเภท รวมถึงการศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการแปรรูปอาหารต่อการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้มีระดับที่ปลอดภัยสอดคล้องกับหลักการสุขาภิบาล และเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารด้านจุลินทรีย์ (Erkmen and Bozoglu, 2016; Ray, 2004)

1.2 หลักความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับวัตถุดิบอาหาร

ในธรรมชาติจะมีจุลินทรีย์ประจำถิ่น (micro flora หรือ microbiota) ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบทางการเกษตรในระหว่างการเก็บเกี่ยว การฆ่า หรือปนเปื้อนข้ามมายังผลิตภัณฑ์อาหารในระหว่างกระบวนการแปรรูป ขั้นตอนการเก็บรักษา การจัดจำหน่าย สภาพสิ่งแวดล้อม ในอากาศ ฝุ่นละออง รวมถึงขั้นตอนสุดท้ายก่อนถึงผู้บริโภค เมื่อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารจะเพิ่มจำนวนโดยใช้สารอาหารในวัตถุดิบซึ่งจัดว่า เป็นแหล่งสารตั้งต้นของจุลินทรีย์เพื่อสร้างพลังงานและปลดปล่อยสารต่าง ๆ ออกมา อาจจะเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดโทษแก่ผู้บริโภค หรือทำให้เกิดลักษณะการเสื่อมเสียของอาหาร หรืออาจทำให้ผู้บริโภคอาหารนั้นเจ็บป่วย นอกจากนี้ยังมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่ผลิตสารผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่เกิดประโยชน์แก่อุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตกรดน้ำส้มสายชู การผลิตกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์นํ้านมหมัก หรือการผลิตวัตถุเจือปนอาหาร (Erkmen and Bozoglu, 2016)

จากประสบการณ์วิจัยของผู้เขียนที่เกี่ยวข้องกับชนิดของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การศึกษาประสิทธิภาพของการล้างชิ้นสเต็กปลาซวาย พบว่า ถึงแม้การแช่ชิ้นสเต็กปลาซวายด้วยสารฆ่าเชื้อ sodium hypochlorite ความเข้มข้น 50 ppm ก็ยังคงตรวจพบจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีความโดดเด่นทั้ง 10 จีนัส ได้แก่ *Acinetobacter*, *Soanwooa*,

Chryseobacterium, *Enhydrobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Comamonas*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* และ *Methylobacterium-Methylorubrum* (Dabsantai and Mahidsanan, 2023) นอกจากนี้ ผู้เขียนยังได้ข้อสรุปจากการศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปขนมปุยฝ้ายที่เดิมสารสีจากธรรมชาติ ได้แก่ ขมิ้น กระเจี๊ยบ และชาเขียว พบว่า ภายหลังแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แล้วยังคงพบปริมาณเชื้อราและยีสต์ รวมถึงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แต่คุณภาพยังจัดคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (Suwan and Mahidsanan, 2022)

1.3 การประยุกต์ใช้ศาสตร์ด้านจุลชีววิทยากับอุตสาหกรรมอาหาร

นักจุลชีววิทยาทางอาหารใช้หลักการทางจุลชีววิทยามาพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารดังประเด็นต่อไปนี้ (Ray, 2004)

- 1) ประเมินคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์อาหารหรือวัตถุดิบอาหารโดยใช้เทคนิคทางห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา
- 2) จัดจำแนกประเภทของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร
- 3) สร้างวิธีการแก้ไขเพื่อควบคุมการเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร
- 4) ใช้เทคนิคทางจุลชีววิทยาแบบรวดเร็ว (rapid methods) ในการคัดแยก (isolation) และบ่งชี้ (identification) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและอาหารเสื่อมเสีย
- 5) ทวนสอบประสิทธิภาพของเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร เพื่อควบคุมความปลอดภัยทางจุลินทรีย์
- 6) ออกแบบวิธีการสุขาภิบาลที่มีประสิทธิภาพเพื่อควบคุมปัญหาการเสื่อมเสียและการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในโรงงานแปรรูปอาหาร
- 7) คัดแยกจุลินทรีย์กล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในการแปรรูปอาหารด้วยวิธีการหมักดอง
- 8) ทราบข้อกำหนดเกี่ยวกับคุณภาพทางจุลชีววิทยาอาหารในระดับชุมชน ระดับประเทศ และระหว่างประเทศ เพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น

