บทที่ 2
ทฤษฎีและวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ปัจจุบันได้มีความสนใจด้านความปลอดภัย และคุณภาพของอาหารทางด้านสุขาภิบาลกันมากขึ้น ซึ่งปัญหาที่สำคัญสำหรับความปลอดภัยของผู้บริโภค คือ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ แต่การตรวจสอบจุลินทรีย์ที่เป็นพิษในอาหารโดยตรง จะเสียเวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงนิยมใช้การตรวจสอบจุลินทรีย์ที่เป็นตัวชี้ทั้งคุณภาพอาหาร (Indicator microorganism) ซึ่งจุลินทรีย์ที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพอาหารได้นั้น ต้องมีคุณสมบัติ ดังนี้ คือ

1. มีแหล่งที่อยู่เดียวกับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
2. มีจำนวนแปรผันตามจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
3. สามารถมีชีวิตอยู่ในธรรมชาติได้นานกว่าจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรค
4. ไม่ควรพบในน้ำหรืออาหารบริสุทธิ์
5. ตรวจสอบได้ง่าย และรวดเร็ว

จุลินทรีย์ที่นิยมใช้เป็นตัวชี้ถึงคุณภาพอาหาร ได้แก่ โคลิฟอร์ม (Coliform) พีคอลสเตรปโตคอคไค (Fecal streptococci) เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี (Enterobacteriaceae) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total count) (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539 : 113)

2.1.1 โคลิฟอร์มแบคทีเรีย

คุณสมบัติของแบคทีเรียชี้แนะที่ดี (สุมาลี เหลืองสกุล, 2539 : 45 - 46)

1. เมื่อพบแบคทีเรีย ที่ทำให้เกิดโรคอยู่ในน้ำ จะต้องพบแบคทีเรียชี้แนะอยู่ในน้ำด้วย
2. มีจำนวนแปรผันตามจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
3. สามารถมีชีวิตอยู่ในธรรมชาติได้นานกว่าจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรค
4. ไม่ควรมีในน้ำบริสุทธิ์
5. วิธีการตรวจวิเคราะห์ไม่ยุ่งยาก

โคลิฟอร์มสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามแหล่งที่มา คือ

1. ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคน และสัตว์เลือดอุ่นไม่เป็นอันตรายกับสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ และจะปะปนออกมากับอุจจาระ ดังนั้นถ้ามีการปะปนของอุจจาระจะต้องตรวจพบแบคทีเรียพวกนี้จึงเป็นตัวชี้บอกถึงคุณภาพได้ทางอ้อม คือ ถ้าพบแบคทีเรียพวกนี้แสดงว่ามีอุจจาระปะปนอยู่ ซึ่งในอุจจาระนั้นอาจมีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอยู่ด้วย แบคทีเรียชนิดนี้สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสที่อุณหภูมิ 44.5±0.2 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล Escherichia

2. นอนฟีคัลโคลิฟอร์ม (Nonfecal coliform) เป็นพวกที่อาศัยอยู่ในดิน และพืชเป็นส่วนใหญ่ การตรวจพบจะชี้ถึงอันตรายได้น้อยกว่าพวกแรก แต่ก็ใช้เป็นตัวชี้ถึงความไม่สะอาดได้เช่นกัน เช่น เอ แอโรจิเนส *(A. aerogenes)* (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539 : 114)

2.1.2 คุณสมบัติของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย มีดังนี้

1. รูปร่างเป็นท่อนเล็ก ๆ (Red shape) ไม่มีสปอร์ (Non-spo forming)
2. ย้อมสีแกรมไม่ติด เป็นพวกแกรมลบ (Gram negative)
3. สามารถย่อยพวกแลคโตส (Lactose) ให้เกิดกรดและก๊าซ เมื่อเอาไปอบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง หรือ 48 ชั่วโมง
4. สามารถเจริญเติบโตได้ในสถานที่มีอากาศ (Aerobic) และไม่มีอากาศ (Anaerobic) จึงนับแบคทีเรียพวกนี้เป็นแฟคคัลเตตีฟ (Facul tative anaerobes)
5. สามารถทำให้เกิดก๊าซจากอาหารเหลวบริลเลียน กรีนแลคโตส ไบล์บรอซ (Briliant green lactose bile broth) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 48 ชั่วโมง หรือเร็วกว่านั้น
6. สามารถเจริญเติบโตในอาหารแข็ง อีเอ็มบี (EMB: Eosine Methylene Blue agar) ที่ 35 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง

นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังมีความสำคัญในการทำให้อาหารเน่าเสียอีกด้วย สมบัติบางอย่างที่ทำให้แบคทีเรียพวกนี้มีความสำคัญในการทำให้อาหารเสีย คือ

1. มีความสามารถในการใช้อาหารได้กว้างขวาง
2. มีความสามารถในการสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็น
3. เติบโตได้ดีในอุณหภูมิช่วงกว้าง 10 - 46 องศาเซลเซียส
4. สามารถผลิตกรด หรือกลิ่นไม่สะอาด
5. ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดีหรือกลิ่นไม่สะอาด
6. ความสามารถของ Enterobacter aerogenes ในการทำให้เกิดเมือกในอาหาร

2.1.3 น้ำหวาน (Soft sweets)

น้ำหวาน หมายถึง การนำน้ำตาลซูโครสหรือน้ำตาลทรายนำมาผสมกับน้ำในสัดส่วนที่เหมาะสม แล้วนำมาให้ความร้อน จนน้ำตาลซูโครส หรือน้ำตาลทรายละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำจนได้รสชาติที่เข้มข้นขึ้น ซึ่งน้ำหวานจะมีคุณสมบัติช่วยให้ดับกระหาย คลายร้อน เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง อีกทั้งยังมีวิตามิน เกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามินเอ ซี และอี และมีคุณสมบัติช่วยป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพ (กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2541 : 9)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมพร ศรียศชาติ (2520 : 5) ได้ศึกษาถึงเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียและเชื้อโรคอื่นๆ จากอาหารจำหน่ายในเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบว่า จากตัวอย่างอาหาร 31 ชนิด 76 ตัวอย่างพบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 73.68%, *S. aureus* 14.43%, *E. coli* 68.42% และพบ *V. parahaemolyticus* 25% ในอาหารทะเล

ณรงค์ ณ เชียงใหม่ และคณะ (2520 : 5) ได้ทำการศึกษาถึงอุบัติการของเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำดื่มและภาชนะของร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มภายในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ พบว่า ร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มภายในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ ทั้งร้านที่ได้รับการอบรมกับร้านซึ่งยังไม่เคยอบรมให้มีความรู้เรื่องการสุขาภิบาลอาหารด้านโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่มีความแตกต่างกันเลย และตัวอย่างน้ำดื่มที่เก็บมาตรวจทั้งหมด 100 ตัวอย่าง พบว่า มีเพียง 16 ตัวอย่างเท่านั้นที่ได้มาตรฐาน Standard plate count นอกจากนั้นต่ำกว่า มาตรฐานและพบว่าการวิเคราะห์หาค่า MPN นั้นมีเพียงร้อยละ 8 เท่านั้นที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนการตรวจเพื่อหาจุลินทรีย์พบว่า ร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ พบ *E. coli* ถึง 39 ร้าน นอกนั้นพบ Klelosiella 35 ร้าน, Proteus 1 ร้าน, Aerobactor 17 ร้าน และจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีก 10 ร้าน

พวงพร โชติกไกร (2523 : 5) ได้ตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่ม ซึ่งผสมผลไม้สดที่จำหน่ายในบริเวณมหาวิทยาลัยรามคำแหง โดยการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม รวมทั้งตรวจสอบหา *Staphylococus aureus, Faecal streptococci, Salmonella sp.* และ *Shigella sp.* พบว่าสามารถแบ่งเครื่องดื่มซึ่งผสมผลไม้สดทั้ง 10 ชนิด ที่ทำการตรวจสอบออกได้เป็น 3 พวก พวกแรก มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับต่ำสุด ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมกล้วยหอม พวกที่สอง มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับกลาง ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมมะเขือเทศและองุ่น พวกที่สาม มีค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับสูง ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมมะนาว สับปะรด มะพร้าว ส้ม ละมุด แตงโม และขนุน เครื่องดื่มซึ่งผสมผลไม้สดทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ มีแบคทีเรียพวก *Faecal streptococci, Salmonella* sp. และ *Shigella* sp. ส่วน *Staphylococcus aureus* จะตรวจพบเฉพาะในเครื่องดื่ม ซึ่งผสมมะพร้าว แตงโมและขนุน

และจากการศึกษาของ สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคณะ (2523 : 5) จึงได้ศึกษาถึงการแพร่กระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในอาหารพบว่า จากตัวอย่างอาหารปรุงสำเร็จ 286 ตัวอย่างตรวจพบ *S. aureus* คิดเป็น 23.4% โดยคิดเป็นอัตราการแพร่กระจาย ซึ่งตรวจพบในปริมาณ 100 - 1,000 CFU/g 62.7%, 1,000-10,000 CFU/g 20.9% และมากกว่า 10,000 CFU/g 14.9%

