การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *Staphylococcus aureus* ในน้ำส้มคั้นสด ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

มุทิตา คณฑา

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา
มีนาคม 2563
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *Staphylococcus aureus* ในน้ำส้มคั้นสด ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก"

ของนางสาวมุทิตา คณฑา

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา

พิจารณาเห็นชอบโดย

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรรณพ ทัศนอุดม)

.....ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ดร.จารุวรรณ ทองสนิท โอคุมุระ)

.....กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอินทุ์ ประไชโย)

.....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นารีลักษณ์ นาแก้ว)

อนุมัติ

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล มุณีสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

17 มี.ค. 2563

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ดร. จารุวรรณ ทองสนิท โอคุมุระ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้อุตสาห์สละเวลาอันมีค่ามาเป็นที่ปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอินท์ ประไชโย ที่ให้คำแนะนำและให้การสนับสนุนการทำวิจัยมาโดยตลอด รวมถึงกรุณาตรวจทานแก้ไขเล่ม ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรรณพ ทัศนอุดม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นารีลักษณ์ นาแก้ว กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า รวมถึงคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาทุกท่าน ที่ให้วิชาความรู้อันเป็นประโยชน์ ในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาที่ทำวิจัย

ขอขอบคุณคุณศิริวงษ์ นิ่มนงค์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คุณอุษณีย์ นุ้ยเย็น คุณระพี ธรรมมีภักดิ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ และหัวหน้าห้องปฏิบัติการอาหาร ที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณมารดา และพี่ ๆ น้อง ๆ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดียิ่งและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา จนผู้วิจัยจัดทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ คุณค่าอันพึงเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญุตาแด่บิดา มารดา อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย

มุทิตา คณฑา

ชื่อเรื่อง	การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ Staphylococcus aureus ในน้ำส้มคั้นสด ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก
ผู้วิจัย	มุทิตา คณฑา
ประธานที่ปรึกษา	ดร.จารุวรรณ ทองสนิท โอคุมุระ
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอินทุ์ ประไชโย
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2562
คำสำคัญ	Staphylococcus aureus การประเมินความเสี่ยง น้ำส้มคั้น พิษณุโลก

บทคัดย่อ

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด และเพื่อประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. Aureus* ในน้ำส้มคั้นสดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก น้ำส้มคั้นสด เป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมีจำหน่ายทั่วไป ตามร้านค้าแผงลอยข้างทาง มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อจากการผลิต วัตถุดิบ และสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดการเจ็บป่วยกับผู้บริโภค โดยเฉพาะ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ พบปนเปื้อนในอาหารที่มีการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จากการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมี ของน้ำส้มคั้นสด มีค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำอิสระ ความหวาน และปริมาณเกลือ เท่ากับ 3.47, 0.90, 16.44°Brix และ 0.60% ตามลำดับ และพบ *S. aureus* จำนวน 7 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างน้ำส้มคั้นสดทั้งหมด 100 ตัวอย่าง คิดเป็นความชุก 0.07 ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 1-100 CFU/ml ซึ่งการพบและไม่พบ *S. aureus* กับคุณลักษณะของน้ำส้มคั้นสด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยการบริโภคน้ำส้มคั้นสดของประชากรคิดเป็นร้อยละ 12 ของประชากรทั้งหมด ค่าเฉลี่ยของปริมาณการบริโภคน้ำส้มคั้นสดเท่ากับ 218.69 มิลลิลิตร/คน/วัน ปริมาณเชื้อที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อบริโภคน้ำส้มคั้นสด คำนวณจากปริมาณที่ตรวจพบมากที่สุด (100 CFU/มิลลิลิตร) เท่ากับ 2.19×10^4 CFU/มิลลิลิตร/คน/วัน ความน่าจะเป็นของการได้รับสัมผัสเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 7 ความเสี่ยงที่ในหนึ่งปีประชากรในจังหวัดพิษณุโลกจะมีโอกาสเจ็บป่วยจากเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้นสด เท่ากับ 2 ครั้ง ต่อประชากร 1,000,000 คน ซึ่งเป็นระดับความเสี่ยงที่ต่ำมาก

Title	QUANTITATIVE RISK ASSESSMENT OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN FRESH ORANGE JUICE IN MUANG DISTRICT, PHITSANULOK PROVINCE
Author	Muthita Khontha
Advisor	Jaruwan Thongsanit Okumura, Ph.D.
Co - Advisor	On-in Prachaiyo, Ph.D.
Academic Paper	Thesis M.S. in Microbiology, Naresuan University, 2019
Keywords	*Staphylococcus aureus*, Risk assessment , orange juice, Phitsanulok

ABSTRACT

The objective of this study is to examine the physical, chemical and microbial contamination in fresh squeezed orange juice. And to assess the quantitative risk of *S. aureus* in fresh orange juice in Mueang District Phitsanulok Province. Freshly squeezed orange juice is a popular drink. Commercially available in the shops, street stalls. There is a chance of contamination from raw material, production and the environment. Cause illness to consumers. In particular, *S. aureus* is a bacteria causing food poisoning. Which, Contaminated in unhygienically produced food. The study of physical and chemical characteristics of fresh orange juice. With the average pH, water activity , sweetness and salt content were 3.47, 0.90, 16.44 Brix and 0.60% respectively. *S. aureus* was found contaminated with 7 samples of fresh orange juice samples 100 samples, representing a prevalence of 0.07 the amount detected in the range 1-100 CFU / ml. Detect and not detect *S. aureus* with the characteristics of freshly squeezed orange juice. There was no significant difference ($p > 0.05$). The consumption of fresh squeezed orange juice is 12% of the total population. The average consumption of fresh squeezed orange juice is 218.69 ml / person / day. The amount of bacteria that enters the body when consuming freshly squeezed orange juice. The infection dose of *S. aureus* calculated from the maximum detected amount 100 CFU / ml equal to 2.19×10^4 CFU / ml / person / day. The probability of exposure to *S. aureus* is 7. The risk assessment of population in Phitsanulok province is

2 illnesses/year/1,000,000 person from the contaminated *S. aureus* in squeezed orange juice. There is a very low level of risk

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	**บทนำ**	1
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	จุดมุ่งหมายของการวิจัย	3
	ความสำคัญของการวิจัย	4
	ขอบเขตการวิจัย	4
	นิยามศัพท์เฉพาะ	4
	สมมุติฐานของการวิจัย	5
	ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย	5
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	6
	ส้ม (Orange)	6
	น้ำส้มคั้น (Orange juice)	7
	Staphylococcus aureus	9
	ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด	12
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22
3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	29
	วัตถุดิบ	29
	อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	29
	เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์	30
	วิธีดำเนินการวิจัย	30
4	**ผลการวิจัย**	36
	การศึกษาคุณลักษณะทางกาย ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด	36

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5 บทสรุป	49
สรุปผลการวิจัย	49
อภิปรายผล	50
ข้อเสนอแนะ	52
บรรณานุกรม	53
ภาคผนวก	60
ประวัติผู้วิจัย	71

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงคุณค่าทางสารอาหารของส้มเขียวหวาน	7
2	แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *S. aureus*	10
3	แสดงซอฟท์แวร์ที่นำมาใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยา	19
4	แสดงรายละเอียดของพารามิเตอร์ที่ใช้สำหรับการประเมินการรับสัมผัส	34
5	แสดงลักษณะทางกาย และทางเคมีของน้ำส้มคั้นสด	38
6	แสดงเปรียบเทียบค่าลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างการพบ/ไม่พบ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด	39
7	แสดงค่า D value และค่า Z value ของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส	40
8	แสดงการหาความถี่ของการปนเปื้อนโดยวิธี Gumbel's Method	45
9	แสดงความน่าจะเป็นของปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่ระดับต่าง ๆ	45
10	แสดงข้อมูลนำเข้าสำหรับการประเมินความเสี่ยง	47

สารบัญภาพ

ภาพ หน้า

1 แผนผังกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้นสด 8

2 องค์ประกอบของการประเมินความเสี่ยง "Farm to Fork" ปัจจัยที่มีอิทธิพลหรือ
การเปลี่ยนแปลงความซุกและหรือความเข้มข้นที่ฟาร์ม (P_F, C_F)
ระหว่างการแปรรูป (P_P, C_P) การจำหน่าย/การจัดเก็บ (P_R, C_R) ที่บ้าน (P_H, C_H)
เพื่ออธิบายการประเมินการได้รับสัมผัส 15

3 เส้นโค้งความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และผลการตอบสนอง 16

4 สมการทางคณิตศาสตร์ที่นำมาอธิบายข้อมูลของปริมาณการได้รับสัมผัส
(dose-response) ของแบคทีเรียก่อโรคที่เกิดจากอาหาร 17

5 แบบจำลองความน่าจะเป็นของจำนวนการปนเปื้อน *S. aureus*
ตั้งแต่การคั้นน้ำส้มถึง การบริโภค 34

6 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับค่าความเป็นกรดด่าง (pH)
ในน้ำส้มคั้นสด 36

7 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณน้ำตาล (TSS)
ในน้ำส้มคั้นสด 37

8 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณน้ำอิสระ (a_w)
ในน้ำส้มคั้นสด 37

9 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณโซเดียมคลอไรด์
ในน้ำส้มคั้นสด 38

10 การเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่อุณหภูมิ 4 10 25
และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง 40

11 (A) ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium|
(B) ลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (10x) 42

12 กราฟแสดงความถี่และปริมาณปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด 44

13 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน *S. aureus*
ในน้ำส้มคั้นสด 47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ หน้า

14 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลการเจริญของเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 48
15 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลการลดลงของเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ส้มเป็นผลไม้ชนิดหนึ่ง ที่มีคุณค่าทางอาหารและกากใยสูง โดยสารอาหารที่พบในส้ม ได้แก่ วิตามินซี แคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินเอ เป็นต้น ประโยชน์ของส้มพบว่า มีสรรพคุณในการเสริมสร้างกระดูก เสริมสร้างคอลลาเจน ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็ง และยังช่วยป้องกันและชะลอการทำลายเซลล์ในร่างกาย โดยมีสารอาหารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Thai food.com, 2016) นอกจากการรับประทานผลส้มสดแล้วยังนิยมนำมาคั้นน้ำเป็นเครื่องดื่ม ดังนั้นน้ำส้มคั้น จึงเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ โดยเฉพาะน้ำส้มคั้นที่มีการคั้นสดๆ จะได้รับความสนใจจากผู้บริโภคที่รักสุขภาพเป็นอย่างมาก จึงพบการจำหน่ายน้ำส้มคั้นได้ทั่วไปทั้งร้านค้า แผงลอย รถเข็น ตลาด ร้านอาหารหรือริมบาทวิถี รวมถึงห้างสรรพสินค้าต่าง ๆ ทั้งแบบที่คั้นใส่โหลสำหรับตักขาย บรรจุขวด หรือการคั้นสด ๆ ซึ่งจากข้อมูลด้านตลาดน้ำผลไม้พร้อมดื่มในประเทศไทย ของศูนย์อัจฉริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร สถาบันอาหาร 2558 โดยสำรวจในช่วง 5 ปี (2553-2557) น้ำผลไม้แท้ 100 % มีอัตราการขยายตัวเฉลี่ยร้อยละ 12.9 ต่อปี โดยน้ำผลไม้แท้ 100 % ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือ น้ำส้ม มีส่วนแบ่งตลาดร้อยละ 47.8 รวมถึงข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ของสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ปี 2549 พบว่าปริมาณการบริโภคน้ำส้มคั้นมีค่าเฉลี่ย 193.44 มิลลิลิตร/คน/วัน โดยร้อยละของผู้บริโภคน้ำส้มคั้นคิดเป็นร้อยละ 14.3 และมีการสำรวจข้อมูลอีกครั้งในปี 2559 เนื่องจากรูปแบบการบริโภคของคนไทยเปลี่ยนแปลง โดยค่าเฉลี่ยปริมาณการบริโภคน้ำส้มคั้นอยู่ที่ 218.69 มิลลิลิตร/คน/วัน ร้อยละของผู้บริโภคน้ำส้มคั้นคิดเป็นร้อยละ 12 ซึ่งปริมาณเฉลี่ยของการบริโภคเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มคั้นเป็นเครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางอาหารสูง จึงทำให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