1.4 แหล่งและการจัดจำแนกของจุลินทรีย์ที่พบในอาหาร

การจัดจำแนกจุลินทรีย์ตามแหล่งธรรมชาติ แบ่งออกเป็น 1) แหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติ ได้แก่ แหล่งน้ำ ดิน อากาศ ขยะ พื้นผิวหรือมุมอับของเครื่องมือ อุปกรณ์ รวมถึงพื้นผิวของบรรจุภัณฑ์อาหาร 2) แหล่งที่อยู่ทางชีวภาพ ได้แก่ มนุษย์ พืช และสัตว์ ซึ่งแหล่งของจุลินทรีย์ที่กล่าวมานั้นใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกแหล่งการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) และแพร่กระจายในวัตถุดิบทางการเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยทั่วไปจะจัดจำแนกประเภทของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร ได้แก่ เชื้อรา ยีสต์ แบคทีเรีย โปรโตซัว และไวรัส โดยมีรายละเอียดดังนี้ (วิฑู ชูศรี, 2563; สมณชา วัฒนสินธุ์, 2545; ชมภู๋ ยัมโต, 2558)

1.4.1 เชื้อรา (Mold)

เชื้อราที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารเจริญได้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม สภาวะแห้งแล้งที่มีค่า water activity (a_w) ต่ำ เชื้อราจะมีคุณสมบัติได้แก่ งานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ หรือนำไปเป็นกล้าเชื้อเพื่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น การผลิตเทมเป้ด้วยกล้าเชื้อ *Rhizopus oligosporus* หรือการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา เช่น การผลิตเอนไซม์โปรติเอสด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดทำให้เกิดโทษ ได้แก่ ทำให้เกิดอาหารเสื่อมเสีย สร้างสารพิษหรือสารก่อมะเร็งที่ทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์ ตัวอย่างกลุ่มเชื้อราที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร ดังนี้

- *Alternaria* เป็นสาเหตุให้เกิดโรคเน่าจุดสีน้ำตาลหรือจุดสีดำในผักและผลไม้ เช่น แอปเปิล กะหล่ำ แตงกวา ส้ม ข้าวสาลี และมะเดื่อ บางชนิดสร้างสารพิษได้
- *Aspergillus* ทำให้ผลไม้เน่าและมีสีดำ *Aspergillus flavus* สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารแห้ง เช่น ถั่ว กระเทียม ข้าวโพด อีกทั้งยังเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในพืชน้ำมัน ได้แก่ ถั่วลิสง ปาล์ม และข้าวโพด ส่วน *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sojae* ใช้ในการผลิตเต้าเจี้ยวและซีอิ๊ว กรณีสายพันธุ์ *Aspergillus niger* ผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส อะไมเลส เพกทิเนส และบีตาไกลูโคซิเดส เป็นต้น