ธาธีรัตน์ กะลัมพะเหติ และคณะ (2525 : 6) ได้ตรวจสอบความสะอาดของอาหาร เครื่องดื่ม ภาชนะของโรงอาหารคณะต่าง ๆ ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 7 คณะ โดยทำการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total aerobic plate count และตรวจนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียด้วยวิธี MPN (Most Probable Number method) ซึ่งจากการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ตรวจพบในเครื่องดื่มอยู่ในช่วง 2.0×10^3 ถึง 1.8×10^6 เซลล์ต่อ เครื่องมือ 1 มิลลิลิตร ซึ่งไม่มีตัวอย่างใดเลยที่ได้มาตรฐานตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 36 ปี พ.ศ. 2520 เรื่องกำหนดน้ำบริโภคและเครื่องดื่มเป็นอาหารควบคุม จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในอาหารอยู่ในช่วง 1.1×10^7 - 1.1×10^8 CFU/g และจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในช่วง 0 - มากกว่า 240 CFU/g ส่วน จุลินทรีย์บนภาชนะจากร้านค้าเหล่านี้อยู่ในช่วง 8.0×10^2 ถึง 2.2×10^6 และตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 32 ร้านค้า จากที่ตรวจทั้งหมด 41 ร้านค้า ภาชนะจากทุกร้านไม่มีร้านค้าใดสะอาดได้มาตรฐาน "Ordinance and Code Regulating Eating and Drinking Establishment" ที่กำหนดให้มีจุลินทรีย์ได้ไม่เกิน 100 ตัว บนภาชนะ (เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร และอรุณศรี ลีจีรจำเนียร, 2532 : 5-6)

พัทชลี ตันยะกุล และสุริพร แสงจันทร์ (2543 : 9) ได้ตรวจสอบคุณภาพน้ำผลไม้และน้ำหวานภายในสถาบันราชภัฏสงขลา โดยวิธีการทางจุลชีววิทยาด้านแบคทีเรียโคลิฟอร์มโดยการสุ่มตัวอย่างน้ำผลไม้และน้ำหวานจากโรงอาหารทั้งหมด 4 จุดบริการ ทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร Lauryl tryptose broth เพื่อดูการใช้น้ำตาลแลคโตส พบว่า การเกิดก๊าซและกรดในน้ำพุทรา น้ำลำใย น้ำลิ้นจี่ น้ำมะพร้าว น้ำชาเย็น น้ำโอเลี้ยง น้ำกระเจี๊ยบ น้ำเก๊กฮวย น้ำชาดำเย็น และน้ำสับปะรด จะเกิดการหมัก น้ำตาลแลคโตสแสดงว่ามีแบคทีเรียโคลิฟอร์มปนเปื้อนอยู่ ส่วนน้ำมะนาว น้ำชามะนาว น้ำระกำ และน้ำส้ม จะไม่เกิดการหมักน้ำตาลแลคโตสแสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาทำการเปรียบเทียบกับมาตรฐานทางจุลินทรีย์ พบว่า ค่า MPN ที่ได้มีค่าตั้งแต่น้อยกว่า 2 ถึงมากกว่า 1,609 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและจากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 80 ตัวอย่าง พบว่า 52 ตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน และมี 28 ตัวอย่างที่ได้มาตรฐาน

2.3 แหล่งของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนสู่อาหาร

1. น้ำ

นักจุลชีววิทยาทางอาหารสนใจเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในน้ำ ทั้งทางด้านสาธารณสุขและด้านเศรษฐกิจ สำหรับด้านสาธารณสุขนั้น น้ำที่ใช้ประกอบอาหารจะต้องปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค เช่น ปราศจากเชื้อโรค การตรวจสอบคุณภาพน้ำ มักตรวจหาแบคทีเรียที่เป็นดรรชนี คือ แบคทีเรียโคลิฟอร์ม และตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด เมื่อน้ำมีปัญหาด้านคุณภาพทางสุขาภิบาลก็จะเติมคลอรีน โดยให้มีปริมาณคลอรีนสุดท้ายตั้งแต่ 0.025-2 ส่วนในน้ำล้านส่วน ทั้งนี้ขึ้นกับส่วนประกอบของน้ำและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ส่วนทางด้านเศรษฐกิจน้ำที่จะนำมาใช้กับอาหารจะต้องมีลักษณะทางเคมีและทางแบคทีเรีย เช่น สี กลิ่น รส ความใส ส่วนประกอบทางเคมี จำนวนแบคทีเรียตามต้องการ

น้ำอาจทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนไปในอาหารได้หลายทาง เช่น การใช้น้ำเป็นส่วนประกอบของอาหาร การใช้น้ำล้างอาหาร การใช้น้ำทิ้งซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการมารดผัก ซึ่งมักพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร การใช้น้ำในระบบการทำน้ำเย็นในโรงเรียนอาหารกระป๋อง ซึ่งมักจะพบพวกแบคทีเรียโคลิฟอร์มและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะเข้าไปในอาหารกระป๋องระหว่างการทำให้เย็นโดยผ่านตะเข็บกระป๋องที่มีรอยรั่ว ดังนั้นในน้ำนี้จึงมักเติมคลอรีนลงไป แต่ก็ยังมีจุลินทรีย์บางพวกที่สามารถทนคลอรีนได้ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียมีหลายชนิด เช่น *Alcaligenes Viscolactis* และ *Enterobacter aerogenes* ซึ่งทำให้นมเป็นเมือกเหนียว *Pseudomonas Alcaligenes Achromobacter* เป็นสายพันธุ์ที่สร้างเมือก ซึ่งเป็นปัญหาในการทำเนยแข็ง หรือ *Pseudomonas putrefaciens* ซึ่งเป็นปัญหาในการทำเนยเหลว จุลินทรีย์เหล่านี้ล้วนมาจากน้ำ การใช้น้ำแข็งในการถนอมอาหาร เช่น อาหารทะเล มักมีจุลินทรีย์พวกที่เติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas Alcaligenes Flavobacterium* ปนเปื้อน นอกจากนี้จุลินทรีย์ในน้ำอาจติดไปกับปลา ปู กุ้ง หอย ที่อาศัยในน้ำนั้น ๆ โดยอาจติดไปกับบริเวณผิว หรือทางเดินอาหาร

จุลินทรีย์ที่พบในน้ำ นอกจากจะเป็นพวกที่อาศัยอยู่ในน้ำโดยตรงแล้ว ยังมีพวกที่มาจากดิน จากน้ำทิ้ง และอื่น ๆ อีกด้วย จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำมีตั้งแต่สองสามร้อยถึงหลาย ๆ ร้อยเซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับชนิดจุลินทรีย์ที่พบในน้ำธรรมชาติ ส่วนใหญ่ ได้แก่ *Pseudomonas Chromobacterium Proteus Micrococcus Bacillus Streptococcus Enterobacter* และ *Escherichia* ซึ่งสามสกุลสุดท้ายมักเป็นพวกที่ปนเปื้อนสู่น้ำมากกว่าเป็นพวกที่อยู่ในน้ำโดยตรง

ดังนั้นในการตั้งโรงงานอาหาร จึงจำเป็นต้องเลือกแหล่งน้ำที่ดี และจำเป็นต้องมีการทำให้น้ำมีคุณภาพทางเคมีและทางแบคทีเรียตามต้องการ เช่น อาจมีการตกตะกอน การกรอง การเติมคลอรีน การใช้รังสีอัลตราไวโอเลต หรือการต้ม

2. ดิน

ในดินมีจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด และมีเป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์ที่พบในดินมีทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ แบคทีเรียที่พบในดินมาก ได้แก่ *Pseudomonas Achromobacter Flavobacterium Micrococcus Sarcina Alcaligenes Proteus Bacillus Clostridium* ส่วนรามีอยู่ในดินในปริมาณน้อยกว่าแบคทีเรีย ราที่พบในดินมีด้วยกันมากมาย เช่น *Aspergillus Botrytis Monilia Cephalosporium Alternaria Mucor Rhizopus Penicillium Trichothecium Cladosporium Eusarium* สำหรับยีสต์ที่แยกได้จากดิน *Penicillium Trichothecium Cladosporium Eusarium* สำหรับยีสต์ที่แยกได้จากดิน ได้แก่ *Candida Cryptococcus Pichia Saccharomyces Trichosporon Debaryomyces Hansenula Rhodotorula*

จุลินทรีย์ในดิน อาจปนเปื้อนไปในอาหารได้โดยติดไปกับพืชผักที่ปลูกในดินนั้น ๆ ผิวหนังสัตว์ที่อาศัยอยู่บนดิน ดินที่แห้งกลายเป็นฝุ่นละอองถูกพัดพาไปโดยกระแสลม เศษดินที่ติดไปกับน้ำ (วิลาวัณย์ เจริญจิระดระกูล, 2539 : 4-5)