ถึงแม้ว่าน้ำส้มคั้นจะมีประโยชน์มากมาย แต่หากผู้จำหน่ายมีการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคระหว่างกระบวนการผลิตได้ โดยเฉพาะขั้นตอนการคั้นและการบรรจุขวด จากรายงานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้ศึกษาน้ำผลไม้ในเขตกรุงเทพมหานคร พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้แบบตักขาย ได้แก่ ยีสต์ รา โคลิฟอร์ม *Escherichai coli* และ *Staphylococcus aureus* (กรุงเทพธุรกิจ, 2551) และจากสถานการณ์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม เครื่องดื่ม และภาชนะที่ให้บริการในโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล

จังหวัดมหาสารคาม พบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย *E. coli S. aureus* และยีสต์และราในเครื่องดื่ม เกินมาตรฐานร้อยละ 85.7 85.7 71.4 และ 42.9 ตามลำดับ (ดาริวรรณ เศรษฐีธรรม, และเนตรนภา เจียระแม, 2555) และจากรายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2558-2562) พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 130,995 121,973 108,153 120,758 และ 100,606 ราย อัตราการป่วยคิดเป็น 200.22 186.43 165.30 181.83 และ 151.48 ต่อประชากรแสนคน ตามลำดับ โดยผลการตรวจเชื้อก่อโรคที่ได้รับรายงานเข้าระบบเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา ประกอบด้วยเชื้อ *Salmonella* spp. *Vibrio parahaemolyticus* และ *S. aureus* ซึ่งจากข้อมูลจะเห็นว่า *S. aureus* เป็น 3 ลำดับแรกที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังมีรายงานการสอบสวนโรคอาหารเป็นพิษในโรงเรียน จังหวัดสุพรรณบุรี 2551 พบว่ามีการระบาดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษปนเปื้อนในน้ำส้มคั้นทำให้นักเรียนมีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเหลว จำนวน 28 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.54 ด้วยการที่มีระยะฟักตัวสั้น จึงมีการสันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากสารเคมีหรือสารพิษ และจากการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่ามีการตรวจพบเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น ซึ่งมีความสอดคล้องกับการวิเคราะห์หาอัตราเสี่ยงสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค (Relative Risk) นอกจากนี้ในประเทศอินเดีย ยังมีการแยกจุลินทรีย์จากน้ำผลไม้สด ซึ่งพบ *S. aureus* ในน้ำส้ม 2 ตัวอย่างจากทั้งหมด 10 ตัวอย่าง (Aneja, K. R. et al., 2014) และประเทศไนจีเรียได้มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำผลไม้พบ *S. aureus* มากที่สุด(ร้อยละ 14) โดยเฉพาะในน้ำส้ม (Bello et al., 2013) สำหรับประเทศไทยมีการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานเพื่อควบคุมคุณภาพการผลิตน้ำส้มคั้น โดยเป็นการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 356) พ.ศ.2556 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะที่ปิดสนิท และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ.2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่นเดียวกับเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำผลไม้: น้ำส้ม (มอก.99/2549) ของสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม โดยระบุว่าต้องไม่พบ *S. aureus* ในน้ำส้ม 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรหรือมิลลิลิตร ซึ่ง *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่สร้างสารพิษและเป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยที่ปนเปื้อนในอาหารหลากหลายชนิด โดยเฉพาะในอาหารที่มีการสัมผัสมือของผู้ปรุงโดยตรง ดังนั้นถ้าผู้ปรุงอาหารหรือผู้ประกอบอาหารมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดี หรือการมีบาดแผลที่มือโดยไม่มีการป้องกันการปนเปื้อน รวมถึงการไอ หรือจาม ขณะปรุงอาหาร เชื้อนี้อาจปนเปื้อนลงไปในอาหารหรือเครื่องดื่มได้ และถ้าอาหารหรือเครื่องดื่มนั้นไม่ผ่านความร้อนที่สูงพอสำหรับการทำลายเชื้อและสารพิษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำส้มคั้นสดที่ไม่มีการฆ่าเชื้อในกระบวนการผลิต รวมถึงระยะเวลา อุณหภูมิ ลักษณะการจัดเก็บ และการขนส่ง ก่อนการบริโภค ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มจำนวน

ของเชื้อ จึงมีกระบวนการหนึ่งที่ช่วยให้เกิดความมั่นใจต่อความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร นั่นก็คือ การประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) เป็นกระบวนการหนึ่งของการวิเคราะห์ความเสี่ยง (Risk analysis) เพื่อให้ทราบถึงระดับความเสี่ยงของผู้บริโภค และสามารถควบคุมหรือลดความเสี่ยงนั้นให้อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ทำให้เกิดการเจ็บป่วย รวมถึงสามารถนำข้อมูลการประเมินไปกำหนดและใช้เป็นเครื่องมือวัดประสิทธิภาพของการลดอันตรายจากเชื้อก่อโรค ซึ่งองค์การอนามัยโลก (WHO) และโคเด็กซ์ (The Codex Alimentarius Commission: CAC) ได้มีการนำมาใช้ในการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของอาหาร และยังใช้เป็นเครื่องมือในการตัดสินใจต่อผลกระทบเกี่ยวกับความปลอดภัยของอาหาร เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและลดการเจ็บป่วยจากการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยา (Quantitative microbial risk assessment: QMRA) จึงมีการนำมาใช้ในการประเมินโอกาสการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยในอาหารหลากหลายประเภท ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ การระบุอันตราย (Hazard identification) การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment) การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) และการอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) สำหรับการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด ยังไม่พบข้อมูลการประเมินความเสี่ยงหรือการประเมินการได้รับสัมผัส *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด แต่มีการประเมินความเสี่ยงของ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนอาหารพร้อมบริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2554)

ดังนั้นการศึกษานี้ จึงเป็นการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด โดยการหาความชุกและปริมาณการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในน้ำส้ม ปริมาณและความถี่ของการบริโภคน้ำส้มคั้น รวมถึงการหาความน่าจะเป็นของการได้รับสัมผัส *S. aureus* แล้วทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำส้มที่มีการปนเปื้อน *S. aureus* ซึ่งผลจากการประเมินจะทำให้ทราบค่าประมาณความเสี่ยงพื้นฐานของการบริโภคน้ำส้มคั้นสด เพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังทางด้านความปลอดภัยจากการปนเปื้อน *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น ต่อไป

จุดมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด

2. เพื่อประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

ความสำคัญของการวิจัย

การศึกษานี้จะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ สำหรับเป็นแนวทางในการควบคุมปริมาณ *S. aureus* ในระหว่างกระบวนการผลิต การเก็บรักษา และการวางจำหน่ายน้ำส้มคั้นสด อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการประเมินโอกาสการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำส้มที่มีการปนเปื้อน *S. aureus* และเป็นข้อมูลในการประเมินผลกระทบทางด้านคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร

ขอบเขตการวิจัย

1. ขอบเขตกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำส้มคั้นสดที่จำหน่ายในมหาวิทยาลัย ศูนย์การค้า ตลาด ร้านค้าแผงลอย โรงพยาบาลและศูนย์ราชการ ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

2. ขอบเขตวิธีการศึกษา

การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด และการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

นิยามศัพท์เฉพาะ

Risk analysis: การวิเคราะห์ความเสี่ยง

Risk assessment: การประเมินความเสี่ยง

Hazard identification: การระบุอันตราย

Hazard characterization: การอธิบายอันตราย

Exposure assessment: การประเมินการได้รับสัมผัส

Risk characterization: การอธิบายความเสี่ยง

Probability infection: ความน่าจะเป็นของโอกาสที่เกิดการเจ็บป่วย

Dose response: ปริมาณการรับสัมผัสแล้วเกิดการก่อโรค

Colony forming unit (CFU): หน่วยของการนับจำนวนจุลินทรีย์

Water activity (a_w): ปริมาณน้ำอิสระ/ปริมาณน้ำทั้งหมด

Total Soluble Solids (TSS): ของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ

Brix: หน่วยของของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ

สมมุติฐานของการวิจัย

การบริโภคน้ำส้มคั้นสด ที่มีการปนเปื้อนของ *S. aureus* มีความเสี่ยงที่จะเกิดเจ็บป่วยจากสารพิษที่ผลิตโดย *S. aureus*

ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย

1. สามารถใช้เป็นข้อมูลในการควบคุมการผลิตน้ำส้มคั้นสดให้มีคุณภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

2. สามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับการแจ้งเตือนผู้บริโภคในการบริโภค เพื่อลดความเสี่ยงและป้องกันการเกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำส้มคั้นสด

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยเรื่อง การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด เขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก เป็นการศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงของการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำส้มคั้นสดที่มีการปนเปื้อน *S. aureus* โดยการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. ส้ม
2. น้ำส้มคั้น
3. *S. aureus*
4. หลักการ วิธีการประเมินความเสี่ยง
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ส้ม (Orange)

ส้ม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus aurantium Linn.* เป็นผลไม้ในตระกูล Citrus มีรสเปรี้ยวหวาน มีหลากหลายสายพันธุ์ โดยแหล่งเพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย สำหรับสายพันธุ์ที่นิยมบริโภค เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโชกุน เป็นต้น ส้มอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์มากมาย เช่น วิตามินซี วิตามินเอ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น และยังมีใยอาหารช่วยในการขับถ่าย นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในการเสริมสร้างกระดูก เสริมสร้างคอลลาเจน ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดความเสี่ยงจากโรคมะเร็ง และยังช่วยป้องกันและชะลอการทำลายเซลล์ในร่างกาย โดยมีสารอาหารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Thai Food.com, 2016) ซึ่งการบริโภคส้มนั้นสามารถบริโภคได้ทุกเพศ ทุกวัย จากข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย 2544 แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 แสดงคุณค่าทางสารอาหารของส้มเขียวหวาน

องค์ประกอบสารอาหาร (ปริมาณต่อ 100 กรัม)		องค์ประกอบสารอาหาร (ปริมาณต่อ 100 กรัม)	
พลังงาน	42 กิโลแคลอรี	ฟอสฟอรัส	24 มิลลิกรัม
น้ำ	89.9 กรัม	เหล็ก	0.8 มิลลิกรัม
โปรตีน	0.6 กรัม	เบต้าแคโรทีน	82 ไมโครกรัม
ไขมัน	0.4 กรัม	วิตามินเอ	13 RE
คาร์โบไฮเดรต	9.0 กรัม	วิตามินซี	42 มิลลิกรัม
เส้นใย	1.3 กรัม	ไทอามีน	0.04 มิลลิกรัม
เถ้า	0.1 กรัม	ไรโบฟลาวิน	0.04 มิลลิกรัม
แคลเซียม	30 มิลลิกรัม	ไนอาซิน	0.4 มิลลิกรัม

ที่มา: กระทรวงสาธารณสุข กรมอนามัย กองโภชนาการ, 2544

ส้มจึงเป็นผลไม้ยอดนิยม เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงแล้วยังมีผลผลิตให้บริโภคตลอดทั้งปี นอกจากการบริโภคผลส้มสดแล้ว ยังนิยมนำมาคั้นน้ำเป็นน้ำส้มคั้น

น้ำส้มคั้น (Orange juice)

น้ำส้มคั้น หมายถึง น้ำส้มที่ผ่านกรรมวิธีได้จากการคั้นโดยตรงจากส่วนที่บริโภคได้ของผลส้มที่สุก(แก่) และสด เช่น ส้มเกลี้ยง ส้มเช้ง ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มสีทอง ส้มผิวทอง ส้มสีทับทิมหรือพันธุ์อื่นที่เหมาะสม ที่อยู่ในลักษณะพร้อมบริโภค ซึ่งลักษณะทั่วไปของน้ำส้มคั้น คือ มีสี กลิ่น รสตามธรรมชาติของส้ม ไม่มีสีผิดปกติ และปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหมัก (Al-Jedah, J. H., & Robinson, R. K., 2002)

นอกจากนี้ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กระทรวงอุตสาหกรรม ได้ให้ความหมายของน้ำส้มคั้น (Orange juice) ว่าเป็นเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ (Non-Alcohol Beverage) หรือเรียกได้อีกอย่างว่า (Soft Drink) ได้จากการนำส้มที่สดและสะอาดมาผ่านกรรมวิธีแยกส่วนที่เป็นเปลือก เมล็ด และกากออกได้น้ำส้ม อาจเจือน้ำและแต่งรสด้วยน้ำตาลเกลือหรือไม่ก็ได้ และอาจเติมสารที่ทำให้คงตัว (Stabilizer) (มผช.275/2557)