- *Botrytis* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคราเน่าสีเทากับผลไม้ เช่น แพร่ ราสเบอร์รี่ แอปเปิล สตรอว์เบอร์รี่ องุ่น เชอร์รี่ พีช พลัม บลูเบอร์รี่ ผลไม้ที่มีเมล็ดแข็ง และผลไม้ตระกูลส้ม สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย เช่น *Botrytis cinerea*
- *Byssoschlamys* เป็นสาเหตุทำให้ผลไม้กระป๋องเสื่อมเสีย บางชนิดสร้างเอนไซม์ เพกทิเนส (pectinase) ที่ย่อยองค์ประกอบของผนังเซลล์ผักและผลไม้ ส่งผลให้ ผักและผลไม้เน่าละ เช่น *Byssoschlamys fulva*
- *Cladosporium* จะพบในอาหารที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นและแช่แข็ง ส่งผลให้ ผลิตภัณฑ์เนื้อที่แช่แข็งนาน ๆ มีจุดสีดำ บางครั้งทำให้ผลิตภัณฑ์เนยและมาการีน เกิดการเสื่อมเสีย เช่น *Cladosporium cladosporioides*
- *Colletotrichum* เป็นสาเหตุทำให้เกิดจุดสีดำหรือสีน้ำตาลบนผิวผลไม้ เช่น มะม่วง มะละกอ องุ่น
- *Fusarium* หากเจริญและสร้างเส้นใยปกคลุมผิวผลไม้ จะทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาล ในผลส้มและสับปะรด อีกทั้งยังเจริญบนเมล็ดข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีได้ เช่น *Fusarium oxysporum* บางชนิดสร้างสารพิษกลุ่มไตรโคทีซีนและสารซีราลีโนน
- *Geotrichum* ใช้ในกระบวนการหมักการที่เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองแถบ แอฟริกาซึ่งทำจากมันสำปะหลัง แต่บางชนิดทำให้เกิดโรคเน่าละ ทำให้เนยแข็งเกิดการ เสื่อมเสีย *Geotrichum candidum* ทำให้เกิดกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ camembert cheese อีกทั้งยังเกิดการปนเปื้อนกับอุปกรณ์และเครื่องมือในกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น โรงงานผลิตภัณฑ์นม โรงงานผลิตน้ำมะเขือเทศบรรจุกระป๋อง
- *Monilia* ทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมปังมีสีแดง ทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาลกับผลไม้ที่มี เมล็ดแข็ง เช่น ลูกพีช
- *Mucor* ทำให้เกิดจุดสีดำบนผลิตภัณฑ์เนื้อวัว สายพันธุ์ *Mucor hiemalis f. hiemalis* สร้างเอนไซม์ลิเพส (Lipases) *Mucor pusillus* สร้างเอนไซม์เรนเนตที่ใช้ในอุตสาหกรรม เนยแข็ง

- *Penicillium* ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลไม้ บางชนิดมีประโยชน์ในการผลิตยาปฏิชีวนะ เช่น เพนิซิลลิน (*Penicillin*) บางชนิดใช้ในการผลิตบลูชีส (blue cheese) บางชนิดสร้างสารพิษซิทรินิน (*Citrinin*) โอคราตอกซินเอ (*Ochratoxin A*) และไมโคทอกซิน (*Mycotoxin*)
- *Rhizopus* เป็นราที่เจริญบนขนมปังส่งผลให้เกิดการเสื่อมเสีย บางชนิดทำให้เกิดโรคจุดสีดำบนผิวเนื้อแช่เย็น บางชนิดผลิตเอนไซม์เพกทิเนส นอกจากนี้ *Rhizopus oligosporus* มีความสำคัญในการเป็นกล้าเชื้อเพื่อผลิตเทมเป้ซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของประเทศอินโดนีเซีย
- *Thamnidium* เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อแช่เย็นเกิดการเสื่อมเสียแบบวิสเกอร์ (Whiskers) คือ มีลักษณะเป็นคราบสีขาวป็น เกิดจุดสีดำ อีกทั้งยังทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้อีกด้วย
- *Trichothecium* เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเสื่อมเสียในผลไม้ ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ แตงกวาเกิดโรคเน่าและนิ่มละ อีกทั้งบางชนิดยังสร้างสารพิษได้

1.4.2 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์มีบทบาทสำคัญในกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น ไวน์ เบียร์ ขนมปัง อีกทั้งยังนำไปเป็นโปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cell protein) ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ได้อีกด้วย โดยทั่วไปยีสต์จะเจริญในสภาวะที่มีค่า pH กว้าง และมีแอลกอฮอล์สูงถึงร้อยละ 18 บางสายพันธุ์เจริญในสภาวะที่มีน้ำตาลสูงถึงร้อยละ 60 ตัวอย่างยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร ได้แก่ *Saccharomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Candida*, *Zygosaccharomyces*

- *Saccharomyces* มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด เช่น ไวน์ ขนมปัง กליเซอร์อล และเอนไซม์อินเวอร์เทส มีทั้งที่เป็นกลุ่ม top yeast และ bottom yeast โดย top yeast จะเจริญอย่างรวดเร็ว แล้วมีการรวมกลุ่มของเซลล์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นจะผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้เซลล์ลอยขึ้นไปอยู่