3. การปนเปื้อนจากอากาศ

การปนเปื้อนจากอากาศมีความสำคัญมากในด้านการสุขาภิบาล และทางเศรษฐกิจ ลมช่วยแพร่กระจายเชื้อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคในระบบทางเดินหายใจและจะนำเชื้อโรคเข้าไปปนเปื้อนในอาหาร ทำให้มีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียมักติดมากับอากาศและเข้าไปรบกวนกระบวนการหมักดองในอาหาร สปอร์ของราจากอากาศมักเป็นสาเหตุให้เนยแข็ง นมข้นหวาน ขนมปังที่หั่นแล้วและเบคอนเสียได้

จุลินทรีย์ในอากาศไม่ใช่ที่อยู่ที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์จะเกาะติดไปกับฝุ่นละอองจากดิน ละอองน้ำจากแม่น้ำ ลำคลอง มหาสมุทร และละอองความชื้นในอากาศ ละอองน้ำลายจากการไอ จาม การพูด และจะไปเกาะดินกับผนังห้อง พื้นห้องเฟอร์นิเจอร์ต่าง ๆ ดังนั้นอากาศภายในโรงงาน ผลิตยีสต์ก็จะพบว่ามียีสต์เต็มไปหมด เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่อยู่ในอากาศมักจะเป็นพวกที่มีความทนทานต่อความแห้งได้ดี เช่น สปอร์ของราซึ่งมีขนาดเล็ก เบา ทนต่อความแห้งได้ดีและมีจำนวนมาก แบคทีเรียแทบทุกชนิดสามารถปนเปื้อนอยู่ในอากาศได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอนุภาคของฝุ่น ในละอองความชื้นแบคทีเรียรูปร่างกลมจะพบได้มากกว่าพวกที่เป็นท่อน และยังพบยีสต์โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีสต์ชนิดที่มีสี ไม่สร้างสปอร์อยู่ในอากาศเสมอ

จำนวนของจุลินทรีย์ในอากาศในระยะเวลาใดเวลาหนึ่งนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น กระแสลม แสงแดด ความชื้น สถานที่และปริมาณของฝุ่นละออง จำนวนอาจผันแปรไปตั้งแต่ 1 เซลล์ต่อลูกบาศก์ฟุตที่บนยอดเขา จนถึงพันเซลล์ต่อลูกบาศก์ฟุตในบริเวณที่มีฝุ่นหนาแน่น ถ้ามีลมจุลินทรีย์ที่อยู่ในฝุ่นละอองก็จะตกลงสู่พื้นแต่ถ้ามีกระแสลมก็จะพัดพาเอาจุลินทรีย์ในฝุ่นละอองขึ้นไปในอากาศอีก ดังนั้น จุลินทรีย์ในอากาศจึงมีจำนวนเพิ่มขึ้น เมื่อเกิดกระแสลม โดยการเคลื่อนที่ของกลุ่มชน โดยการระบายอากาศและโดยการหายใจ

แสงแดดสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้โดยตรง จึงช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ในอากาศได้ อากาศแห้งมักมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าอากาศชื้น ฝนและหิมะจะช่วยในการพาจุลินทรีย์ออกไปจากอากาศ

จุลินทรีย์ในอากาศจะลดน้อยลงไปเองโดยธรรมชาติ โดยการตกตะกอน การถูกแสงแดดและการชะล้างของฝน หรือหิมะ การขจัดจุลินทรีย์ในอากาศทำได้โดยการกรอง การใช้สารเคมี ความร้อนและการตกตะกอนด้วยกระแสไฟฟ้า วิธีที่ใช้กันมากที่สุด คือ การกรองผ่านเส้นใย เช่น สำลี ไฟเบอร์กลาส (Fiberglass) แอสเบสทอส (Asbestos) เป็นต้น สำลีที่ใช้ต้องฆ่าเชื้อก่อนโดยใช้ความร้อนหรือก๊าซแต่ถ้าสำลีเปียกก็จะหมดประสิทธิภาพในการกรอง การใช้สารเคมีเป็นที่นิยมกันมากขึ้น แต่อาจแพงและเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ได้ การฉายรังสีฆ่าเชื้อในอากาศทำได้ในบริเวณที่จำกัดและค่อนข้างอันตราย การทำให้ฝุ่นตกตะกอนโดยการใช้กระแสไฟฟ้าก็ได้ผลดีและการให้ความร้อนก็ให้ผลดีเช่นกัน แต่เสียค่าใช้จ่ายแพงกว่า และหลังจากที่จุลินทรีย์ถูกกำจัดไปแล้ว ก็ต้องระวังการปนเปื้อนใหม่อีก (สุมาลี เหลืองสกุล, 2539 : 58 - 59)

4. น้ำเสีย

การใช้น้ำเสียจากบ้านเรือนไปเป็นปุ๋ยแก่พืช จะทำให้พืชผักเหล่านั้นปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดยเฉพาะโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารและเมื่อน้ำเสียที่ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำในธรรมชาติ จะทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้ปนเปื้อนสู่สิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำนั้น ๆ เช่น ปลา ปู กุ้ง หอย ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสียมีทั้งพวกที่ทำให้เกิดโรค แบคทีเรียโคลิฟอร์ม เอนเทอโรคอคไค พวกแบคทีเรียในลำไส้

5. พืชผักผลไม้

จุลินทรีย์ที่พบในพืช ผัก ผลไม้แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปจะพบแบคทีเรียพวก *Pseudomonas Alcaligenes Elavobacterium Micrococcus Bacillus* แบคทีเรียแลกติก เช่น *Lactobacillus brevis L. plantarum Leuconostoc mesenteroides L. dextranicum Streptococcus faecium S. faecalis Pediococcus* และโคลิฟอร์ม เชื้อราที่พบมักเป็นพวกที่ทำให้พืชผัก ผลไม้เน่าเสีย เช่น *Botrytis Geotrichum Rhizopus Alternaria Penicillium Trichothecium Aspergillus Cladosporium* ส่วนยีสต์ที่มักพบ ได้แก่ *Saccharomyces Rhodotorula Torulopsis*

สำหรับจำนวนแบคทีเรียที่พบในพืช ผัก ผลไม้ ขึ้นกับชนิดของพืช ผัก ผลไม้ และสิ่งแวดล้อม จุลินทรีย์ที่พบอยู่บริเวณผิวของพืช ผัก ผลไม้มาจากดิน อากาศ น้ำ น้ำเสีย จุลินทรีย์ที่ผิวนอกจะมีจำนวนมากกว่าด้านใน จำนวนจุลินทรีย์ที่พบมีตั้งแต่สองร้อยสามร้อย หรือพันเซลล์จนถึงล้านเซลล์ต่อตารางเซนติเมตร การล้างทำความสะอาดช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้

6. สัตว์

แหล่งของจุลินทรีย์จากสัตว์ อาจมาจากจุลินทรีย์บริเวณผิว จุลินทรีย์ในระบบทางเดินหายใจ และจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณผิวหนัง ขนสัตว์ มาจากดิน อาหารสัตว์ น้ำ จุลินทรีย์เหล่านี้มีเป็นจำนวนมาก และมีความสำคัญในการทำให้เกิดการเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่มักพบบริเวณผิว ได้แก่ *Micrococcus Staphylococcus Streptococcus* ส่วนจุลินทรีย์ที่พบในอุจจาระสัตว์ส่วนใหญ่เป็นพวกเอนเทอริกแบคทีเรีย เช่น *Salmonella* ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้อาจปนเปื้อนไปในเนื้อไข่ หรือผลิตภัณฑ์ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนไปกับไข่สามารถลดได้โดยการพาสเจอไรส์ผลิตภัณฑ์จากไข่นั้น ๆ

เชื้อโรคจากสัตว์เป็นจำนวนมากสามารถถ่ายทอดไปสู่คนโดยทางอาหาร เช่น *Mycobacterium tuberculosis Coxiella Listeria Campylobacter Brucella Salmonella Escherichia coli* บีตา-ฮีโมไลติก สะเตรปโตคอดไค โดยอาจติดไปทางเนื้อสัตว์ นมหรือไข่

7. การจำหน่ายและการผลิต

ในระหว่างการจำหน่ายและการผลิตอาจทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สู่อาหารได้ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจมาจากเครื่องมือเครื่องใช้ที่สัมผัสกับอาหารภาชนะบรรจุ หรือจากคนที่เกี่ยวข้องในระหว่างการผลิต นอกจากเป็นสาเหตุให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บริเวณผิวอาหารออกไป แต่ถ้าหากใช้น้ำไม่สะอาดจะเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ลงในอาหาร การใช้รังสี สารเคมี หรือความร้อนในระหว่างการผลิต ก็เป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารลง (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539 : 4 – 7)

2.4 ประเภทของเครื่องดื่ม

เครื่องดื่มแบ่งออกได้ 5 ประเภท คือ

1. เครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ ได้มาจากการคั้นผลไม้ เช่น น้ำส้มคั้น (ส้มเขียวหวานหรือส้มเกลี้ยง) น้ำสับปะรด น้ำมะนาว น้ำมะเขือเทศ ฯลฯ มีคุณค่าทางโภชนาการมากให้วิตามินซี ซึ่งป้องกันเลือดออกตามไรฟัน ช่วยในการรักษาแผล ให้เกลือแร่หลายชนิด น้ำผลไม้ไม่มีการเติมน้ำตาลก็จะให้พลังงานน้อย คงมีแต่น้ำตาลในผลไม้เล็กน้อยเท่านั้นไม่ทำให้อ้วน ถ้าเติมน้ำตาลก็จะให้พลังงานเพิ่มขึ้น ยิ่งคั้นสด ๆ ได้เท่าไรก็ยิ่งดี