โดยน้ำส้มเป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเนื่องจากมีวิตามินซีสูง จึงได้รับความนิยม ซึ่งมีการผลิตและจำหน่ายอย่างแพร่หลายทั้งแบบคั้นสดและแบบบรรจุขวด เนื่องจากเป็นเครื่องดื่มที่มีกระบวนการผลิตที่ง่ายโดยการคั้นน้ำจากผลส้มสด หรืออาจมีการผสมส่วนผสมอื่น ๆ

โดยเริ่มจากการนำผลส้มสดมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็น 2 ส่วนหรือปลอกเปลือก แล้วนำมาคั้น อาจมีหรือไม่มีการปรุงแต่งรสชาติก่อนการบรรจุก็ได้แล้วแต่ผู้ผลิต แสดงดังภาพที่ 1 น้ำส้มคั้นสดจะมีค่าความเป็นกรดด่าง ประมาณ 3.30 - 4.19 ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) 0.91 (Bates, R. P. et al., 2001) เนื่องจากน้ำส้มคั้นที่จำหน่ายในรูปแบบของการคั้นสด และมีการผลิตและการบรรจุขวด ณ แหล่งจำหน่าย มีโอกาสที่จะมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* ที่อาจปนเปื้อนลงไปในน้ำส้มคั้นสดนั้นได้ จากการที่ผู้ผลิตไม่มีสุขอนามัยที่ดี ไม่มีการป้องกันการปนเปื้อน โดยการมีบาดแผลที่มือ หรือการไอหรือจามขณะผลิตและบรรจุน้ำส้ม เพื่อให้น้ำส้มคั้นมีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จึงมีการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 356) พ.ศ.2556 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะที่ปิดสนิท และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ.2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งต้องไม่พบ *S. aureus* ในน้ำส้ม 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรหรือมิลลิลิตร

ภาพ 1 แผนผังกระบวนการผลิตน้ำส้มคั้นสด

Staphylococcus aureus

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการได้รับสารพิษจาก *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร ทำให้เกิดอาการอย่างรวดเร็วกับกระเพาะอาหารและลำไส้ *S. aureus* มักจะพบในสิ่งแวดล้อม (ดินน้ำและอากาศ) และยังพบในจมูกและบนผิวของมนุษย์

ลักษณะทั่วไป (General Characteristics)

S. aureus จัดอยู่ในแฟมิลี่ Staphylococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น มีขนาดประมาณ 0.5 - 1.5 ไมโครเมตร สามารถเจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ให้ผลการทดสอบ Coagulase และ Catalase เป็นบวก สามารถเจริญได้ที่ความเป็นกรดด่าง 4.0 - 10.0 ช่วงความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม 6 - 7 (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) ค่าปริมาณน้ำอิสระ(a_w) ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ 0.83 - 0.86 อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้ 7 - 48 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีที่สภาวะความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 0 - 15

สารพิษและการก่อโรค (Toxins and Pathogens)

S. aureus เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสที่ทำให้เกิดโรคได้หลากหลายในมนุษย์ ซึ่งสาเหตุหลักทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ โดยการสามารถสร้างสารพิษสแตปฟีโลคอคคอล เอนเทอโรทอกซิน (Staphylococcal Enterotoxin; SE) ซึ่งการสังเคราะห์สารพิษของ *S. aureus* จะเกิดขึ้น ช่วง Log phase ของการเจริญ หรือระยะการเปลี่ยนแปลงจากระยะ Exponential ถึง Stationary phase ซึ่งมีประสิทธิภาพสูง ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณที่น้อยในระดับนาโนกรัมและสามารถทนความร้อน และความเป็นกรดด่างต่ำได้ (Maria Angeles Argudin et al., 2010) โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและสร้างสารพิษ แสดงรายละเอียดตามตารางที่ 2 สารพิษที่สร้างขึ้นสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 143.3 องศาเซลเซียส (Lawley, R. et al., 2008) ซึ่งพบว่า *S. aureus* สร้างสารพิษได้มากกว่า 20 ชนิด ได้แก่ SEA ถึง SEIV (Jacques-Antoine Hennekinne, Marie-Laure De Buyser, & Sylviane Dragacci, 2012) โดย SEA และ SED เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบ่อยที่สุด (Richard Lawley et al., 2008)

ตาราง 2 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างสารพิษของ *S. aureus*

ปัจจัย	การเจริญ		การสร้างสารพิษ	
	Optimum	Range	Optimum	Range
อุณหภูมิ (°C)	37	7-48	37-45	10-45
ความเป็นกรดด่าง (pH)	6-7	4-10	7-8	4-9.6
ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	0.98	0.83-0.99	0.98	0.85-0.99
ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (%NaCl)	0	0-20	0	0-10

ดัดแปลงมาจาก: Jacques-Antoine Hennekinne, Marie-Laure De Buyser, & Sylviane Dragacci, 2012

แหล่งที่พบเชื้อ (Source of Infection)

สามารถของมนุษย์และสัตว์ (normal flora) ซึ่งมนุษย์และสัตว์จึงเป็นแหล่งของเชื้อชนิดนี้ โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง มากกว่าร้อยละ 50 ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ ร้อยละ 60-80 ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุ สภาพแวดล้อมภายนอก เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึง คือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่ม จำนวนของเชื้อ และสร้างสารพิษได้อย่างรวดเร็ว (สถาบันอาหาร, 2555)

อาการ (Symptom)

การเจ็บป่วยเกิดจากการสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ของเชื้อ *S. aureus* โดยการกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อนี้เข้าไป ซึ่งทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องเกร็ง ท้องเสีย ในรายที่มีอาการรุนแรงจะมีอาการปวดหัว ปวดเกร็งกล้ามเนื้อ และสูญเสียน้ำ ปริมาณเชื้อที่จะทำให้เกิดการเจ็บป่วย (infective dose) ประมาณ 10^5 - 10^8 CFU/g (Seo, & Bohach 2007; Montville, & Matthews, 2008) ระยะฟักตัว 1 - 8 ชั่วโมง แต่ส่วนมากประมาณ 2 - 4 ชั่วโมง ลักษณะอาการที่พบเป็นแบบเฉียบพลัน คือ คลื่นไส้ อาเจียน ร่วมกับอาการปวดท้องและท้องเสีย อาจมีอาการนานถึง 12 วัน ซึ่งอาการเกิดจากพิษไม่ใช่เซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นในอาหารต้องมีจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียมากพอที่จะสร้างสารพิษที่จะทำให้เกิดการเจ็บป่วย ถึงแม้ว่าในอาหารจะมีจำนวนเซลล์สูงถึง 10^9 CFU/g ก็ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รสของอาหาร (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2552)

พยาธิกำเนิด (Pathogenesis)

S. aureus สร้างสารพิษ (toxin) และเอนไซม์ (exoenzyme) จำนวนมาก เช่น สารพิษที่ทำลายเยื่อเมือกเซลล์และผิวหนัง SE พบเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ คือ SEA และ SED กลไกการทำงานของสารพิษเหล่านี้ คือ โปรตีนจะไปรบกวนการทำงานของเซลล์และทำลาย macrophage นอกจากนี้ enterotoxin เป็นพิษต่อร่างกายโดยการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง โดยการส่งสัญญาณไปยังลำไส้ ทำให้เกิดการอาเจียนและท้องเสีย ซึ่ง SE จะทนความร้อนมาก (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2552)

การระบาดและการปนเปื้อน (Outbreaks and Contamination)

การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก Staphylococcal จากการบริโภคอาหารที่มี SE ที่ผลิตโดย *S. aureus* ซึ่งเชื้อ *S. aureus* มาจากจมูก หรือมือของผู้ปรุงอาหาร ที่ถือได้ว่าเป็นแหล่งที่มาของการปนเปื้อนในอาหารผ่านการสัมผัสโดยตรงหรือผ่านทางระบบทางเดินหายใจ (Argudin et al., 2010)

อาหารที่พบการปนเปื้อน ได้แก่ น้ำนม ผลิตภัณฑ์จากนม เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ สลัด และแซนด์วิช เป็นต้น รวมถึงอาหารที่มีการสัมผัสมือผู้ปรุงอาหารโดยตรง เช่น ข้าวปั้นหรือซูชิ โดยมีการศึกษาถึงการปนเปื้อน *S. aureus* ในอาหารประเภทต่าง เช่น การแพร่กระจายของ *S. aureus* ในผลไม้พร้อมบริโภคบริเวณอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี จากการสุ่มตัวอย่างทั้งหมด 84 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน *S. aureus* 42 ตัวอย่าง (ร้อยละ 50) มีค่าเกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยา 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.95) (สุดสายชล หอมทอง และคณะ, 2554) การแพร่กระจายของ *S. aureus* ในเนื้อไก่ดิบปรุงรส ซึ่งพบการปนเปื้อน *S. aureus* ในเนื้อไก่ดิบปรุงรสมากกว่า 10 CFU/g 24 ตัวอย่าง (ร้อยละ 40) จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยพบในช่วง $2.5x10^2$-$3.88x10^3$ CFU/g ซึ่งมากกว่าเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารดิบกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2554 (สุดสายชล หอมทองและคณะ, 2555) และจากการการสำรวจความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคที่จำหน่าย ณ สถานีขนส่งผู้โดยสารในเขตกรุงเทพมหานคร พบ *S. aureus* 25 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 459 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บตัวอย่างในช่วงเทศกาลปีใหม่และสงกรานต์ (กมลวรรณ กันแต่ง และคณะ, 2558) สำรับข้อมูลการระบาดของประเทศไทย โดยกรมควบคุมโรค ไม่พบการระบาดที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยรุนแรงหรือเสียชีวิต จาก *S. aureus* สำหรับการระบาดในต่างประเทศ พบการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจาก *S. aureus* ปี 2009 ในมหาวิทยาลัยนาโกยา ประเทศญี่ปุ่น 75 ราย จากการบริโภคขนมเครป (Kitamoto et al., 2009) และในประเทศฝรั่งเศส พบการระบาดจากการบริโภคชีส 23 ราย (Ostyn et al., 2010)

การควบคุมและป้องกัน (Control and Prevention)

ผู้ปรุงอาหาร ควรคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค โดยในระหว่างการเตรียมอาหารหรือปรุงอาหาร ผู้ปรุงต้องไม่ ไอ หรือจามรดอาหาร หรือควรมีอุปกรณ์ป้องกัน เช่น หน้ากาก หมวกคลุมผม เป็นต้น ควรรับประทานอาหารขณะร้อน หากต้องการเก็บรักษาอาหารควรเก็บไว้ในตู้เย็น ไม่ควรเก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วไว้ในที่มีอุณหภูมิสูง เพราะจะเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็ว ซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบได้บ่อยในการเกิด อาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus* สำหรับผู้บริโภคก่อนที่จะรับประทานอาหารต้องอุ่นให้ร้อนเสียก่อนทุกครั้งเพื่อความปลอดภัย (สถาบันอาหาร, 2555) ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* โดยมีการจัดการด้านสุขลักษณะและการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี ป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษ enterotoxin โดยควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาในการประกอบอาหาร ด้วยการไม่เก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4 องศาเซลเซียส ถึง 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่แบคทีเรียก่อโรคในอาหารสามารถเจริญ และแบ่งตัวหรือเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว (USDA, 2012) และทำลายเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารโดยการใช้ความร้อน

ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

1. ความเป็นกรดด่าง (pH) จากการที่ในน้ำส้มคั้นสดมีวิตามินซีสูง โดยน้ำส้มปริมาตร 250 มิลลิลิตร มีวิตามินซีประมาณ 54 มิลลิกรัม (Al-Jedah, J. H., & Robinson, R. K., 2002) ซึ่งวิตามินซีมีฤทธิ์เป็นกรดจึงทำน้ำส้มมีความเป็นกรด (3.30 - 4.19) และจากงานวิจัยพบว่าวิตามินซีมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะ *S. aureus* ที่สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยวิตามินซีที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (Kallio, J. et al., 2012)

2. อุณหภูมิ น้ำส้มคั้นที่เก็บรักษาด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยเฉพาะ *S. aureus* เนื่องจาก *S. aureus* สามารถเจริญได้ที่ 7 - 48 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถทำลายสารพิษได้

เมื่ออุณหภูมิและความเป็นกรดด่าง เป็นปัจจัยร่วมกันจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* มากยิ่งขึ้น

1. การประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) เป็นองค์ประกอบหนึ่งของการวิเคราะห์ความเสี่ยง (Risk analysis) โดยการวิเคราะห์ความเสี่ยง คือกระบวนการที่อาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ เพื่อแสดงเหตุผล ข้อมูลที่สามารถสร้างความมั่นใจ และใช้เป็นเครื่องมือสนับสนุนการตัดสินใจ ประกอบด้วย

1. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) คือ การประเมินโอกาสที่จะเกิดการเจ็บป่วยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งผลจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำไปใช้ประกอบการตัดสินใจ

2. การจัดการความเสี่ยง (Risk management) เป็นกระบวนการในการกำหนดนโยบายและการเลือกการป้องกันและการควบคุม โดยการปรึกษาร่วมกันกับผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

3. การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication) คือ การติดต่อสื่อสาร เชื่อมโยง แลกเปลี่ยนข้อมูล ข่าวสาร และความคิดเห็นระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยง ผู้บริโภค ภาคอุตสาหกรรม หรือองค์กรที่เกี่ยวข้อง

ประโยชน์ของการประเมินความเสี่ยง (WHO, 2018)

1. การประเมินความเสี่ยงให้ข้อมูลในการตัดสินใจเพื่อให้สามารถนำไปสู่การปรับปรุงทางด้านสุขภาพของประชาชนและเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการใช้ในการดำเนินการด้านกฎระเบียบต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน

2. การประเมินความเสี่ยงจะช่วยให้อุตสาหกรรมอาหารสามารถพัฒนาแผน HACCP ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยช่วยระบุอันตรายที่มีแนวโน้มที่จะเกิดขึ้น ผลของการเปลี่ยนแปลงนี้คือ อันตรายจะถูกกำหนดไว้ในแง่ของความเสี่ยงต่อผลกระทบด้านสุขภาพของมนุษย์มากกว่าในแง่ของการปนเปื้อนของอาหาร

3. การประเมินความเสี่ยงยังมีบทบาทสำคัญในด้านการค้าระหว่างประเทศ ช่วยทำให้มั่นใจว่ามีประเทศนั้น ๆ มีข้อกำหนดด้านความปลอดภัยของอาหารที่มีการใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์ โดยการจัดหาวิธีการในการกำหนดระดับการคุ้มครองด้านสาธารณสุขในระดับเดียวกันระหว่างประเทศ หากไม่มีการประเมินอย่างเป็นระบบเกี่ยวกับการประเมินความเสี่ยงของความปลอดภัยด้านอาหารอาจก่อให้เกิดอุปสรรคในทางการค้า ดังนั้นการตระหนักถึงความสำคัญของวิธีการทางวิทยาศาสตร์นี้จะช่วยให้เกิดการค้าอย่างเป็นธรรม องค์การการค้าโลกจำเป็นต้องใช้มาตรการความปลอดภัยด้านอาหารของแต่ละประเทศในการประเมินความเสี่ยง คณะกรรมาธิการ Codex Alimentarius ซึ่งจัดตั้งมาตรฐานความปลอดภัยด้านอาหารระหว่างประเทศ ได้กำลังพัฒนาหลักการในการใช้การประเมินความเสี่ยงในการกำหนดมาตรฐานดังกล่าว

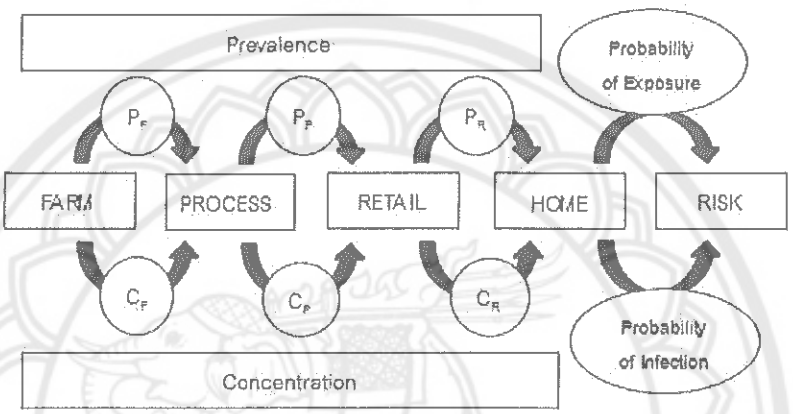
สำหรับการดำเนินการในส่วนของการประเมินความเสี่ยง โดยใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ เพื่อระบุอันตรายและปัจจัยเสี่ยง รวมถึงการประเมินโอกาสที่เกิดการเจ็บป่วยจากการได้รับอันตราย (Hoornstra, E., & S. Notermans, 2001) ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ

1. **การระบุอันตราย** (Hazard identification) เป็นขั้นตอนแรกของกระบวนการประเมินความเสี่ยง เพื่อกำหนดขอบเขตหรืออันตรายที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษที่มีอยู่ในอาหารชนิดหนึ่ง ซึ่งการระบุอันตรายจะอาศัยข้อมูลที่มีความชัดเจนอยู่แล้วว่า โรคอาหารเป็นพิษเกิดจากสาเหตุของจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดใด ข้อมูลการระบาดขั้นตอนนี้จึงเป็นการรวบรวมข้อมูลที่แสดงความเป็นอันตราย หรือการทำให้เกิดการเจ็บป่วย ในอาหารที่ต้องการหาระดับความเสี่ยง ข้อมูลของจุลินทรีย์ก่อโรคในด้านของการเจริญเติบโตหรือการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อม อาหาร หรือในร่างกาย ข้อมูลพื้นฐานของลักษณะอาหารที่ต้องการศึกษา เช่น ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ข้อมูลด้านการก่อโรคเพื่อใช้เป็นหลักฐานว่าจุลินทรีย์เป้าหมายเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไปของการประเมินความเสี่ยง (Lammerding, A. M., & Fazil, A., 2000)

2. **การประเมินการสัมผัส** (Exposure assessment) เป็นขั้นตอนที่มีความสัมพันธ์กับขั้นตอนการอธิบายอันตราย เนื่องจาก ผลที่ได้จากการประเมินการสัมผัส คือ ปริมาณ (Dose) ของจุลินทรีย์ก่อโรคหรือสารพิษ(Toxin) ที่คนได้รับสัมผัส (Expose) จากการบริโภค (Consumption) อาหารชนิดนั้น ๆ จะสังเกตได้ว่า การประเมินปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคหรือสารพิษในอาหารเป็นสิ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงมาก (Dynamic) เนื่องจากธรรมชาติของจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนหรือตายลดจำนวนลงได้ในทุกขั้นตอนของห่วงโซ่อาหารก่อนที่มนุษย์จะบริโภคอาหารเข้าในร่างกายซึ่งรูปแบบการบริโภค (Food Consumption Pattern) เป็นข้อมูลที่จำเป็นในการประเมินการสัมผัส หากปริมาณอาหารที่บริโภคเข้าไปมีมากขึ้นย่อมส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับความเสี่ยงมากขึ้น โดยส่วนมากความเสี่ยงจะไม่ได้เพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอาหารที่บริโภค แต่จะมีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของร่างกายหรือการเจ็บป่วย (Dose and Response) ดังนั้นข้อมูลของรูปแบบการบริโภคจะรวมถึง อัตราการบริโภคต่อครั้ง หรือต่อสัปดาห์ หรือต่อปี วิธีการปรุงและบริโภคอาหาร รูปแบบการบริโภคจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นฐานทางเศรษฐกิจ สังคม และวัฒนธรรม ชนชาติ ฤดูกาล ภูมิศาสตร์ และพฤติกรรมการบริโภคอาหาร และปัจจัยอื่น ๆ ที่ควรพิจารณาร่วมกันซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อระดับความเสี่ยงคือ อายุ และภูมิคุ้มกันของกลุ่มผู้บริโภค เช่น เด็ก หญิงตั้งครรภ์ ผู้สูงอายุ หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ

การประเมินการสัมผัสเป็นกระบวนการเพื่อประมาณความน่าจะเป็น (Probability) หรือความเป็นไปได้ (Likelihood) ที่คนแต่ละคนหรือประชากรที่สนใจจะรับสัมผัส (Expose) อันตราย (Hazard) ผลที่ได้จากการประเมินการได้รับสัมผัส คือ ความน่าจะเป็นในการสัมผัส (Probability of Exposure: P_E) ซึ่งแบบจำลองของความน่าจะเป็นในการสัมผัสต้องมีข้อมูล 3 ส่วน คือ ความชุก

ของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (Prevalence) ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (Concentration) และปริมาณการบริโภค (Consumption) นอกจากนี้ ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ร่างกายได้รับจากการบริโภคอาหาร (Dose) คำนวณได้จากผลคูณของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (Concentration) และปริมาณการบริโภค (Consumption) ซึ่งแสดงองค์ประกอบของการประเมินความเสี่ยงดังภาพ 2

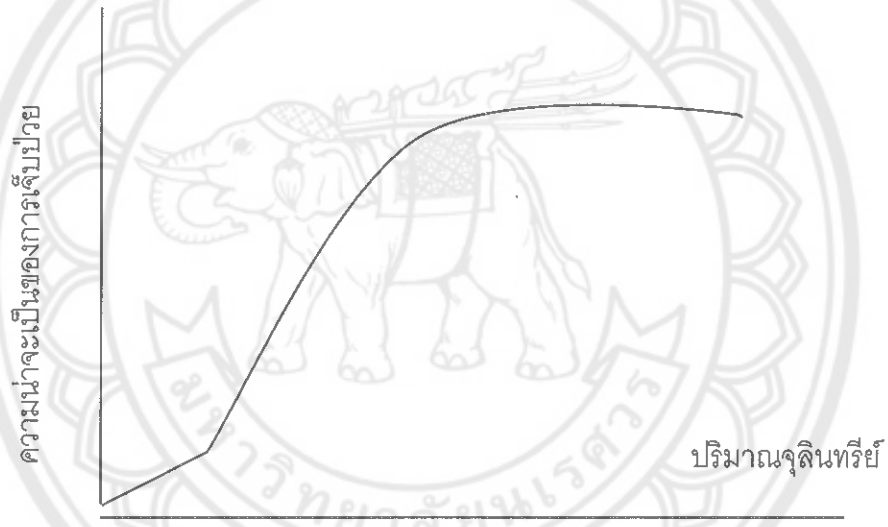


ภาพ 2 องค์ประกอบของการประเมินความเสี่ยง "Farm to Fork" ปัจจัยที่มีอิทธิพลหรือการเปลี่ยนแปลงความชุกและหรือความเข้มข้นที่ฟาร์ม (P_F, C_F) ระหว่างการแปรรูป (P_P, C_P) การจำหน่าย/การจัดเก็บ (P_R, C_R) ที่บ้าน (P_H, C_H) เพื่ออธิบายการประเมินการได้รับสัมผัส

ที่มา: Lammerding, A. M., & Fazil, A., 2000

3. **การอธิบายอันตราย** (Hazard characterization **หรือ** Dose-response) เป็นการหาความสัมพันธ์ของสัดส่วนการเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นจากการได้รับปริมาณจุลินทรีย์ เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของ 3 องค์ประกอบหลัก คือจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) ร่างกายมนุษย์ (Host factor) และสิ่งแวดล้อม (Environment) ซึ่งสำหรับอาหารที่ร่างกายบริโภคเข้าไป จะเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้จะต้องมีองค์ประกอบทั้ง 3 นี้ในรูปแบบหรือสถานการณ์ (Scenario) ที่เหมาะพอดี ตัวอย่างสถานการณ์ เช่น การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ (Outbreaks) ในการระบาดแต่ละครั้งต้องมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ (Infectious pathogen) ในอาหาร และกลุ่มคนที่มีความไวต่อจุลินทรีย์ก่อโรค (Susceptible population) บริโภคอาหารเข้าไปในปริมาณที่มาก

พอที่จะมีจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรคต่ำสุดที่จะก่อให้เกิดโรค (Infective dose) ได้ โดยประเด็นสำคัญของแต่ละองค์ประกอบที่ควรพิจารณาเป็นหลัก คือ ความรุนแรงของจุลินทรีย์ก่อโรค (Virulence) ระดับความต้านทานของร่างกาย (Immunity) และลักษณะของอาหารที่ทำหน้าที่เป็นสิ่งแวดล้อมซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ก่อโรค (Growth and Survival) จากรายละเอียดที่แตกต่างกันขององค์ประกอบทั้ง 3 จะสะท้อนหรือประเมินได้ง่ายขึ้น โดยการสร้างเส้นโค้งความสัมพันธ์ของปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและโอกาสการเกิดความเจ็บป่วย (Dose-response curve) ซึ่งแสดงถึงปริมาณจุลินทรีย์ที่มากขึ้น ความน่าจะเป็นหรือโอกาสของการเกิดการเจ็บป่วยก็เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3) ทั้งยังกำหนดความแตกต่างได้โดยอาศัยแบบจำลอง (Model) เพื่ออธิบายความแตกต่างหรือความไม่แน่นอนในสถานการณ์ต่าง ๆ ได้