ที่ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์อาหาร ตัวอย่างเช่น *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* ที่ผลิตแอลกอฮอล์สูงเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์และสุรา ส่วน bottom yeast จะเจริญอย่างช้า ๆ ที่ช่วงอุณหภูมิ 10 - 15 องศาเซลเซียส เนื่องจากไม่มีการรวมกลุ่มของเซลล์ ผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณน้อย และจะตกตะกอนที่ก้นของภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น *Saccharomyces carlsbergensis* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ *Saccharomyces fragilis* และ *Saccharomyces lactis* ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตนมหมัก

- *Schizosaccharomyces* พบในผลไม้เมืองร้อน กากน้ำตาล ดิน ตัวอย่างเช่น *Schizosaccharomyces pombe* เจริญในอาหารที่มีน้ำตาลสูง ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง ลูกเกต และผลไม้แห้งเกิดการเสื่อมเสีย
- *Zygosaccharomyces* เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง น้ำเชื่อม และกากน้ำตาลเสื่อมเสียได้ บางชนิดมีบทบาทในการหมักซอสถั่วเหลืองและมิโซะ บางชนิดทำให้ผลิตภัณฑ์มายองเนสและน้ำสลัดเกิดการเสื่อมเสีย
- *Pichia* เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลไม้ เบียร์ ข้าวฟ่าง ไวน์ และนํ้านมเกิดการเสื่อมเสีย ตัวอย่างเช่น *Pichia membranaefaciens* เจริญและสร้างแผ่นฝ้าบนไวน์ อีกทั้งยังเป็นปัญหากับอุตสาหกรรมการผลิตผักและผลไม้ดอง
- *Hansenula* มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในประเทศอินเดีย หรือผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว
- *Debaryomyces* จะเจริญบนผิวหน้าของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก บางชนิดทำให้ไส้กรอก เนยแข็ง และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เกิดการเสื่อมเสีย
- *Hanseniaspora* พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะผักและผลไม้ เช่น มะเขือเทศ สตรอว์เบอร์รี ส้ม

- *Torulopsis* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดเมือกบนผิวของอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์เนื้อแช่เย็น นมข้น ครีม อาหารดองเค็ม ผลิตภัณฑ์เบียร์ นอกจากนี้บางชนิดยังใช้เป็นประโยชน์ในการผลิตกลีเซอรอลและโปรตีนเซลล์เดี่ยว
- *Candida* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ผักและผลไม้ ผลิตภัณฑ์นม อาหารดองเค็ม เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ บางชนิดใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว เช่น *Candida utilis*
- *Brettanomyces* ทำให้เบียร์ ไวน์ และผลิตภัณฑ์แตงกวาดองเกิดการเสื่อมเสีย ตัวอย่างเช่น *Brettanomyces bruxellensis* และ *Brettanomyces lambicus*
- *Rhodotorula* สร้างเม็ดสีแดง สีชมพู และสีเหลือง ทำให้เกิดจุดบนผิวหน้าของเนื้อสัตว์ กะหล่ำปลีดอง และผักกาดดอง และเกิดการเสื่อมเสีย

1.4.3 แบคทีเรีย (Bacteria)

แบคทีเรียจัดจำแนกตามคุณสมบัติการติดสีย้อมแกรม เพื่อแบ่งประเภทของรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ โดยแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ติดสีแกรมบวกและติดสีแกรมลบ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.4.3.1 แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative)

- แบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (gram negative aerobes) เช่น *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Brucella*, *Psychrobacter*
- แบคทีเรียแกรมลบที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (gram negative facultative anaerobes) เช่น *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*,

Salmonella, Shigella, Serratia, Yersinia, Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas, Rickettsias, Coxiella burnetii

- แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ที่สร้างเอนโดสปอร์ (gram negative, endospore forming rods) เช่น *Desulfotomaculum*

1.4.3.2 แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive)

- แบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างกลม (gram positive cocci) เช่น *Micrococcus, Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus, Sarcina, Leuconostoc, Pediococcus*
- แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน ที่สร้างเอนโดสปอร์ (gram positive, endospore forming rods) เช่น *Bacillus, Sporolactobacillus, Clostridium*
- แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนปกติ ที่ไม่สร้างสปอร์ (gram positive, non sporulating regular rods) เช่น *Lactobacillus, Carnobacterium, Brochothrix, Listeria*
- แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนไม่ปกติ ที่ไม่สร้างสปอร์ (gram positive, non sporeforming irregular rods) เช่น *Corynebacterium, Brevibacterium, Propionibacterium, Bifidobacterium*

1.4.4 โพรโทซัว (Protozoa)

โพรโทซัวจัดเป็นยูแคริโอต (eukaryote) บางชนิดเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคระบาดในอาหาร และน้ำทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ สาธารณสุขทั่วโลกยังให้ความสำคัญกับปัญหานี้ โพรโทซัวส่วนใหญ่จะปนเปื้อนในวัตถุดิบผักและผลไม้ ยกตัวอย่างโพรโทซัวที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร เช่น *Giardia duodenalis, Giardia lamblia, Cryptosporidium spp., Cryptosporidium parvum, Cyclospora cayetanensis, Isospora belli, Toxoplasma gondii, Entamoeba spp., Balantoides coli, Blastocystis spp., Cystoisospora belli, Enterocytozoon bieneusi*

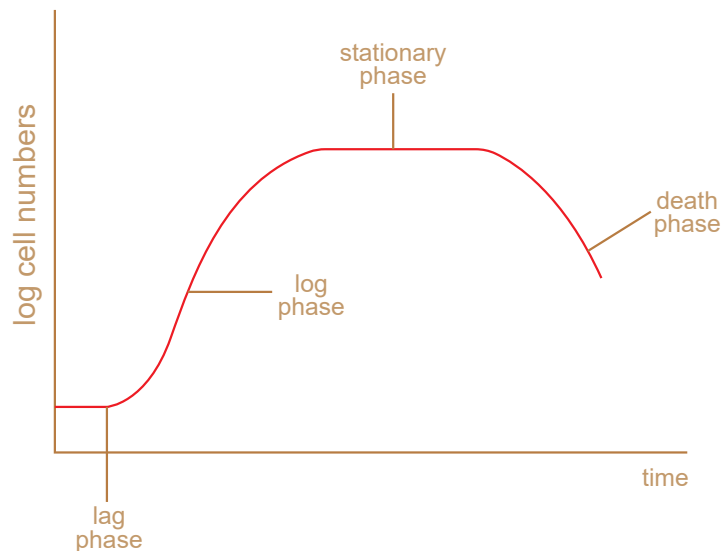
1.4.5 ไวรัส (Virus)

ไวรัสหลายชนิดก่อโรคกับมนุษย์ มีบทบาทเกี่ยวกับการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากระบบสุขภาพอาหารไม่มีประสิทธิภาพ หรือแม้กระทั่งผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากเนื้อสัตว์ก็เป็นแหล่งแพร่กระจายของไวรัสได้เช่นกัน ตัวอย่างไวรัสที่ปนเปื้อนมากับอาหาร เช่น Hepatitis A virus, Norovirus หรือ Norwalk-like virus, Polio virus, Adenovirus, Echo virus, Coxsackie virus

นอกจากนี้ ตั้งแต่มีวิกฤติการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทั่วโลกในช่วงปลาย พ.ศ. 2562 ถึงปัจจุบัน และองค์การอนามัยโลกประกาศให้เป็นโรคระบาดเมื่อวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2563 ซึ่งพบว่า จุดเริ่มต้นของการแพร่ระบาดมาจากตลาดขายสินค้า Huanan Seafood Market ในเมืองอู่ฮั่น (Wuhan) ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน จากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับโมเลกุลพบว่า เชื้อไวรัส COVID-19 มาจากแหล่งวัตถุดิบอาหารกลุ่มค้างคาว โดยมียีนที่คล้ายคลึงกับ SARS-CoV2 ร้อยละ 96.2 ด้วยการแพร่ระบาดครั้งนี้ทำให้โรงงานอุตสาหกรรมอาหารทั่วโลกต้องทำแผนรับมือการระบาดของเชื้อไวรัสดังกล่าวโดยจัดเป็นโครงสร้างพื้นฐานของระบบสุขภาพ เริ่มตั้งแต่กำหนดวิธีการและขั้นตอนการคัดกรองการติดเชื้อในผู้ปฏิบัติงานก่อนเข้าปฏิบัติงานจนถึงกระบวนการผลิตทุกขั้นตอน เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 มายังผลิตภัณฑ์อาหาร และลดความเสี่ยงการแพร่ระบาดไปยังผู้บริโภค (Aday and Aday, 2020)