น้ำผลไม้กระป๋อง บรรจุขวด มีคุณค่าสู้ชนิดสดไม่ได้ เพราะการบรรจุต้องใช้ความร้อนทำลายจุลินทรีย์ และความร้อนนี้จะทำลายวิตามินซี ให้เสียไปไม่มากก็น้อย

2. เครื่องดื่มประเภทน้ำนม ได้แก่ นมวัวสด นมผสมจากนมผง หรือนมผสมจากนมข้นจืดเพื่อให้มีส่วนประกอบคล้ายนมสด หรือ นมผสมที่มีการปรุงแต่ง กลิ่น รส ด้วยการเติมโกโก้ โอวัลติน ฯลฯ และน้ำตาล เครื่องดื่มประเภทนี้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ให้โปรตีนบำรุงกล้ามเนื้อ เลือด ฯลฯ ให้แคลเซียมบำรุงกระดูก ให้วิตามินเอ สร้างความเจริญเติบโตและบำรุงสายตา และให้วิตามินบี 2 ป้องกันโรคปากนกกระจอก

นมถั่วเหลือง ได้แก่ น้ำเต้าหู้ที่ต้มขายร้อน ๆ หรือบรรจุขวดแช่เย็น หรือไม่แช่เย็น มีคุณค่าไม่เท่ากับนมวัวสด แต่ก็นับว่าเป็นแหล่งให้โปรตีนที่ดีพอใช้ เหมาะสำหรับเด็ก และชุมชนที่ขาดแคลนอาหารโปรตีน

โกโก้และโอวัลติน ถ้าใช้นมวัวสด หรือนมผสมจากนมผง หรือนมข้นจืดเป็นพื้นฐาน จะมีประโยชน์มาก เพราะโกโก้และโอวัลตินให้คุณค่าทางโภชนาการน้อย เป็นเพียงตัวปรุงแต่งกลิ่นรสเท่านั้น ถ้าจะลดน้ำหนักหรือลดความอ้วน ไม่ควรเติมน้ำตาล ที่ชงขายกันทั่วไปมักใช้นมข้นหวานเป็นพื้น ทำให้ได้น้ำตาลมากแต่นมน้อย ได้แต่พลังงานมาจากน้ำตาลเท่านั้น

3. เครื่องดื่มประเภทน้ำชากาแฟ ถ้าไม่ใส่นม ไม่ใส่น้ำตาล ก็จะได้แต่น้ำอย่างเดียวที่ชงขายกันทั่วไปได้รับประโยชน์จากโปรตีน เกลือแร่ และวิตามินน้อยมาก ได้แต่พลังงานจากน้ำตาลเสียมากกว่า

4. เครื่องดื่มประเภทน้ำหวานและน้ำอัดลม ประกอบด้วยน้ำ สารแต่งรสหวาน สารแต่งสีและกลิ่น ถ้ารสหวานเป็นน้ำตาลก็จะได้พลังงาน เครื่องดื่มขนาดบรรจุ 6 ออนซ์ จะมีน้ำตาลประมาณ 20 กรัม ให้พลังงานได้ 80 แคลอรี่ ถ้าสารแต่งกลิ่น รสและสีเป็นพวกผลไม้ ก็จะได้ประโยชน์อีกเล็กน้อยเท่านั้นถ้าสารแต่งรสหวานไม่ใช่น้ำตาลแต่เป็นพวกขัณฑสกร และสารแต่งกลิ่น รส และสีไม่ใช่น้ำผลไม้ เครื่องดื่มนั้นก็จะได้แต่น้ำเท่านั้น หากว่าสารแต่งรส กลิ่น สี เป็นสารที่ให้โทษ เครื่องดื่มนั้นก็สู้น้ำเปล่าไม่ได้

เครื่องดื่มประเภทบรรจุขวด และน้ำอัดลมบางชนิด เช่น พวกโคล่า ซึ่งมีอยู่หลายชนิดมักจะประกอบด้วยน้ำตาลไม้ (แต่งสี) เกลือกรดอินทรีย์ คาเฟอีน และน้ำตาล คุณค่าอาหารก็มีแต่ให้พลังงานเท่านั้น นอกจากนี้ยังกระตุ้นประสาท ทำให้นอนไม่หลับเพราะคาเฟอีนจะกระตุ้นให้กรดออกมากยิ่งขึ้น และการที่มีกรดอินทรีย์อยู่ด้วย อาจทำให้ฟันผุได้ ฉะนั้นเครื่องดื่มประเภทโคล่า จึงไม่เหมาะสมสำหรับเด็ก ๆ

สำหรับน้ำอัดลม มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อัดไว้ด้วยความดันสูง ไม่ทำให้คุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้นเลย แต่ช่วยให้รู้สึกซ่าลิ้นเป็นที่พอใจของผู้ดื่มเท่านั้น

5. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เบียร์ และเหล้าชนิดต่าง ๆ ถ้าดื่มเล็กน้อยอาจเป็นคุณบ้างแต่ถ้าดื่มมาก ๆ จะให้โทษ และถือว่าแอลกอฮอล์เป็นยาเสพติดให้โทษอย่างหนึ่งไม่มีความสำคัญทางโภชนาการ (บุญชู ศรีมุษิกโพธิ์, 2527 : 75-76)

ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ต้องตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยา มีดังนี้

1. เครื่องดื่มที่ควบคุมคุณภาพตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ เครื่องดื่มที่บรรจุในภาชนะปิดสนิท รวมทั้งเครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ ไม่ว่าจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม

2. เครื่องดื่มทั่วไป ซึ่งวิเคราะห์เป็นงานสำรวจวิจัยเป็นครั้งคราว หรือตามความต้องการหรือทำเป็นงานวิจัย ระยะยาวร่วมกับหน่วยงานอื่น ได้แก่ เครื่องดื่มหาบเร่ เครื่องดื่มตามร้านอาหารเครื่องดื่มจำหน่ายในโรงเรียน เครื่องดื่มจากด่านควบคุมโรคติดต่อระหว่างประเทศ เป็นต้น โดยวิเคราะห์ตามความเหมาะสม

เนื่องจากน้ำผลไม้ที่วางขายตามโรงอาหารภายในสถาบันราชภัฏสงขลา จัดอยู่ในประเภทเครื่องดื่มทั่วไป ซึ่งประกาศกระทรวงสาธารณสุขไม่ได้มีการกำหนดมาตรฐานไว้ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ใช้มาตรฐานของน้ำผลไม้ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 214)ปี พ.ศ. 2543 เรื่องเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ได้กำหนดมาตรฐานหรือคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำสะอาดไว้ดังนี้

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Standard plate count) ที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ต้องมีค่าไม่เกิน 500 โคโลนีต่อมิลลิลิตร
2. Most probable number of coliform organism ต่อ 100 มิลลิลิตร (MPN) ต้องน้อยกว่า 2.2
3. ต้องไม่มี *อี.โคไล (E.coli : Escherichia Coli)*
4. ไม่มี ยีสต์ (Yeast) และรา (เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร และอรุณศรี ลีจีรจำเนียร, 2536 : 12-13)

2.5 ส่วนประกอบของเครื่องดื่ม

เครื่องดื่มประกอบด้วยวัตถุดิบมากมายขึ้นกับชนิดของเครื่องดื่ม โดยทั่วไปจะมีน้ำเป็นวัตถุดิบที่สำคัญ นอกจากนี้ยังมีสารให้รส สารให้กลิ่นสี สารให้ความหนืด และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น ในที่นี้จะกล่าวถึงส่วนประกอบหลักในเครื่องดื่มบางชนิดเท่านั้น (ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2543 : 405 - 410)

1. น้ำ

น้ำเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในเครื่องดื่ม โดยเฉลี่ยจะมีน้ำอยู่ในเครื่องดื่มมากกว่า 85% น้ำจะทำหน้าที่เป็นตัวละลายสารประกอบอื่น ๆ ในเครื่องดื่ม เช่น น้ำตาล สี กลิ่น เป็นต้น น้ำที่นำมาใช้ในการผลิตเครื่องดื่มจะต้อง

เป็นน้ำที่มีคุณภาพดี คือ ไม่มีสีสารต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องดื่ม เช่น กลิ่น รส ความคงตัว และต้องไม่มีจุลินทรีย์ต่าง ๆ

น้ำที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มจะต้องมีคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด จึงต้องมีการนำน้ำไปผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ก่อนที่จะใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องดื่ม

ขั้นตอนในการผลิตน้ำสำหรับใช้ทำเครื่องดื่ม

1. การเติมคลอรีน เพื่อทำลายจุลินทรีย์ และสารอินทรีย์ที่ทำให้เกิดสี รส และกลิ่นในน้ำ มักเติมในรูปแคลเซียมไฮเปอร์คลอไรด์ 4 - 12 ppm