ภาพ 3 เส้นโค้งความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และผลการตอบสนอง

ที่มา: ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2552

แบบจำลองที่ถูกนำมาใช้อธิบายการก่อโรคหรือความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากปริมาณจุลินทรีย์ (Probability of illness from dose: P_I (D)) (ภาพ 4)

1. Exponential (Haas,1983)

$P_i(d) = 1 - \exp(-rd)$

where $P_i(d)$ = probability of infection at dose(d)

d = Dose (CFU)

r = model parameter specific for each pathogen

2. Beta-Poisson (Haas,1983)

$P_i(d) = 1 - (1 + d/\beta)^{-\alpha}$

where $P_i(d)$ = probability of infection at dose(d)

d = Dose (CFU)

α = model (infectivity) parameter

β = model (shape) parameter

3. Weibull-Gamma (Farber et al.,1996)

$P_i(d) = 1 - [1 + (d^b)/\beta]^{-\alpha}$

where $P_i(d)$ = probability of infection at dose(d)

d = Dose (CFU)

α = model (infectivity) parameter

β = model (infectivity) parameter

b = model (shape) parameter

4. Weibull (Krewski and van Ryzin ,1980)

$P_i(d) = 1 - \exp(-ad^b)$

where $P_i(d)$ = probability of infection at dose(d)

d = Dose (CFU)

a = model (infectivity) parameter

b = model (shape) parameter

5. Gompertz (Coleman and Marks ,1998)

$P_i(d) = 1 - \exp[-\exp(a+bf(d))]$

where $P_i(d)$ = probability of infection at dose(d)

d = Dose (CFU)

a = model (infectivity) parameter

b = model (shape) parameter

$f(x)$= function of dose

ภาพ 4 สมการทางคณิตศาสตร์ที่นำมาอธิบายข้อมูลของปริมาณการได้รับสัมผัส (dose-response) ของแบคทีเรียก่อโรคที่เกิดจากอาหาร

ที่มา: Buchanan, R. L. et al., 2000

ซึ่งแบบจำลองเหล่านี้ต้องทราบปริมาณหรือจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรคที่ร่างกายได้รับเข้าไปจริง (Dose) โดยข้อมูลนี้จะได้จากขั้นตอนการประเมินการสัมผัส

4. **การอธิบายความเสี่ยง** (Risk characterization) เป็นการนำข้อมูลจากขั้นตอนการประเมินการได้รับสัมผัสและการอธิบายอันตราย มาคำนวณหาความเป็นไปได้ (Likelihood) ที่ประชากรจะเกิดการเจ็บป่วยจากจุลินทรีย์ก่อโรค (Probability of illness; P_i) การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณใช้การแจกแจงความน่าจะเป็น เป็นตัวแทนของค่าความเป็นไปได้ของตัวแปรนั้น ซึ่งจะได้ค่าประมาณความเสี่ยงในรูปแบบการแจกแจงความน่าจะเป็น

เครื่องมือที่ใช้ในการคำนวณความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยงในขั้นตอนสุดท้ายหรือ Risk Characterization นิยมนำเอาซอฟแวร์ มาใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการคำนวณทางคณิตศาสตร์เพื่อให้ได้ค่าความเสี่ยง (สถาบันอาหาร, 2555) สำหรับการสร้างแบบจำลองความเสี่ยงสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก

1. สเปรดชีต (Excel) ซอฟแวร์หรือซอฟต์แวร์อื่น ๆ การประเมินความเสี่ยงเฉพาะที่ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับการประเมินความเสี่ยงและแบบจำลองการสุ่ม

2. ซอฟต์แวร์แบบจำลองทั่วไป การเขียนโปรแกรมภาษา ซอฟแวร์การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และซอฟต์แวร์ทางสถิติ ต้องใช้ทักษะการเขียนโปรแกรมขั้นสูงมากขึ้นและจะไม่ได้รับการพัฒนาโดยเฉพาะสำหรับการทำประเมินความเสี่ยง

3. ซอฟแวร์ที่เฉพาะเจาะจงสำหรับการวิเคราะห์แบบ Bayesian หรือแบบอื่น ๆ

สำหรับซอฟแวร์ที่ถูกนำมาใช้ในการประเมินเสี่ยงทางจุลชีววิทยาแสดงรายละเอียดดังตาราง 3

ตาราง 3 แสดงซอฟท์แวร์ที่นำมาใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยา

Software	From	Type	Comment
[1]@Risk	Palisade www.palisade.com	www.palisade.com Risk assessment software, add-on to Excel spreadsheet – simulation	Traditionally widely used for published QMRAs
[1]Crystal Ball	Oracle	Risk assessment software, add-on to Excel spreadsheet – simulation	Less frequently used for QMRA
[1]ModelRisk	Vose Software BVBA www.vosesoftware.com	Risk assessment software, add-on to Excel spreadsheet – simulation	Released 2009
[1]Analytica	Lumina www.lumina.com	Visual tool for decision models	Clear graphical interface, frequently used
[1]ExtendSim	Imagine that www.extendsim.com	Simulation software	Frequently used in non-microbiological risk assessment
[1]Arena	Rockwell Automation www.arenasimulation.com	Simulation software	Used for (industrial) process simulation and optimisation
[2]R	Freeware www.r-project.org	Statistical computing language	Frequently used for mathematical modelling, increasingly used in risk assessment

ตาราง 3 (ต่อ)

Software	From	Type	Comment
[2]Mathematica	Wolfram www.wolfram.com	Modelling, computing, simulation, mathematics	Frequently used for mathematical modelling, also for risk assessment
[2]SAS	www.sas.com	Modelling, simulation, statistical analysis, Bayesian analysis	Frequently used for mathematical modelling and statistics, also for risk assessment
[2]MatLab	Mathworks www.mathworks.com	Technical computing language	Frequently used for mathematical modelling, also for risk assessment
Software	From	Type	Comment
[3]WinBugs	MRC Biostatistics Unit www.mrc-bsu.cam.ac.uk/ bugs	Bayesian analysis, Markov chain Monte Carlo	-
[3]Hugin	Hugin Expert www.hugin.com	Bayesian belief networks	-

หมายเหตุ: [123]ดัชนีระบุประเภทของเครื่องมือซอฟต์แวร์ตามที่กำหนดด้านบนของตาราง

ที่มา: John B. et al., 2012)

การวิเคราะห์และคำนวณการแจกแจงความน่าจะเป็นตามแบบจำลอง(Model) ด้วยวิธีการทางคณิตศาสตร์ทั่วไปจะมีความยุ่งยากและเสียเวลา ดังนั้นจึงได้มีการใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ร่วมกับโปรแกรมมาช่วยในการวิเคราะห์และคำนวณ ซึ่งโปรแกรมที่นำมาวิเคราะห์ทางด้านการประเมินความเสี่ยง เช่น

การวิเคราะห์แบบมอนติคาร์โล (Monte Carlo simulation) และคำนวณซ้ำ ๆ เพื่อเรียนแบบเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นจริงทั้งหมดที่เป็นไปได้แบบ Simulation หลักการวิเคราะห์แบบ Monte Carlo คือ การสุ่มค่าที่เป็นไปได้ (Random Sampling) ของตัวแปรทุกตัวในแบบจำลอง ซึ่งการสุ่มค่าที่เป็นไปได้จะขึ้นอยู่กับรูปแบบของการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรนั้น ๆ เมื่อสุ่มค่าที่เป็นไปได้จากทุกตัวแปรแล้วนำค่าเหล่านั้นมาคำนวณในแบบจำลองตามวิธีการทางคณิตศาสตร์ การสุ่มค่าที่เป็นไปได้ 1 ครั้ง เมื่อคำนวณจะได้ผลลัพธ์หนึ่งค่า (Point Estimate) และเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้นจะทำการสุ่มค่าที่เป็นไปได้ซ้ำ ๆ (Iteration) แล้วทำการคำนวณตามแบบจำลองได้ผลลัพธ์เท่ากับจำนวนซ้ำที่สุ่ม ดังนั้น ยิ่งเพิ่มจำนวนการสุ่มมากขึ้นความถูกต้องของการวิเคราะห์ก็มากขึ้นด้วย ผลลัพธ์จำนวนมากที่ได้จะนำมาสร้างรูปแบบการแจกแจงความน่าจะเป็น (ศุภชัย ใช้เนียมวงศ์, 2552)

วิธีการวิเคราะห์แบบลาติน ไฮเปอร์คิวบ์ (Latin hypercube) เป็นการสุ่มที่ช่วงของการสุ่มทั้งหมดจะถูกแบ่งเป็นช่วงโดยที่จำนวนช่วงของการแบ่ง เท่ากับจำนวนครั้งที่จะทำการสุ่มทั้งหมด แต่ละช่วงจะถูกสุ่มเพียง 1 ครั้งดังนั้นการสุ่มแบบลาตินไฮเปอร์คิวบ์จึงเป็นการสุ่มแบบไม่ทดแทนค่าที่ถูกสุ่มออกและกลุ่มของค่าที่สุ่มออกมาได้จากแต่ละ ครั้งที่ทำการสุ่มจะเป็นสัดส่วนกับการกระจายตัวของความน่าจะเป็น (จินตนา ตันเวชศิลป์, 2556)

ผลของการประเมินความเสี่ยง คือ ค่าประมาณความเสี่ยงในรูปของความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยต่อมื้อ เช่น 1×10^{4} สามารถแปลความหมายได้ 2 แนวทาง คือ ความหมายเชิงปัจเจกชน (individual) และความหมายเชิงประชาชน (population) เช่น ถ้าบุคคลหนึ่งบริโภคอาหารที่ผลิตและปรุงตามการศึกษานี้ 10,000 ครั้ง (หรือบริโภคอาหารนี้ทุกวัน วันละ 3 มื้อ คิดเป็นเวลาประมาณ 10 ปี) จะมีโอกาสป่วย 1 ครั้ง หรือ ถ้าประชากร 10,000 คนบริโภคอาหารที่ผลิตและปรุงตามการศึกษานี้จะมี 1 คนที่มีโอกาสป่วย (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2552)

ดังนั้น การประเมินความเสี่ยง เป็นกระบวนการหนึ่งที่องค์การอนามัยโลก (WHO) และโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Commission; CAC) WHO/ FAO ซึ่งเป็นหน่วยงานที่กำหนดมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ นำมาใช้เป็นเครื่องมือเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาประกอบการตัดสินกรณีเกิดข้อพิพาททางการค้าสินค้าอาหารที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของอาหารในระดับสากล รวมถึงการนำไปใช้ในการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของระดับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งการประเมินความเสี่ยงได้มีการดำเนินการประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหลาย ๆ ชนิด เช่นงานวิจัยต่อไปนี้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณเบื้องต้นทางจุลชีววิทยาของ Staphylococcal enterotoxins ในชีสมินัสสดอาหารยอดนิยมในบราซิล ซึ่งเป็นการประเมินความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับ Staphylococcal enterotoxins (SE) intoxication หลังจากการบริโภคชีสมินัสสดของชาวบราซิล จากข้อมูลของ Staphylococci ที่ให้ผล Coagulase เป็นบวก 350 ตัวอย่าง มี 73% ของสายพันธุ์เป็น toxigenic และการพยากรณ์ทางจุลชีววิทยาด้วย ComBase และโปรแกรม Pathogen Modeling Program (PMP) models ในการพยากรณ์อัตราการเจริญและช่วง Lag-phase ในชีสมินัสสด โดยกำหนดความแตกต่างของความเป็นกรดด่าง ความเข้มข้นของเกลือ และอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาของอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 7 วันก่อนการบริโภค ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตและ Lag-phase มากที่สุด ความน่าจะเป็นของการบริโภค SE เท่ากับหรือสูงกว่าปริมาณสารพิษ 100 นาโนกรัม โดยคำนวณจากแบบจำลอง Monte Carlo ด้วยซอฟต์แวร์ @Risk สำหรับความเข้มข้นเริ่มต้นของ *S. aureus* เป็นพารามิเตอร์ที่มีผลกระทบมากต่อข้อมูลที่ได้จาก @Risk ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของหลักการผลิตที่ดีของการผลิตชีสมินัสสดและสภาวะการเก็บรักษาที่จุดขายมีความเหมาะสม ดังนั้นการประเมินเสี่ยงเบื้องต้นของ Staphylococcal intoxications จากการบริโภคชีสมินัสสดของชาวบราซิลจึงต่ำและจากการศึกษาพบว่าข้อมูลหลายอย่างที่จำเป็นยังขาดหายไป จึงต้องได้รับการปรับปรุงสำหรับการประเมินความเสี่ยงครั้งต่อไป (Nunes, M. M. et al., 2017)