1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในอาหาร

การที่จุลินทรีย์จะเจริญในอาหารได้นั้นต้องมีปัจจัยที่กระตุ้นการเจริญ เช่น แหล่งสารอาหาร ค่า pH ค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity; a_w) การถ่ายเทอิเล็กทรอนิกส์ของอาหาร สารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหาร อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และการเก็บรักษาอาหารด้วยวิธีการดัดแปลงบรรยากาศ โดยทั่วไปลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ (growth curve) จะแบ่งออกเป็น 4 ระยะตามภาพที่ 1 โดยมีรายละเอียดแต่ละระยะการเจริญดังนี้ (ธารารัตน์ ชีตตอฟ, 2558)



ภาพที่ 1 ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์
ที่มา : Hogg (2013)

1) lag phase (ระยะพัก) เป็นระยะแรกที่จุลินทรีย์เริ่มพบกับอาหารและสิ่งแวดล้อมใหม่ จุลินทรีย์จะปรับตัวให้เข้ากับอาหารและสิ่งแวดล้อมนั้น มีการสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสม รวมถึงสร้างโปรตีนและส่วนประกอบอื่น ๆ ที่สำคัญของเซลล์ ตอนระยะท้าย ๆ ของระยะนี้ เซลล์อาจจะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมเล็กน้อย และพร้อมที่จะแบ่งตัว ระยะ lag นี้ อาจจะยาวนาน แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในกระบวนการแปรรูปอาหารจะพยายามยืดช่วงระยะ การเจริญนี้ไปให้นานที่สุดเพื่อที่จะชะลอการใช้สารอาหารสำหรับการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ ให้มากที่สุด เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ

2) exponential หรือ logarithmic หรือ log phase (ระยะแบ่งตัวทวีคูณ) เป็นระยะ ที่จุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้กราฟการเจริญ มีลักษณะชัน

3) stationary phase (ระยะคงจำนวนเซลล์) เป็นระยะที่เซลล์คงที่ อัตราเกิดเท่ากับ อัตราตาย การที่แบคทีเรียเจริญแล้วเข้าสู่ระยะ stationary นี้เพราะสารอาหารใกล้จะหมดลง จุลินทรีย์เจริญช้าลง นอกจากนี้ของเสียที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เองด้วย

4) death phase หรือ decline phase (ระยะเซลล์ตาย) ระยะนี้มีสารพิษสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก สารอาหารเริ่มหมดลง ทำให้จุลินทรีย์ตายมากขึ้น ทำให้กราฟการเจริญมีลักษณะโค้งต่ำลง

จากที่กล่าวมาข้างต้น จุลินทรีย์จะเจริญหรืออยู่รอดได้นั้นจะต้องมีปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นนักจุลชีววิทยาทางอาหารจะใช้หลักการดังกล่าวในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร ดังมีรายละเอียดแต่ละปัจจัยดังนี้

1.5.1 ปัจจัยภายใน (intrinsic factors)

ปัจจัยภายในเป็นสภาพแวดล้อมทางกายภาพและทางเคมีในอาหารที่มีความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์โดยตรง ซึ่งมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนี้ (วิภู ชูศรี, 2563; สมณทนา วัฒนสินธุ์, 2545)