2. การตกตะกอน โดยทำให้สารที่ละลายได้ เช่น สี ความขุ่น เกิดการรวมตัวกับสารอื่นแล้วมีขนาดใหญ่ขึ้น มีความหนาแน่นมากขึ้น และตกตะกอนลงมาในที่สุด ทั้งนี้ต้องควบคุมสภาวะการตกตะกอนให้เหมาะสมด้วย เช่น การคนผสม อุณหภูมิการตกตะกอน pH เป็นต้น นิยมใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (หินปูน) และเฟอรัสซัลเฟต เป็นสารช่วยตกตะกอน

3. การลดความกระด้าง โดยการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมคลอไรด์ เติมลงในน้ำเพื่อกำจัดแคลเซียม และแมกนีเซียมไบคาร์บอเนต ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดความกระด้าง

4. การกรอง เพื่อแยกสารที่ละลายอยู่ในน้ำออก มักกรองโดยให้น้ำผ่านชั้นทราย ซึ่งมีขนาดต่างๆ ตั้งแต่หยาบไปจนถึงละเอียด และอาจมีการกรองด้วยผงถ่านอีกด้วย เพื่อกำจัดสีและกลิ่นรสที่ไม่ต้องการในน้ำผงถ่านที่ใช้มักเป็นคาร์บอนกัมมันต์ (Activated carbon) เปลี่ยนคลอรีนในน้ำให้เป็นคลอไรด์ไอออนจับอยู่ที่ผิวหน้าของคาร์บอนกัมมันต์ เป็นการกำจัดคลอรีน ก่อนนำน้ำใช้ในการผลิตเครื่องดื่ม

2. สารให้ความหวาน

ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มนิยมใช้น้ำตาลเป็นสารให้ความหวาน ซึ่งนอกจากจะให้รสชาติแก่เครื่องดื่มแล้ว ยังทำให้รสชาติกลมกล่อม ทำให้เกิดความหนืดหรือ Bodyในเครื่องดื่มและช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ชนิดของสารให้ความหวานแบ่งออกเป็น

สารให้ความหวานที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ คือ

1. น้ำตาลซูโครส (Sucrose) หรือน้ำตาลทราย เป็นสารให้ความหวานนิยมใช้กันมากที่สุด เมื่อละลายจะมีบางส่วนแตกร้าวเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสได้

2. ฟรุกโทส (Fructose) เป็นน้ำตาลที่พบมากในผลไม้ มีความหวานมากกว่าน้ำตาลจากธรรมชาติชนิดอื่น และผู้ป่วยโรคเบาหวานสามารถใช้น้ำตาลชนิดนี้ได้

3. High fructose corn syrup ประกอบด้วย ฟรุกโทส 42% และเดกซ์โทรส 51% ใช้เสริมความหวานกับสารให้ความหวานชนิดอื่นได้ดี เช่น แซ็กคาริน

สารให้ความหวานที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ ใช้ในเครื่องดื่มสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน หรือผู้ที่ต้องการลดความอ้วน สารให้ความหวานเหล่านี้ไม่ให้ Body แก่เครื่องดื่มเหมือนอย่างน้ำตาล จึงจำเป็นต้องเติม Bodying agent เช่น เพกทิน และ Carboxy Methyl Cellulose (CMC) สารให้ความหวานประเภทนี้นิยมใช้สำหรับเครื่องดื่มโดยเฉพาะน้ำอัดลม ได้แก่ แอสพาร์เทม (Aspartame) และแซ็กคาริน (Saccharin)

1. แอสพาร์เทม มีชื่อทางการค้าว่า Nutra sweet เป็นสารสังเคราะห์ Methyl ester ของ Dipeptide ซึ่งประกอบด้วย L-aspartic acid กับ L-phenylalanine มีความหวานมากกว่าน้ำตาลทราย 180 เท่า ให้ความหวานตกค้าง ไม่คงตัวเมื่อได้รับความร้อน นิยมใช้มากในน้ำอัดลม

2. แซ็กคาริน ให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลทรายประมาณ 300 เท่า นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือแคลเซียม ให้รสขมตกค้าง

3. สารให้ความหวานตัวอื่น ๆ ที่มีแนวโน้มว่าจะใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ได้แก่ Acesulfame-K Sucralose และ Stevioside

3. กรด

เป็นส่วนประกอบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งซึ่งให้รสเปรี้ยวในเครื่องดื่ม ช่วยกระตุ้นให้เกิดความพอใจในรส ระงับความกระหาย จะช่วยเพิ่มความหวานของน้ำตาล และช่วยยืดอายุการเก็บของเครื่องดื่ม

1. กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สี กลิ่นรสของเครื่องดื่มคงตัว ในสภาพเป็นกรดพบว่ากรดแอสคอร์บิกจะคงตัวได้ดีที่สุด

2. กรดซิตริก (Citric acid) ให้รสเปรี้ยวที่เข้าได้กับกลิ่นผลไม้ได้ดี สามารถสกัดได้จากมะนาว สับปะรดหรือการหมักจากเชื้อรา

3. กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) นิยมใช้ในเครื่องดื่มโคลาและรูตเบียร์ ช่วยเพิ่มกลิ่นรสในเครื่องดื่ม

4. กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) ใช้มากในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากองุ่นและมะขาม

5. กรดฟูมาริก (Fumaric Acid) มีรสเปรี้ยวมากกว่ากรดอื่น ๆ ราคาถูกและดูดความชื้นได้น้อยจึงเหมาะกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชนิดผง

6. กรดมาลิก (Malic acid) ในธรรมชาติพบมากในแอปเปิ้ล ลูกท้อ แครนเบอร์รี และมะม่วง เป็นต้น

การเลือกใช้กรดในเครื่องดื่มต้องพิจารณาถึงชนิด ปริมาณ และคุณสมบัติของกรดให้เหมาะสมกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการนิยมใช้กรดหลายชนิดร่วมกัน

4. สี

สีเป็นสิ่งที่ช่วยดึงดูดความสนใจของผู้สนใจ สีที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแบ่งเป็น 3 ชนิดคือ

1. สีธรรมชาติ ไม่นิยมใช้ในเครื่องดื่ม เพราะเป็นสีที่มีความคงตัวน้อยเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ส่วนใหญ่จะมีอยู่ในผลไม้ที่ใช้ผลิตเครื่องดื่ม เช่น Carotenoid และ Annatto ให้สีเหลือง Chlorophyll ให้สีเขียว Anthocyanin ให้สีน้ำเงิน ม่วง และแดง

2. สีเทียม ได้จากการแปรรูปสารที่มีอยู่ในธรรมชาติด้วยกรรมวิธีที่เหมาะสม เช่น สีคาราเมล หรือสีน้ำตาลไหม้ ซึ่งได้จากการให้ความร้อนแก่น้ำตาลอย่างเดียว หรือได้จากการต้มน้ำเชื่อมกับแอมโมเนีย และแอมโมเนียคาร์บอเนต ส่วนมากใช้กับเครื่องดื่มกลิ่น ครีมโซดา รูตเบียร์หรือโคล่า

3. สีสังเคราะห์ เป็นสีที่มีความคงตัวสูง และต้องเป็นสีชนิดที่กฎหมายอนุญาตให้ใช้ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีโทษต่อผู้บริโภคน้อย เช่น Brilliant Blue FCF, Fast Green FCF, Sunset Yellow FCF

5. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ในเครื่องดื่มอาจมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นได้ เมื่อผ่านกระบวนการหมักหรือการเติมก๊าซลงไปโดยตรงก็ได้ พบว่านอกจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะให้รสชาติซาบซ่าในผลิตภัณฑ์แล้ว ยังช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย เพราะเพิ่มความเป็นกรด ลดปริมาณออกซิเจนและเกิดความดันในเครื่องดื่ม การละลายของก๊าซนี้ในน้ำจะเพิ่มขึ้นเมื่อลดอุณหภูมิของน้ำและน้ำตาลลง ดังนั้นในการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเครื่องดื่ม จึงต้องลดอุณหภูมิของเครื่องดื่มลงและลดความดันของก๊าซที่ใช้เพื่อความปลอดภัยในการบรรจุ (พัทชลี ตันยะกุล และ สุริพร แสงจันทร์, 2543 : 5 - 8)

2.6 ความสำคัญของการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย

โรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ที่สำคัญมักเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคซึ่งปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำ การแพร่กระจายของโรค สาเหตุหนึ่งมาจากสิ่งขับถ่ายของคนและสัตว์ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ซึ่งใช้บริโภคโดยตรง หรือใช้ในทางอ้อม ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น ไทฟอยด์ ท้องร่วง อหิวาตกโรค ฯลฯ

ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางแบคทีเรียจึงให้ข้อมูลเบื้องต้นแสดงถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำหรือแสดงถึงความปลอดภัยของน้ำที่ใช้บริโภค