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยาของ *S. aureus* ในชีสธรรมชาติและชีสปรุงแต่งในประเทศเกาหลี ได้มีการประเมินความเสี่ยงตามขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงโดยการระบุอันตรายในชีส คือ *S. aureus* ซึ่งได้จากการรวบรวมข้อมูลที่มีความเกี่ยวข้องจากแหล่งข้อมูลต่าง ๆ ต่อมาเป็นการประเมินการได้รับสัมผัส ได้จากการหาปริมาณการปนเปื้อน *S. aureus* ในชีสและการพยากรณ์การเจริญเติบโตของ *S. aureus* ที่อุณหภูมิและเวลาของกระบวนการผลิตและการกระจายชีสไปยังผู้บริโภค สำหรับการอธิบายอันตรายเป็นการหาปริมาณที่ร่างกายได้รับแล้วทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากการแบบจำลอง (model) ทำให้ได้ค่าความเสี่ยงที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะถูกนำมาคำนวณโดยการใช้โปรแกรม @ Risk เพื่อนำมาอธิบายความเสี่ยง ซึ่งพบว่ามีความเสี่ยงอยู่ในระดับที่ต่ำมาก โดยมีค่าความน่าจะเป็นของการเจ็บป่วยต่อคนต่อวัน จากการบริโภคชีสธรรมชาติและชีสปรุงแต่ง เท่ากับ 2.24×10^{-9} และ 2.32×10^{-6} ตามลำดับ (Lee, H. et al., 2015)

การประเมินความเสี่ยง *S. aureus* ที่ปนเปื้อนอาหารพร้อมบริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร โดยเป็นการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารสำเร็จรูปที่พร้อมบริโภค ประเภทอาหารคาว ขนมหวาน และเบเกอรี่ จำนวนชนิดละ 250 ตัวอย่าง พบความชุกของปริมาณการปนเปื้อน มากกว่าหรือเท่ากับ 100 เซลล์ต่อกรัมเท่ากับ 0.176 การคำนวณความน่าจะเป็นของการปนเปื้อนเชื้อในตัวอย่างอาหารพร้อมบริโภคในแต่ละระดับของการปนเปื้อนในช่วง 34-340 เซลล์ต่อกรัมด้วยวิธี Gumbel's method ซึ่งมีความน่าจะเป็นของอาหารสำเร็จรูปมีปริมาณน้ำอิสระมากกว่า 0.85 เท่ากับ 0.962 โอกาสเสี่ยงจากการบริโภคอาหารที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน และการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนมากกว่าหรือเท่ากับ 100 เซลล์ต่อกรัม คือ 0.5773 และ 0.3255 ตามลำดับ จากการสำรวจประชากร 1,069 คน ความถี่ของการบริโภคอาหารสำเร็จรูป 1,095 มื้อต่อปี มีความน่าจะเป็นของความเสี่ยงเท่ากับ 0.562 เมื่อนำข้อมูลมาคำนวณความเสี่ยงของประชากรที่นิยมบริโภคอาหารพร้อมบริโภค พบว่ามีโอกาสที่จะเกิดการเจ็บป่วยเนื่องจาก *S. aureus* จำนวน 1,832 ครั้งต่อปีต่อประชากรในกรุงเทพมหานคร 100,000 คน และเพื่อให้ได้ข้อมูลในการสนับสนุนความเสี่ยงนี้ โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป @ Risk มาวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนก่อนและหลังให้ความร้อน จำนวนจุลินทรีย์และปริมาณการบริโภคอาหารพร้อมบริโภค และสร้างแบบจำลอง Tonado display (Sensitivity analysis) แสดงในรูป rank correlation coefficient พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ จากการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จะขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้นและเวลาที่เก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิห้อง และมีผลกระทบต่อปริมาณเชื้อที่ผู้บริโภคได้รับ จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลให้ผู้จัดการความเสี่ยงนำไปพิจารณาใช้ในการจัดการความเสี่ยงเนื่องจาก *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารพร้อมบริโภคต่อไป (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2554)

การประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยาของ Staphylococcal Food Poisoning ในคิมบับเกาหลี ซึ่งเป็นการประเมินความเสี่ยงเบื้องต้นโดย Monte Carlo simulation จากการใช้โปรแกรม @ Risk และการวิเคราะห์สถานการณ์ของเวลาในการเก็บรักษาและระดับการปนเปื้อนเริ่มต้น เพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารนี้ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าความชุกและความเข้มข้นของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในคิมบับ ในร้านค้าปลีกควรบริโภคภายใน 1 ชั่วโมงของการซื้อ และยังระบุว่าหากผู้บริโภคต้องการบริโภคอย่างปลอดภัย ควรเก็บคิมบับไว้ไม่เกิน 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิแวดล้อม และความเข้มข้นของ *S. aureus* ไม่ควรเกิน 1 CFU/g ในช่วงเวลาของการเตรียม (Min-Jeong Rho et al., 2007)

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยาของ *Clostridium perfringens* ในชีสธรรมชาติและชีสปรุงแต่ง ซึ่งการศึกษาดำเนินการตามขั้นตอนของการประเมินความเสี่ยง 4 ขั้นตอน โดยการระบุอันตรายได้จากการรวบรวมข้อมูลงานวิจัยและการรายงานทางระบาดวิทยา การอธิบายอันตรายจะได้จากการแบบจำลองการคำนวณทางคณิตศาสตร์ของปริมาณที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วย สำหรับการประเมินการสัมผัส จะเป็นการหาความชุก *C. perfringens* อุณหภูมิในการจัดเก็บ เวลาในการจัดเก็บ และปริมาณการบริโภคชีส ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาประมาณความน่าจะเป็นที่เกิดการเจ็บป่วยจาก *C. perfringens* เมื่อบริโภคชีส ด้วยโปรแกรม @Risk แล้วให้ผลของความน่าจะเป็นที่จะเกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคชีสต่อคนต่อวันสำหรับชีสธรรมชาติและชีสปรุงแต่ง เท่ากับ 9.57×10^{-14} และ 3.58×10^{-14} ตามลำดับ จากผลสามารถสรุปได้ว่าความน่าจะเป็นที่จะเกิดการเจ็บป่วยจาก *C. perfringens* เมื่อบริโภคชีส มีความเสี่ยงต่ำ และสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของ *C. perfringens* ในชีสธรรมชาติและชีสปรุงแต่งได้ (Lee, H. et al., 2016)

การประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยาของ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยในประเทศมาเลเซีย : แบบจำลองเบื้องต้นตั้งแต่การขายถึงการบริโภค แนวทางในการศึกษาเป็นการทดลองและสำรวจข้อมูลร่วมกับการใช้โปรแกรม @Risk ด้วย Monte Carlo simulation โดยมี 2 ขั้นตอน คือ การประเมินการสัมผัส และการอธิบายลักษณะความเสี่ยง ซึ่งคือ การประเมินการสัมผัส เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตร่วมกับอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษา รวมถึงระยะเวลาการให้ความร้อนถึงการบริโภค และปริมาณแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกาย แล้วนำไปประเมินความเสี่ยง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.06×10^{-4} ต่ออาหารสุก การวิเคราะห์ความไวซึ่งบ่งชี้ถึงจำนวน *V. parahaemolyticus* เริ่มต้นและเวลาในการเก็บ(จุดขายและบ้าน) ซึ่งเป็นพารามิเตอร์หลักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง และนำไปสู่ความเสี่ยงของการเจ็บป่วย โดยการศึกษานี้ได้ให้แนวทางพื้นฐานที่จะลดความเสี่ยงของการเกิด Vibriosis และการป้องกันผู้บริโภค (Malcolm, T. T. H. et al., 2016)

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *Salmonella* ในเนื้อไก่ จากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค เป็นการประเมินผลกระทบจาก *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่สดและเนื้อไก่ ปรุงสุกจากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค โดยเก็บตัวอย่างเนื้อไก่สดจากตลาดสด 6 พื้นที่ในกรุงเทพมหานคร และ 3 จังหวัด ในเขตปริมณฑล คือ จังหวัดนนทบุรี จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสมุทรสาคร จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 10 ตัวอย่าง จะได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง เพื่อหาค่าความชุกและความเข้มข้นของ *Salmonella* ผลที่ได้คือ ความชุกเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 79.63 และความเข้มข้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3 - 88 MPN/g ซึ่งจะใช้ความเข้มข้นสูงสุด 88 MPN/g (1.94 log

MPN/g) และใช้แบบจำลอง Exponential อธิบายการเพิ่มจำนวน *Salmonella* ที่ระดับค้าปลีก ซึ่งวางจำหน่ายในตลาดสด และระดับการขนส่งถึงระดับครัวเรือนของผู้บริโภค พบว่าผลในระหว่างการวางจำหน่ายที่ตลาดสด ณ อุณหภูมิ 10 °C ระยะเวลา 12 ชั่วโมง *Salmonella* เพิ่ม จำนวนเป็น 2.32 log MPN/g ในระหว่างการขนส่งจากตลาดสดถึงครัวเรือนของผู้บริโภค ณ อุณหภูมิ 17 °C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง *Salmonella* เพิ่มจำนวนเป็น 2.83 log MPN/g และได้ใช้แบบจำลอง log linear อธิบายการลดจำนวนของ *Salmonella* ในระดับครัวเรือนเพื่อการบริโภค พบว่าจากการปรุงอาหารเป็นเนื้อไก่ปรุงสุกด้วย ความร้อน 64°C ระยะเวลา 1 นาที *Salmonella* ลดจำนวนเหลือ 0.76 log MPN/g ผลจากการศึกษาพบว่า เมื่อกำหนดค่าความชุก *Salmonella* คงที่ร้อยละ 79.63 และปริมาณการบริโภคเนื้อไก่ของประชากรไทยโดยเฉลี่ย 9.77 กรัม/คน/วัน ความน่าจะเป็นที่จะได้รับ *Salmonella* จากเนื้อไก่ เท่ากับ 0.7963 ความน่าจะเป็นในการ เจ็บป่วยจาก *Salmonella* ในเนื้อไก่ เท่ากับ 0.09326 และความเสี่ยงจากการเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคเนื้อไก่ ที่มีการปนเปื้อน *Salmonella* เท่ากับ 0.07426 ซึ่งผลจากการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณแสดงให้เห็นว่า ควรมีการจัดทำมาตรการด้านการจัดการความเสี่ยง เพื่อควบคุม *Salmonella* ในทุกขั้นตอนการผลิต (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ และคณะ, 2556)

การประเมินแนวทางในการลดการปนเปื้อนของพาทูลิน ในน้ำแอปเปิ้ลโดยใช้รูปแบบการประเมินความเสี่ยงตั้งแต่ฟาร์มถึงการบริโภค ซึ่งพาทูลิน เป็น ไมโคทอกซิน ที่ผลิตโดยเชื้อรารวมถึง *Penicillium expansum* การศึกษาการปนเปื้อนพาทูลิน จะเน้นเช่นเดียวกันกับการเจริญเติบโตของ *P. expansum* สภาวะการผลิตพาทูลิน ที่แตกต่างกัน และผลของกระบวนการผลิตต่อความเข้มข้นของพาทูลิน ในน้ำแอปเปิ้ล สำหรับวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อเก็บข้อมูลที่จำเป็น และพัฒนารูปแบบการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ สำหรับประเมินแนวทางในการลดการปนเปื้อนของ พาทูลิน การผลิตน้ำแอปเปิ้ลมี 3 ชนิดของแอปเปิ้ล คือแอปเปิ้ลสด แอปเปิ้ลที่ใช้ระยะเวลาการเก็บสั้น (short term storage) และแอปเปิ้ลที่เก็บไว้นาน (long term storage) ซึ่งการใช้รูปแบบการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณพบว่าการพยากรณ์ความเข้มข้นของพาทูลินในน้ำแอปเปิ้ลทั้งแบบใสและแบบขุ่นมีความถูกต้องมากกว่าวิธีดั้งเดิม และการใช้แอปเปิ้ลที่ที่เก็บไว้นาน ทำให้มีการปนเปื้อน พาทูลิน ในน้ำแอปเปิ้ลมากขึ้น ระยะเวลาของการจัดเก็บระหว่างการจัดส่งถึงผู้ผลิตและกระบวนการแปรรูปแอปเปิ้ลมีผลต่อความเข้มข้นของพาทูลิน และผลกระทบนี้มีความชัดเจนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแอปเปิ้ลที่เก็บไว้นาน และแอปเปิ้ลที่ใช้เวลาการเก็บสั้น ดังนั้นระยะเวลาของการจัดเก็บจึงควรกำหนดให้เป็นจุดควบคุมวิกฤตของระบบ HACCP และการ