1) สารอาหาร ได้แก่ แหล่งคาร์บอน (คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน มีองค์ประกอบของธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นธาตุหลัก) แหล่งไนโตรเจน (กรดอะมิโนและยูเรีย จากโครงสร้างของโปรตีน มีบทบาทในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม) แหล่งวิตามิน (เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ทำหน้าที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์) แหล่งเกลือแร่ (ช่วยรักษาสมดุลของสารละลายภายในและภายนอกเซลล์ให้เป็นปกติ ช่วยให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์เป็นปกติ) จุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงสารอาหารด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ ส่งผลให้อาหารมีคุณลักษณะเปลี่ยนแปลงไป เช่น เกิดกลิ่นรสและลักษณะเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่ดี เนื่องจากการสลายตัวหรือการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์หลายชนิด ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียได้ ดังนั้น จึงควบคุมจุลินทรีย์ไม่ให้ปนเปื้อนมายังอาหาร หรือกำจัดจุลินทรีย์ให้มีปริมาณลดลง เพื่อให้อาหารมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

2) น้ำในอาหาร รูปแบบของน้ำในอาหารแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ 1) น้ำที่ถูกยึดไว้ด้วยพันธะทางเคมีอย่างแข็งแรงภายในอาหาร เรียกว่า bound water 2) น้ำที่เกาะอยู่กับโครงสร้างอาหารอย่างหลวม ๆ เรียกว่า free water หรือน้ำอิสระ ซึ่งน้ำอิสระนี้จุลินทรีย์นำมาใช้ในกิจกรรมของเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต และวัดออกมาเป็น ค่า water activity (a_w)

ที่จุลินทรีย์แต่ละประเภทมีความสามารถในการเจริญในสภาวะที่มีค่า a_w แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) โดยทั่วไปแบคทีเรียมีความต้องการ a_w สูงกว่าเชื้อราและยีสต์ กรณีแบคทีเรียแกรมลบต้องการ a_w สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียส่วนใหญ่จะเจริญไม่ได้ ถ้า a_w ต่ำกว่า 0.90 ส่วนเชื้อราที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียจะเจริญในสภาวะที่อาหารมีค่า a_w 0.80 นอกจากนี้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Staphylococcus aureus* เจริญในสภาวะที่มีค่า a_w ต่ำสุด คือ 0.86

สูตรในการคำนวณค่า a_w คือ

$$a_w = \frac{\text{ความดันไอของน้ำในอาหาร}}{\text{ความดันไอของน้ำบริสุทธิ์}}$$

โดยปกติแล้วค่า a_w ของน้ำบริสุทธิ์จะเท่ากับ 1

การควบคุมปริมาณน้ำอิสระในอาหารได้หลายวิธี ได้แก่ 1) การเติมสารที่มีคุณสมบัติที่ชอบน้ำ เช่น การเติมผงวุ้น (agar) ผงวุ้นจะทำหน้าที่ลดปริมาณน้ำอิสระในอาหาร ส่งผลให้จุลินทรีย์เจริญช้าลง 2) การเติมเกลือหรือน้ำตาล สารเหล่านี้จะดึงน้ำอิสระมาละลายโมเลกุลของตัวเอง ทำให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระลดลง และ 3) การแช่แข็งทำให้น้ำอิสระเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นผลึกน้ำแข็ง ส่งผลให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงขึ้น และปริมาณน้ำอิสระในอาหารลดลง

ตารางที่ 1 สภาวะค่า a_w ต่ำสุดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหารที่จะเจริญได้

จุลินทรีย์	a_w	จุลินทรีย์	a_w
แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียทั่วไป	0.90	Osmophilic yeasts	0.61
ยีสต์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียทั่วไป	0.88	<i>Candida scottii</i>	0.92
ราที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียทั่วไป	0.80	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Clostridium botulinum</i> , Type E	0.97	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Geotrichum candidum</i>	Ca. 0.90
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Trichothecium</i> spp.	Ca. 0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Byssoschlamys nivea</i>	Ca. 0.87
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Clostridium botulinum</i> , Type A, B	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Eurotium repens</i>	0.72
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Aspergillus glaucus</i>	0.70
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
Halophilic bacteria	0.75	<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61
Xerophilic molds	0.61		

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jay et al. (2008)