1. เครื่องชี้บอกการปนเปื้อนของน้ำทางแบคทีเรีย

การประเมินคุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย มักใช้จุลินทรีย์ที่สำคัญ 2 กลุ่ม เป็นเครื่องชี้บอกหรือแสดงการปนเปื้อนของแบคทีเรีย กลุ่มของแบคทีเรียเหล่านี้ได้แก่

- Coliform bacteria
- Fecal coliform bacteria

2. Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria

2.1 Coliform bacteria หมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียพวก *Aerobic* และ *Facultative anaerobic bacteria* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์มีรูปร่างเป็นแท่ง และสามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24 - 48 ชั่วโมง และให้ผลเป็นกรดและก๊าซ แบคทีเรียกลุ่มนี้พบทั่วไปในดิน น้ำ อากาศโดยเฉพาะในลำไส้ของคน และสัตว์ที่เลือดอุ่น Coliform bacteria เหล่านี้ได้แก่ กลุ่มของแบคทีเรีย เช่น *Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter* และ *Serratia*

2.2 Facal coliform bacteria ได้แก่ โคลิฟอร์มแบคทีเรียที่มีแหล่งกำเนิดจากอุจจาระของคน และสัตว์เลือดอุ่น แบคทีเรียชนิดนี้สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตส ที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Escherichia*

ตารางที่ 2.1 แหล่งต่าง ๆ ของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร

จุลินทรีย์	มนุษย์				สัตว์				น้ำ			
	ผิวหนัง	ระบบทางเดินหายใจ	อวัยวะอื่น ๆ		ผิวหนัง	ระบบทางเดินหายใจ	อวัยวะอื่น ๆ		ผิวหนัง	ระบบทางเดินหายใจ	อวัยวะอื่น ๆ	
Acetobacter												+
Alcaligenes		+				+			+	+	+	+
Arthrobacter											+	
Bacillus			+				+		+	+	+	+
Brevibacterium			+		+				+		+	+
Clostoidium		+				+			+	+	+	
Corynebacterium	+		+	+	+			+				+
Desulfotomaculum								+		+	+	+
Enterobactor			+	+			+	+		+	+	+
Erwinia				+				+				+
Escherichia		+				+						
Flavobacterium				+					+	+	+	+
Gluconobactor											+	+
Halobacterium									+			
Klebsiella		+			+						+	
Lactobacillus		+	+	+		+	+	+				+
Leuconostoc												+
Micrococcus	+				+					+	+	
Microbacterium												+
Pediococcus								+				+
Photobacterium								+	+			
Propionibacterium	+	+	+	+		+	+	+				+
Proteus			+				+				+	
Pseudomonas				+					+	+	+	

หมายเหตุ + คือ แสดงการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารจากแหล่งต่าง ๆ

ที่มา : สุมาลี เหลืองสกุล, 2539 : 57

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) แหล่งต่าง ๆ ของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร

จุลินทรีย์	มนุษย์				สัตว์				น้ำ			
	คนหวีด	ทางเดินหายใจ	ระบบย่อย	ไม่ทราบ	คนหวีด	ทางเดินหายใจ	ระบบย่อย	ไม่ทราบ	คนหวีด	ทางเดินหายใจ	ระบบย่อย	ไม่ทราบ
Salmonella		+	+			+	+			+	+	+
Serratia										+	+	+
Shigella		+				+						
Staphylococcus	+			+	+						+	+
Streptococcus		+	+	+	+	+		+				+
Vibrio		+				+			+	+		
Yersinia		+	+	+		+		+				+

หมายเหตุ + คือ แสดงการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารจากแหล่งต่างๆ

ที่มา : สุมาลี เหลืองสกุล, 2539 : 57

3. สาเหตุที่ใช้ Coliform bacteria และ Fecal coliform bacteria เป็นเครื่องชี้บอกการปนเปื้อนของน้ำทางแบคทีเรีย เนื่องจากโรคระบาดต่าง ๆ เช่น ไข้ไทฟอยด์ โรคอุจจาระร่วงและอหิวาตกโรค มักมีสาเหตุมาจากการบริโภคอาหาร และน้ำดื่ม ที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิด *Enteric pathogens* แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอันตรายเหล่านี้ มักยากต่อการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างน้ำ แต่พบว่าน้ำที่มีการปนเปื้อนแบคทีเรีย *Enteric pathogens* มักมีโอกาสตรวจพบกลุ่มของ Coliform bacteria ร่วมอยู่ด้วย กลุ่มของ Coliform bacteria เหล่านี้สามารถมีชีวิตอยู่รอด และทนทานต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี พวก *Enteric pathogens* จึงง่าย และสะดวกที่จะนำตรวจวิเคราะห์

ส่วน Fecal coliform bacteria เช่น แบคทีเรียในสกุล *Escherichia* เป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกน้อยกว่า Coliform bacteria กล่าวคือ สามารถมีชีวิตอยู่ภายนอกลำไส้ได้ไม่นาน โดยขึ้นกับสภาพแวดล้อม ได้ถูกใช้เป็นเครื่องชี้บอกเพื่อแสดงว่า น้ำเพิ่งถูกปนเปื้อนจากอุจจาระ

ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของน้ำควรมีคุณสมบัติดังนี้ (นฤมล ตปนียะกุล และวันนี มากันต์,2538 :1-2)

1. พบปนเปื้อนอยู่ในน้ำขณะเดียวกับที่พบแบคทีเรียที่ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ด้วย
2. ควรมีจำนวนแปรผันตามจำนวนของแบคทีเรียที่ก่อโรค
3. สามารถมีชีวิตอยู่ในน้ำได้นานกว่าแบคทีเรียก่อโรค
4. ไม่พบในน้ำบริสุทธิ์
5. ง่ายต่อการตรวจวิเคราะห์

Coliform bacteria ใช้เป็นดรรชนีสุขลักษณะของอาหาร และน้ำดื่ม เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้มีสมบัติเหมาะสม คือ เป็นพวกที่พบอยู่ร่วมกับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานกว่าพวกที่ทำให้เกิดโรค มีปริมาณมากกว่าพวกที่ทำให้เกิดโรค ปริมาณสัมพันธ์กับความสกปรก ตรวจวิเคราะห์ได้ง่าย ไม่เป็นอันตรายต่อคน และสัตว์ มีคุณสมบัติคงที่และเหมือนกัน ดังนั้นหากตรวจพบแบคทีเรียนี้จึงเป็นตัวชี้ให้เห็นว่าอาจมีเชื้อโรคทางเดินอาหารปนเปื้อนอยู่ (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539 : 91)

2.7 โรคติดต่อทางระบบทางเดินอาหาร

โรคติดต่อทางระบบทางเดินอาหารที่สำคัญ นำมากล่าวในที่นี้ คือ

1. อหิวาตกโรค (Cholera)

อหิวาตกโรคเป็นโรคติดต่อที่ร้ายแรง เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio cholerae* โรคนี้มักจะระบาดในฤดูร้อน เชื้อจะเจริญได้ดีในอาหารที่เป็นเบส ไวต่อความร้อน และภาวะที่เป็นกรด จะถูกทำลายเมื่อได้รับความร้อน 55 องศาเซลเซียส ภายใน 10 นาที

อาการของโรค ผู้ป่วยจะมีอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเหลวเป็นน้ำอุจจาระคล้ายกับน้ำซาวข้าว อาเจียน คลื่นไส้ ปวดท้อง เป็นตะคริว อ่อนเพลีย เนื่องจากร่างกายเสียน้ำได้มาก อาจเกิดอาการช็อค ผิวหน้าเหี่ยว ตาลึก เสียงแหบ ชีพจรเต้นเร็ว ความดันต่ำ แต่ไม่มีไข้ อาจถึงตายได้ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันท่วงที

ระยะฟักตัวของโรค เชื้อนี้จะไปเจริญอยู่ที่ผิวเมือกของลำไส้เล็ก และปล่อยทอกซินออกมาเชื้อจะไม่เข้ากระแสเลือด และไม่บุกรุกเข้าเนื้อเยื่อชั้นใน ทอกซินจากตัวเชื้อจะไปกระตุ้นอะดีนีลไซเคลส (Adenyl cyclase) ทำให้เปลี่ยน ATP เป็น ไซคลิก เอ เอ็ม พี (Cyclic AMP) มีผลให้เกิดการสะสมน้ำ และอิเล็คโตรไลท์ในช่องว่างลำไส้จึงเกิดอาการอุจจาระร่วง

การรักษา โดยให้น้ำและอิเล็กโตรไลท์เพื่อทดแทนส่วนที่ร่างกายเสียไป พร้อมกับให้สารปฏิชีวนะ เช่น เตตราไซคลิน คลอแรมเฟนิคอล และฟูราโซลิโดน เพื่อทำลายเชื้อในลำไส้