ทดสอบให้ผลของการลดลงในระดับที่ต่ำกว่า 25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับร้อยละ 99.7 ถึงร้อยละ 99.9 ในน้ำแอปเปิ้ลทั้งแบบใสและแบบขุ่น (Baert, K. et al., 2011)

นอกจากนี้การประเมินการสัมผัส เป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในการประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยา จึงได้มีการศึกษาในส่วนนี้โดยเฉพาะในอาหารประเภทต่าง ๆ เช่น การประเมินการสัมผัส *B. cereus* ในอาหารพร้อมบริโภคคิมบับ ซึ่งเป็นการศึกษาการสร้างแบบจำลองความน่าจะเป็นของระดับการปนเปื้อน *B. cereus* ในคิมบับ ตั้งแต่การเตรียมถึงการบริโภค เพื่อหาพารามิเตอร์สำหรับนำไปประเมินการสัมผัส *B. cereus* และนำพารามิเตอร์เหล่านั้นไปคำนวณด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยพบว่า การประเมินระดับปนเปื้อนจากน้อยที่สุด (5 เปอร์เซ็นต์ไทล์) 3.63 log CFU/g, ค่ามัธยฐาน (50 เปอร์เซ็นต์ไทล์) 1.39 log CFU/g, ค่าเฉลี่ย 1.57 log CFU/g และค่ามากที่สุด (95 เปอร์เซ็นต์ไทล์) 7.31 log CFU/g ถึงอย่างไรข้อมูลที่มีก็ยังไม่เพียงพอต่อการประเมินการสัมผัส ซึ่งคือข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับค่าความแปรปรวน และค่าความไม่แน่นอน รวมถึงขั้นตอนการตรวจสอบ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้การประเมินการรับสัมผัสมีความถูกต้องและเป็นจริง (Bahk, G. J. et al., 2007)

การประเมินปริมาณการสัมผัสเชื้อ *B. cereus* ในนมดัดแปลงสำหรับทารก ซึ่งใช้ข้อมูลจากการวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ข้อมูลการบริโภคโดยใช้แบบสอบถาม จำนวนประชากร อัตราการเกิดของทารก นำมาประมาณความน่าจะเป็นของโอกาสการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* และความน่าจะเป็นของการได้รับสัมผัสเชื้อและโอกาสเกิดการเจ็บป่วย ซึ่งพบว่าความน่าจะเป็นของโอกาสเลี้ยงทารกด้วยนมผงที่มีการปนเปื้อนเชื้อเท่ากับ 0.1402 และคำนวณความน่าจะเป็นของโอกาสการติดเชื้อก่อโรคในทารกเท่ากับ 427 คนต่อประชากร 100,000 คน (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2552)

การประเมินการสัมผัส *B. cereus* ในข้าวผัด โดยการศึกษานี้ จะประเมินการได้รับสัมผัส *B. cereus* ในข้าวผัดในเชียงไฮ้ ประเทศจีน โดยดำเนินการในส่วนของการขายถึงการบริโภค การสำรวจข้อมูลใช้การประมาณระดับการปนเปื้อนเริ่มต้นและรูปแบบทางคณิตศาสตร์จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่ทำการทดสอบการเจริญเติบโตของ *B. cereus* ในข้าวหุงสุกภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันก่อนการบริโภค ซึ่งผลที่ได้พบว่า 3.07% ของข้าวหุงสุกจะมี *B. cereus* มากกว่า 4 log CFU/g ซึ่งมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภค และเมื่อทำการวิเคราะห์ความไว ชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิในช่วงการขาย ($r = -0.15$) เป็นปัจจัยหลักที่จะให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์กับผู้บริโภค ร่วมกับข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวกับปริมาณที่ได้รับแล้วทำให้เกิดการเจ็บป่วย และผลจากการศึกษานี้สามารถใช้อ้างอิงในการประเมินความเสี่ยงของ *B. cereus* ได้ (Qing-li Dong et al., 2012)

นอกจากการนี้ยังมีการประเมินการสัมผัสเชิงคุณภาพของ *Salmonella* spp.ในเปลือกไข่ ซึ่งเกณฑ์ของการประเมินเป็นระดับต่ำ ปานกลาง และสูง โดยการศึกษานี้ การประเมินจะแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ การผลิตและการบรรจุ การกระจายสินค้าและการจัดเก็บ และการเตรียมและการบริโภค ในส่วนของการผลิตและการบรรจุจะหาความชุกเริ่มต้นของ *Salmonella* ภายในไข่และบนเปลือกของไข่ พบว่าจำนวนของ *Salmonella* ทั้งภายในและด้านนอกของไข่อยู่ในระดับต่ำ ในขั้นสุดท้ายของแต่ละกลุ่มจะประเมินเป็นภาพรวมของความน่าจะเป็นและระดับของการปนเปื้อน *Salmonella* ซึ่งใน 2 กลุ่มแรกการประเมินจะมุ่งเน้นที่ผลของระยะเวลาและอุณหภูมิของการจัดเก็บซึ่งพบว่าความน่าจะเป็นและระดับของการปนเปื้อน *Salmonella* อยู่ในระดับต่ำ (Murchie, L. et al., 2008)

การพยากรณ์การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร เป็นขั้นตอนหนึ่งที่ถูกนำมาใช้หาค่าพารามิเตอร์ของปริมาณการปนเปื้อน เพื่อนำไปสู่การคำนวณค่าความน่าจะเป็นของการเกิดการเจ็บป่วยต่อการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น รูปแบบการพยากรณ์การเจริญเติบโตของ *S. aureus* ในเนื้อหมูดิบ โดยการใช้ Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) 2013 ซึ่งเป็นการศึกษาเพื่อพัฒนารูปแบบการพยากรณ์ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อหมูที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน ในเนื้อหมูดิบ เพื่อหารูปแบบที่เหมาะสมโดยการประเมินและการเปรียบเทียบช่วงเวลาการเก็บรักษาด้วยการใช้ IPMP 2013 (Lee, Y. J. et al., 2015)

การพัฒนาและการตรวจสอบรูปแบบการพยากรณ์สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella enterica* ในเนื้อไก่ ซึ่งการเจริญเติบโตของ *Salmonella* ในเนื้อไก่ จะศึกษาความแตกต่างของอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระ ซึ่งซอฟแวร์ DMfit เป็นรูปแบบของ Baranyi ซึ่งใช้สร้างกราฟการเจริญเติบโตและพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโต เมื่ออุณหภูมิหรือปริมาณน้ำอิสระเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเพิ่มขึ้น ส่วนเวลาของ lag phase จะลดลง และการพัฒนารูปแบบที่สองจะถูกตรวจสอบโดยรายงานที่ตีพิมพ์และข้อมูลจาก Combase จำนวน 422 ข้อมูล ในการศึกษานี้ ความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตและสภาวะของการเจริญเติบโต จะถูกตรวจสอบโดยใช้รูปแบบ Unified และ Separated models รูปแบบเหล่านี้จะตรวจสอบด้วยความแตกต่างของสายพันธุ์ *Salmonella* การคัดแยกจากเนื้อไก่ และจากการรวบรวมข้อมูลและ Combase โดยค่าของความถูกต้องและปัจจัยเบี่ยงเบน คือ 0.99, 1.22 สำหรับ Unified model และ 0.98, 1.08 สำหรับ Separated model ซึ่งจะเห็นว่ารูปแบบการพยากรณ์อยู่ในช่วงที่ปลอดภัยและยอมรับ การประเมินผลชี้ให้เห็นผลทางสถิติมีความพอดี (Kang Zhou et al., 2014)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาการประเมินความเสี่ยงมีแนวทางในการดำเนินงานตามหลักการประเมินความเสี่ยง แต่มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร และจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งการประเมินความเสี่ยงต้องอาศัยข้อมูลจากหลาย ๆ แหล่ง และนำมาพิจารณาร่วมกันเพื่ออธิบายความเสี่ยงนั้น ซึ่งผลจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำไปใช้ในการกำหนดเกณฑ์คุณภาพและความปลอดภัยของอาหารต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยแบ่งการดำเนินงานเป็น 3 ส่วน คือ

1. การหาปริมาณการปนเปื้อนและความชุกของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด
2. การศึกษาคุณลักษณะของน้ำส้มคั้นสด ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง ของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (ปริมาณน้ำตาล) ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์
3. การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด
4. การประเมินความเสี่ยง 4 ขั้นตอน ได้แก่ การระบุอันตราย การอธิบายอันตราย การประเมินการสัมผัส และการอธิบายความเสี่ยง

วัตถุดิบ

น้ำส้มคั้นสด จากแหล่งจำหน่ายในเขตอำเภอเมือง ในจังหวัดพิษณุโลก

ผลส้มสด

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Baird-Parker medium: BP (ยี่ห้อ Himedia, ประเทศอินเดีย)
2. Brain heart infusion broth: BHI (ยี่ห้อ Himedia, ประเทศอินเดีย)
3. Tryptic soy agar: TSA (ยี่ห้อ Himedia, ประเทศอินเดีย)
4. Coagulase plasma (rabbit) with EDTA (ยี่ห้อ BD BBL, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
5. Citric acid
6. Silver Nitrate ($AgNO_3$)
7. Potassium Cromate (K_2CrO_4)
8. Sodium Cloride (NaCl)
9. Butterfield'phosphate buffered dilution water (BPB)
10. Potassium Tellurite (K_2TeO_3)

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

1. ตู้อบร้อน (Hot air oven) บริษัท MEMMERT
2. เครื่องนึ่งทำลายเชื้อ (Autoclave) รุ่น ES-315 ของบริษัท TOMY Digital Biology
3. ตู้อบเพาะเชื้อ (Incubator) บริษัท MEMMERT
4. เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity) รุ่น AW-CENTER 200 S/N9604001 บริษัท NOVASINA
5. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น pH 510 ของบริษัท Eutech ยี่ห้อ EUTECH
6. เครื่องผสม (Vortex mixer) รุ่น G560E ของบริษัท Scientific Industries
7. เครื่องวัดความหวาน (Hand Refractometer)
8. ปิเปต (Pipette)
9. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
10. แท่งแก้วงอ (Glass spreader)
11. หลอดทดลอง (Test tube)
12. ขวดแก้วฝาเกลียว (Duran) ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร
13. บีกเกอร์ ขนาด 100, 250, 500 มิลลิลิตร
14. ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร
15. ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
16. เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำส้มคั้นสดที่จำหน่ายในมหาวิทยาลัย ศูนย์การค้า ตลาด ร้านค้าแผงลอย โรงพยาบาลและศูนย์ราชการ ในอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

2. ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1 **เก็บตัวอย่าง** น้ำส้มคั้นสดจากแหล่งจำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ตัวอย่างละประมาณ 200 มิลลิลิตร ด้วยถุงพลาสติกและขวดพลาสติกจากร้านค้า มายังห้องปฏิบัติการโดยการแช่น้ำแข็ง (0-4 องศาเซลเซียส) และตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง FDA-BAM online, 2003 (Chapter 1)

2.2 **เตรียมตัวอย่าง** สำหรับการตรวจวิเคราะห์ โดยการเขย่าตัวอย่างในภาชนะบรรจุให้เข้ากัน เทหรือปิเปตตัวอย่างใส่ในภาชนะปราศจากเชื้อประมาณ 100 มิลลิลิตร สำหรับตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (ตัวอย่างเริ่มต้น) ตัวอย่างในส่วนที่เหลือใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

2.3 **การตรวจวิเคราะห์** *S. aureus* อ้างอิงตามวิธีมาตรฐาน ของ FDA-BAM online, 2016 (Chapter 12) (Tallent, S. et al., 2001)

2.4 **การตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำส้มคั้นสด**

2.4.1 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

2.4.2 การหาปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity)

2.4.3 ของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (ปริมาณน้ำตาล) (°Brix) ด้วยเครื่องวัดความหวาน (Hand Refractometer)