การป้องกันและควบคุมโรค โดยการฉีดวัคซีน การให้สุขาภิบาลน้ำดื่ม และน้ำใช้ต้องสะอาดปราศจากเชื้อโรค อย่ารับประทานอาหารที่มีแมลงวันตอม เมื่อเกิดโรคระบาดต้องแยกผู้ป่วยออกต่างหาก ทำลายสิ่งปฏิกูลของผู้ป่วยด้วยยาฆ่าเชื้อ ให้ความรู้ทางด้านอนามัยส่วนบุคคล เช่น ล้างมือก่อนรับประทานอาหาร ต้องทานอาหารที่ร้อนและสุกใหม่ ๆ น้ำดื่มต้องต้มก่อน เป็นต้น

2. โรคบิด (Bacillary dysentery หรือ Shigellosis)

โรคบิดเกิดจากเชื้อ *Shigella* ลักษณะเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ติดสีแกรมลบ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคบซูล เชื้อที่ทำให้เกิดโรคบิด มี 4 ชนิด คือ *Shigella dysenteriae S. flexneri S. Sonnei และ S. boydii*

ระยะฟักตัวของโรค มีระยะฟักตัวราว 1 - 4 วัน ทำให้เกิดโรคที่บริเวณลำไส้ใหญ่หรือส่วนปลายของลำไส้เล็ก เชื้อจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในชั้นเยื่อเมือกของลำไส้ ทำให้เกิดการอักเสบเป็นแผล เมื่อถ่ายอุจจาระออกมาจะมีมูกเลือดปนอยู่ด้วย อาการจะเริ่มปวดบิดในท้อง ในเวลาไม่กี่วัน แต่ในเด็กและผู้ใหญ่อาจเกิดอาการขาดน้ำ และเกลือแร่ ทำให้อ่อนเพลียและอาจตายได้ ผู้ป่วยที่หายแล้วอาจเป็นพาหะนำโรคได้นานหลายเดือน

การรักษา ผู้ป่วยรุนแรงให้ยาแอมพิวิลลิน คลอแรมเพนิคอลและไตรเมโธพริมซัลฟาเมธอกซาโซล

การป้องกันและควบคุมโรค ควบคุมแหล่งน้ำให้สะอาด กำจัดสิ่งโสโครก เช่น ขยะมูลฝอย น้ำเสีย และอุจจาระ มิให้ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำได้ ให้ความรู้แก่ประชาชนเกี่ยวกับสุขอนามัย

3. โรคติดต่อจากเชื้อซัลโมเนลลา (Salmonellosis)

โรคติดต่อจากเชื้อซัลโมเนลลา เกิดจากบักเตรี Salmonella มีลักษณะเป็นท่อน ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ กลุ่มที่ทำให้เกิดอาการของโรค มี 3 ลักษณะคือ

ก. ไข้ไทฟอยด์ และพาราไทฟอยด์ เกิดจากเชื้อ *Salmonell afyphi* และ *Sallmonella paratyphi* อาการของโรคคล้ายคลึงกัน แต่ไข้พาราไทฟอยด์มีอาการอ่อนกว่าไข้ไทฟอยด์ที่มีอาการไข้สูงหลายวันเกิดการติดเชื้อหลายวัน เชื้อเข้าสู่กระแสเลือดเกิดอาการโลหิตเป็นพิษ มีอาการท้องผูกหรือท้องเดิน ปวดท้อง ตับและม้ามโต คลื่นไส้ อาเจียน อาจจะมีผื่นขึ้นตามตัว หัวใจเต้นช้ากว่าปกติ ปวดกล้ามเนื้อ ไข้จะขึ้นสูงตลอด (39.5 - 40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 - 10 วัน แล้วจะลดลงในสัปดาห์ที่ 3 หรือ 4

ข. โลหิตเป็นพิษ (Sepeticemia) เกิดจากเชื้อ *Salmonella choleraesuis* เป็นส่วนใหญ่ เป็นการติดเชื้อในกระแสเลือด ทำให้เกิดอาการหนาวสั่น มีไข้ เบื่ออาหาร น้ำหนักลดลง เชื้อจะกระจายไปตามส่วนต่าง ๆ เช่น ปอด หัวใจ ม้าม ไต และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โดยทำให้อวัยวะต่าง ๆ เกิดการอักเสบ

การรักษา ในระยะที่อุจจาระร่วงอย่างรุนแรง ต้องให้น้ำและอิเล็กโตรไลต์ทดแทนส่วนที่สูญเสียไป และให้ยาปฏิชีวนะเพื่อทำลายเชื้อ เช่น คลอแรมเฟนิคอล หรือแอมพิซิลลิน และไตรโธรพริม - ซัลพาเมธอกซาโซล กรณีดื้อยา

การป้องกัน โดยวิธีฉีดวัคซีนที่เตรียมจากอะซีโตน จะมีผลป้องกันได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ใน เวลา 3 ปี

ค. กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) เกิดจากเชื้อ *Salemonella typhimurium* และ *Salmonella enteritidis* ระยะฟักตัวสั้นมาก อาการเกิดหลังจากอาหารที่มีเชื้อชนิดนี้ เพียง 8 - 48 ชั่วโมง จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วงอย่างรุนแรง มีไข้ต่ำเชื้อจะเจริญในลำไส้เท่านั้นไม่เข้ากระแสเลือด มักจะเป็นอยู่ 2 - 5 วัน

4. โรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากสารพิษของบักเตรี

เกิดจากร่างกายได้รับสารพิษจากบักเตรีที่เจริญอยู่ในอาหารที่พบมากมีอยู่ 2 โรค คือ อาหารเป็นพิษจากเชื้อสแตฟฟิโลคอกคัส (Staphylococcus) และ โบทูลิซึม (Botulism)

ก. อาหารเป็นพิษจากเชื้อสแตฟฟิโลคอกคัส เป็นโรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อ *Staphylococcus arueus* เชื้อชนิดนี้เจริญอยู่นานพอที่จะสร้างทอกซินได้ ทอกซินนี้ทนต่อความร้อนถึง 100 องศาเซลเซียส ได้นานกว่า 30 นาที ทนต่อกรด และเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้ด้วย อาหารที่มีเชื้อชนิดนี้เจริญได้ดี คือ เนื้อสัตว์หั่นเป็นแผ่น แซนวิช ผลิตภัณฑ์จากนมที่ตั้งทิ้งไว้ อาหารจำพวกครีม คัสตาร์ด และอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วทิ้งไว้ไม่แช่ตู้เย็น ทำให้เชื้อผลิตทอกซินออกมามาก นอกจากนี้เชื้อเหล่านี้อาจจะติดมาจากผู้ปรุงอาหาร ที่เป็นพาหะนำโรคโดยเชื้อติดอยู่ตามแผล มือ ฯลฯ

อาการของโรค จะเกิดภายใน 1 - 4 ชั่วโมง หลังจากทานอาหารที่มีเชื้อชนิดนี้ จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ปวดเกร็ง เป็นตะคริว อาการจะเป็นมากน้อยขึ้นกับภูมิต้านทานของร่างกายแต่ละคน และปริมาณทอกซินที่ทานเข้าไป

การรักษา ในรายที่มีอาการถ่ายอุจจาระมาก ร่างกายสูญเสียน้ำ ควรให้น้ำเกลือทดแทนส่วนที่ขาดไป ไม่จำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะ อาการจะค่อย ๆ หายไป ภายใน 1 - 2 วัน

ข. โรคโบทูลิซึม เป็นโรคที่เกิดจากการรับเชื้อชนิดเอกโซทอกซินของ *Clostridium botulinum* บักเตรีชนิดนี้มีรูปร่างเป็นท่อนขนาดใหญ่ สร้างสปอร์ได้ เจริญเติบโตโดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน เชื้อชนิดนี้อาจปนเปื้อนอยู่ในอาหารกระป๋อง หรืออาหารที่สุกไม่ดี เช่น แฮมไส้กรอก อาหารรมควัน ฯลฯ สปอร์ที่ปนเปื้อนในอาหาร เมื่อเชื้องอกจะเริ่มสร้างสารพิษทิกซินได้ อย่างไรก็ตามเชื้อชนิดนี้ถูกทำลายด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส ในเวลา 10 นาที ดังนั้นจึงควรอุ่นอาหารกระป๋องให้เดือดนานถึง 10 นาทีเป็นอย่างน้อยก่อนรับประทานเสมอ ทอกซินไม่ถูกทำลายด้วยกรดเกลือในกระเพาะอาหารหรือเอนไซม์ย่อยโปรตีนในทางเดินอาหาร เมื่อไปถึงลำไส้จะถูกเอนไซม์ย่อยเป็นแอกทีพทอกซินที่ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือด และไปยังระบบประสาทและกล้ามเนื้อ ทอกซินมี 8 ชนิด คือ A, B, C, C_2, D, E, F และ G แต่ชนิดที่ทำให้เกิดโรคแก่คนคือชนิด A, B, E และ F เท่านั้น

อาการของโรค หลังจากรับเชื้อแล้วประมาณ 8 - 36 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน วิงเวียน และอ่อนเพลีย นอกจากนั้นยังมีอาการทางประสาท เช่น เห็นภาพซ้อน ม่านตาขยาย กลืนอาหารไม่ได้ กล้ามเนื้ออ่อนเปลี้ย เกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้หายใจไม่ได้และอาจจะตายได้

การรักษาและป้องกัน เนื่องจากทอกซินชนิดนี้ไปจับเนื้อเยื่อประสาทแล้ว แก้ไขไม่ได้ จึงต้องรีบรักษาโดยให้โพลี่วาเล้นท์แอนติทอกซิน (Polyvalent antitoxin) ซึ่งมีทั้งชนิด A, B และ E แก่คนไข้ไว้ก่อน เพื่อช่วยให้ปฏิกิริยาทอกซินเป็นกลาง

สำหรับการป้องกันโรคนี้โดยวิธีการฉีดทอกซอยด์เพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรค นอกจากนี้พยายามหลีกเลี่ยงทานอาหารที่ไม่สุก ถ้าจะทานควรอุ่นให้ร้อนอย่างน้อย 10 นาที (สุรภีร์ วีรวานิช, 2539 : 449 - 452)

2.8 การตรวจวิเคราะห์ฟีคัลโคลิฟอร์ม

การตรวจวิเคราะห์ฟีคัลโคลิฟอร์ม โดยวิธี Multiple – tube technique : MPN (Most - probable number) มี 3 หลักการดังนี้

1. **การตรวจสอบขั้นต้น (Presumptive test)** เป็นการตรวจสอบอย่างคร่าว ๆ ในขั้นต้นโดยเลี้ยงเชื้อในอาหารแลคโตส (Lactose broth) เพื่อทดสอบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้แลคโตส ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมงได้ก๊าซหรือไม่ ถ้าไม่เกิดก๊าซจะได้ผลลบ แสดงว่าน้ำตัวอย่างนั้นไม่มีฟีคัลโคลิฟอร์มอยู่ แต่ถ้าเป็นฟีคัลโคลิฟอร์มจะให้กรดและก๊าซเกิดขึ้น แสดงว่าผลบวกให้ทำขั้นตอนต่อไป เนื่องจากมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่สามารถหมักแลคโตส แล้วสามารถทำให้เกิดก๊าซได้เช่นกัน เช่น ยีสต์ และ Clostridium prefringens

2. **การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)** เป็นการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลโดยถ่ายเชื้อจากหลอด Lactose broth ที่ให้ผลบวกมาใส่ในอาหารอีซีมีเดียม (EC medium) อ่านผลแล้วนำมาเทียบหาจำนวนฟีคัลโคลิฟอร์ม จากตารางดรรชนี เอ็ม พี เอ็น (MPN Index Table) หาปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม โดยมีหน่วยเป็น MPN / 100 ml.

3. **การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)** เป็นการทดสอบเพื่อคัดแยกโดยการตรวจลักษณะของแบคทีเรียที่ให้ผลบวกในขั้นยืนยัน โดยสัณฐานวิทยาจากปฏิกิริยาแบบแกรม และเพาะเชื้อที่ตรวจสอบใน Lactose broth เพื่อทบทวนอีกครั้ง โดยนำผลบวกสตรีกลงบนอาหาร Eosine Methylene Blue agar (EMB) เชื้อ Atypical type ที่เจริญขึ้นบนอาหารชนิดนี้มีลักษณะโคโลนีทึบแสง เป็นเมือกเยิ้ม

สีชมพูอมม่วง แต่ถ้าเป็นโคโลนีเฉพาะของพวกฟีคัลโคลิฟอร์ม เชื้อชนิด Typical type มีลักษณะสีเข้มตรงกลางโคโลนีสีเกือบดำ และที่ผิวมีสีเขียวเหลือบเป็นเงาคล้ายโลหะ ซึ่งเป็น *E.coli* นำเชื้อที่เป็นฟีคัลโคลิฟอร์มไปเลี้ยงในอาหาร Lactose broth อีกครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าเกิดกรดและก๊าซ และนำลงใน Nutrient agar slant เวลา 1 วัน จึงย้อมแกรม จะได้สีแกรมลบรูปท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ ก็สรุปได้ว่าเป็นฟีคัลโคลิฟอร์ม (พัทชลี ตันยะกุล และสุริพร แสงจันทร์ ,2543 : 15-16)

2.9 การย้อมแกรม

วิธีการย้อมสีแบคทีเรีย มีวิธีการที่สำคัญ 2 แบบ คือ

1. การย้อมแบบธรรมดา (Simple staining) โดยใช้สีชนิดเดียวย้อมเซลล์ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง หลังจากนั้นล้างออกด้วยน้ำ และซับให้แห้ง เซลล์ที่ย้อมจะติดสีสม่ำเสมอกัน การย้อมแบบนี้เพื่อศึกษารูปร่างและขนาดของเซลล์ ตัวอย่างสีที่ใช้ คือ เมทิลีนบลู (Methylene) , คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet) , คาร์บอลฟุคซิน (Carbol fuchsin)

2. การย้อมมากกว่าหนึ่งสี (Differential staining) โดยการใช้สีย้อมมากกว่าหนึ่งชนิด ทำให้สีย้อมติดส่วนต่างๆ ของเซลล์ ตัวอย่างเช่น การย้อมสีแบบแกรม (Gram staining) การย้อมสีแบบทนกรด (Acid fast staining) การย้อมสีสปอร์ (Spore staining) ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้วิธีการย้อมสีแบบแกรม

กลไกการติดสีแกรมของแบคทีเรียเกี่ยวข้องกับโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์ ในแบคทีเรียแกรมลบจะมีสารพวกไขมันที่ผนังเซลล์มากกว่าของแบคทีเรียแกรมบวก และยังมีชั้นของผนังเซลล์บางกว่าด้วย ในกระบวนการย้อมสี เมื่อล้างด้วยแอลกอฮอล์ จะไปละลายไขมัน ทำให้รูเปิดของผนังเซลล์กว้างขึ้น จึงยอมให้สารโมเลกุลใหญ่ของสีคริสตัลไวโอเลต – ไอโอดีน คอมเพล็กซ์หลุดออกมา เมื่อย้อมสีซาฟรานินจึงติดสีแดงของซาฟรานิน แต่ในแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีไขมันที่ผนังเซลล์น้อยกว่า และมีความซับซ้อนขององค์ประกอบที่ผนังเซลล์น้อยกว่า เมื่อล้างสีด้วยแอลกอฮอล์ เซลล์จะเหี่ยว เพราะเกิดการสูญเสียน้ำ เยื่อหุ้มเซลล์มีรูขนาดเล็กลง สารประกอบโมเลกุลใหญ่ของสีละลายออกมาไม่ได้ เซลล์ยังคงติดสีม่วง เมื่อย้อมทับด้วยซาฟรานิน จึงย้อมไม่ติดสีแดง

ตารางที่ 2.2 แสดงลำดับและปฏิกิริยาในการย้อมสีแบบแกรม

สารละลาย	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น	
	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ
1. คริสตัลไวโอเลต	เซลล์ติดสีม่วง	เซลล์ติดสีม่วง
2. สารละลายไอโอดีน	เกิดเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ของคริสตัลไวโอเลต ไอโอดีน คอมเพล็กซ์ เซลล์ยังคงติดสีม่วง	เกิดเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ของ คริสตัลไวโอเลต ไอโอดีน คอมเพล็กซ์ เซลล์ยังคงติดสีม่วง
3. เอทิลแอลกอฮอล์ 90 %	ผนังเซลล์เกิดการสูญเสียน้ำเซลล์เหี่ยว เยื่อหุ้มเซลล์มี รูเล็กลง สารโมเลกุลใหญ่ของสีไม่สามารถละลายออกมาได้ เซลล์ยังคงติดสีม่วง	แอลกอฮอล์จะไปละลายไขมันที่ผนังเซลล์ทำให้รูของผนังเซลล์กว้างขึ้น จึงยอมให้สารประกอบโมเลกุลใหญ่ของสีหลุดออกมาได้
4. ซาฟรานิน	เซลล์ไม่ทำปฏิกิริยากับสีซาฟรานิน จึงติดสีม่วง	เซลล์ทำปฏิกิริยากับสีซาฟรานินติดสีแดง

ที่มา : นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541 : 37-39)

บางครั้งการย้อมสีแกรม อาจมีปัญหาทำให้ผลการย้อมไม่เป็นไปตามทฤษฎี เช่น แบคทีเรียแกรมบวกในบางสภาพอาจทำให้ผลแตกต่างในการย้อม คือ ไม่ติดสีแกรมบวก หรืออายุของเชื้อ ถ้าเชื้อแก่ แบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดอาจสูญเสียความสามารถในการติดสี คริสตัลไวโอเลต ทำให้ติดสีแกรมลบแทน หรือขึ้นกับสภาพแวดล้อมของแบคทีเรีย หรือขึ้นอยู่กับวิธีการเกลี่ยเชื้อ วิธีการย้อม และคุณภาพของสีที่ใช้ เป็นต้น

วิธีการย้อมสีแบบแกรม มีประโยชน์ในการจำแนกแบคทีเรียออกเป็นแกรมบวก และแกรมลบ แต่สำหรับจุลินทรีย์ชนิดอื่น จะติดสีย้อมชนิดหนึ่งเท่านั้น เช่น ยีสต์ติดสีแกรมบวก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541 : 37-39)