2.4.4 การหาปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ตามวิธีของมอร์ (Mohr's method) (ศุภชัย ใช้เนียมวงศ์, 2552) การวิเคราะห์หาปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) และใช้โพแทสเซียมโครเมท (K_2CrO_4) เป็นอินดิเคเตอร์ ณ จุดสมมูล เมื่อ $AgNO_3$ ทำปฏิกิริยากับโซเดียมคลอไรด์ หมดแล้ว $AgNO_3$ ที่เกินมาเพียงเล็กน้อย จะทำปฏิกิริยากับ K_2CrO_4 เกิดตะกอนซิลเวอร์โครเมท (Ag_2CrO_4) เป็นสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นตัวบอกถึงจุดยุติของปฏิกิริยา โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่างน้ำส้มคั้นสด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และคำนวณร้อยละของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในน้ำส้มคั้นสด โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณ NaCl (\%)} = \frac{(\text{ปริมาตรที่ใช้ไตเตรท} - \text{blank}) \times \text{N of } AgNO_3 \times 0.005844 \times 100}{0.1 \times \text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

$$\text{N of } AgNO_3 = \frac{\text{น้ำหนัก NaCl} / 58.44 \times 1000}{\text{ปริมาตร } AgNO_3}$$

3. **การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด**

3.1 **การเตรียมน้ำส้มคั้น** นำผลส้มสายน้ำผึ้งและส้มเขียวหวานสดมาล้างทำความสะอาดผิวส้ม ผ่าผลส้มเป็น 2 ส่วน คั้นน้ำส้มออกมา และปรับค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยสารละลาย

กรดซิตริก เท่ากับ 3.5 ปริมาณน้ำตาล (ความหวาน) ด้วยสารละลายน้ำตาล เท่ากับ 16°Brix และปริมาณเกลือ ด้วยเกลือป่น เท่ากับ 0.6% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำส้มคั้นที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

3.2 **การเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์** นำ *S. aureus* จาก glycerol broth ที่ -20 °C มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วปรับความเข้มข้นเซลล์แขวนลอยให้มีค่า OD 600 nm เท่ากับ 0.1 เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml และเจือจางเซลล์แขวนลอยด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ให้มีความเข้มข้นเซลล์ 10^5 cfu/ml แล้วนำเซลล์ที่ได้ไปใส่ในน้ำส้มคั้น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บน้ำส้มคั้นมาตรวจนับจำนวน *S. aureus* ตามเวลาที่ 0 3 6 12 24 36 48 60 72 ....240 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน

3.3 **การนับจำนวน** *S. aureus* ปิเปตน้ำส้ม 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird parker medium จำนวน 3 จานเพาะเชื้อ (0.3,0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร) แล้วใช้แท่งแก้วงอเกลี่ยให้ทั่วจนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง นับโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ** วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATA 12 เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางสถิติ ด้วย Chisquaed test (X^2) และ Fisher's exact test

5. **ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยง** แนวทางการประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยาศูนย์ประเมินความเสี่ยงและแจ้งเตือนภัย (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2554)

5.1 **การระบุอันตราย** (Hazard identification) สืบค้นหาข้อมูลความเป็นอันตรายที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการเจ็บป่วย ปริมาณ ลักษณะอาการที่เกิดจากการได้รับอันตราย จากรายงานหรืองานวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้ รวมถึงแหล่งข้อมูลทางสาธารณสุข เช่น การสอบสวนโรค การระบาด และผลจากการตรวจสอบคุณภาพน้ำส้มในจังหวัดพิษณุโลก เพื่อนำมาระบุอันตรายในการศึกษาครั้งนี้

5.2 **การอธิบายอันตราย** (Hazard characterization) เป็นการพิจารณาถึงเชื้อโรค กลุ่มผู้บริโภค และกลุ่มอาหารที่ต้องการศึกษา ลักษณะเฉพาะของเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วย เช่น การติดเชื้อ ความเป็นพิษ เพื่อประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนผู้ป่วยที่สัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค (P*ill*) โดยอาศัยข้อมูลจากการประเมินการสัมผัส ขั้นตอนนี้จะใช้แบบจำลองในรูปของสมการคณิตศาสตร์ในการวิเคราะห์ เรียกว่า Dose Response model สำหรับประมาณจำนวนผู้เจ็บป่วย ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ก่อโรค รวมถึงการประมาณความน่าจะเป็นของโอกาส

ของการปนเปื้อน *S. aureus* ระดับต่าง ๆ ในน้ำส้มคั้นสด ความน่าจะเป็นของโอกาสที่ประชากรจะบริโภคน้ำส้มคั้นสดที่มีการปนเปื้อน *S. aureus* และการประเมินความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยที่เกิดจาก *S. aureus* ในประชากรที่บริโภคน้ำส้มคั้นสดต่อประชากร 100,000 คน

5.3 **การประเมินการสัมผัส** (Exposure assessment) เป็นขั้นตอนในการคำนวณโอกาสในการบริโภคน้ำส้มที่มีการปนเปื้อนด้วย *S. aureus* โดยใช้ข้อมูลความชุกและจำนวนการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในน้ำส้ม (ภาพ 4) รวมถึงปริมาณในการบริโภค โดยการวิเคราะห์หา

5.3.1 ความชุก (Prevalence; P) คำนวณจากสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างน้ำส้มที่ตรวจวิเคราะห์แล้วพบการปนเปื้อน *S. aureus* ต่อ จำนวนตัวอย่างน้ำส้มคั้นสดทั้งหมด

5.3.2 จำนวนการปนเปื้อน (Concentration; C) คือ ความเข้มข้นหรือปริมาณของ *S. aureus* ที่พบในน้ำส้มคั้นสด

5.3.3 ข้อมูลการบริโภค พฤติกรรมการบริโภค ปี พ.ศ. 2559 สืบค้นข้อมูลการบริโภคอาหารของคนไทย จากสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หรือแหล่งข้อมูลอื่น ๆ

5.3.4 ข้อมูลจากรายงานสถิติจำนวนประชากรและบ้าน ประจำปี พ.ศ.2559 ว่าด้วยจำนวนประชากร ในจังหวัดพิษณุโลก

5.3.5 การประเมินโอกาสในการได้รับเชื้อ เป็นการประเมินความน่าจะเป็นของการได้รับเชื้อ *S. aureus* จากการนำข้อมูลของความชุกและจำนวนการปนเปื้อน มาคำนวณความน่าจะเป็น โดยเลือกใช้สูตรคำนวณของศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ และคณะ (2552) เนื่องจากมีข้อมูลใช้ได้กับสูตรการคำนวณดังกล่าว

$$P_E = P_C(1 - e^{-mi*Cc})$$

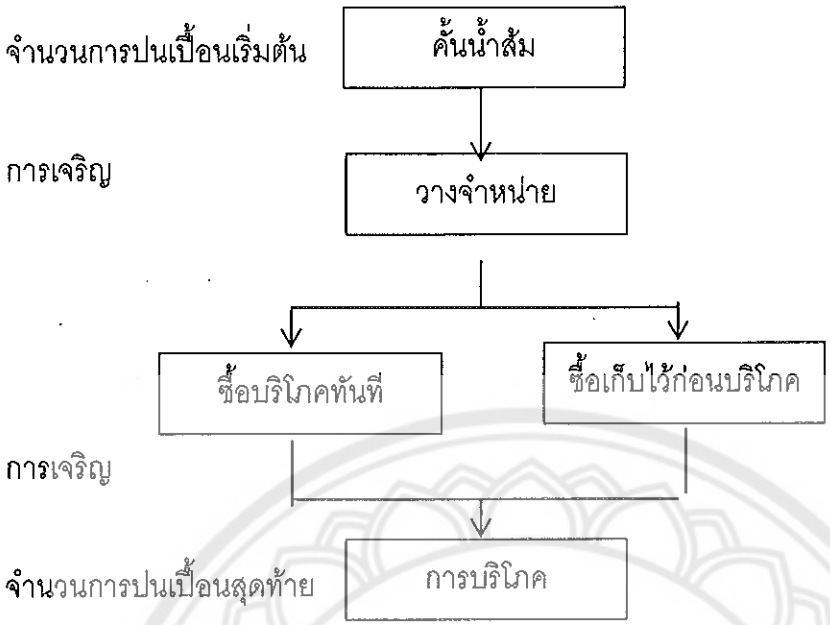
P_E = ความน่าจะเป็นของเชื้อก่อให้เกิดโรค

P_c = ความชุกของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในน้ำส้มคั้นสด (Percent)

C_c = ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในน้ำส้มคั้นสด (Log cfu/ml)

mi = ปริมาณการบริโภคน้ำส้มคั้นสดต่อมื้อต่อคน (มิลลิลิตร)

โดย P และ C เป็นตัวแปรที่จะนำไปวิเคราะห์การแจงแจกความน่าจะเป็นโดยใช้โปรแกรม @Risk ซึ่งจะเลือกการแจงแจกความน่าจะเป็นตามความเหมาะสมกับข้อมูลที่มี โดยใช้พารามิเตอร์ ดังภาพ 5



ภาพ 5 แบบจำลองความน่าจะเป็นของจำนวนการปนเปื้อน *S. aureus* ตั้งแต่การคั้นน้ำส้มถึง การบริโภค

ตาราง 4 แสดงรายละเอียดของพารามิเตอร์ที่ใช้สำหรับการประเมินการรับสัมผัส

ขั้นตอน	รายละเอียดและพารามิเตอร์
เริ่มต้น	ความชุกของ *S. aureus* ในน้ำส้ม (*P*)
	จำนวนการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในน้ำส้ม (C)
การเจริญ	อุณหภูมิ (T)
	เวลา (t)
	ระยะเวลาในการแบ่งตัวของ *S. aureus* ในน้ำส้ม (LT)
	อัตราการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้ม (GR)

5.3.6 ประเมินความน่าจะเป็นของโอกาสปนเปื้อน *S. aureus* ที่ระดับต่าง ๆ ในน้ำส้มคั้น จากข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน มาประเมินความถี่ด้วยวิธี Gumbel's method สำหรับหา Reoccurrence ((จำนวนตัวอย่างทั้งหมด+1)/ลำดับที่ของตัวอย่าง) ความถี่ (1/Reoccurrence) และนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟ ระหว่างปริมาณการปนเปื้อนที่ระดับต่าง ๆ กับความถี่ เพื่อหาสมการที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรม Excel สมการที่ได้จะนำมาประเมินความน่าจะเป็นของโอกาสการปนเปื้อนที่ระดับต่าง ๆ (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2552)

5.4 การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) เป็นขั้นตอนในการคำนวณจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคน้ำส้มที่ปนเปื้อน *S. aureus* โดยเป็นการรวมเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการประเมินการสัมผัสและขั้นตอนการอธิบายอันตรายเข้าด้วยกัน จากนั้นจึงนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์และคำนวณความน่าจะเป็นของการเจ็บป่วยจาก *S. aureus* ในประชากรที่นิยมบริโภคน้ำส้มคั้นสดต่อประชากร 100,000 คน โดยคำนวณจากผลคูณของ

5.4.1 จำนวนครั้งของโอกาสที่ประชากรจะบริโภคน้ำส้มคั้นอย่างน้อย 1 มื้อต่อวัน ใน 1 ปี

5.4.2 ความชุกของปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

5.4.3 ความน่าจะเป็นของโอกาสของการบริโภคน้ำส้มคั้นสดที่มีการปนเปื้อน

5.4.4 ข้อมูลอื่น ๆ ที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยง ได้แก่ จำนวนตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก ปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนเฉลี่ย ปริมาณการบริโภคต่อวัน

การประเมินความเสี่ยง ดำเนินการตามแบบการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ เพ็ญศรี รอดมา และคณะ (2554) โดยสร้างแบบจำลองการกระจายของข้อมูลด้วยโปรแกรม @Risk 7.5 ดังนี้

การสร้างแบบจำลองการกระจายของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน ใช้ Function RiskNormal จากข้อมูลการทดสอบมีค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนและค่า ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การสร้างแบบจำลองการกระจายของข้อมูลการเจริญของเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้ Function RiskTriang จากข้อมูลผลการศึกษา ของปริมาณเชื้อต่ำสุด ปริมาณเชื้อเฉลี่ย ปริมาณเชื้อสูงสุด ใช้ Monte Carlo Stimulation สุ่มชักข้อมูลโดยสุ่ม 10,000 ครั้ง ทำซ้ำ 5 ครั้ง

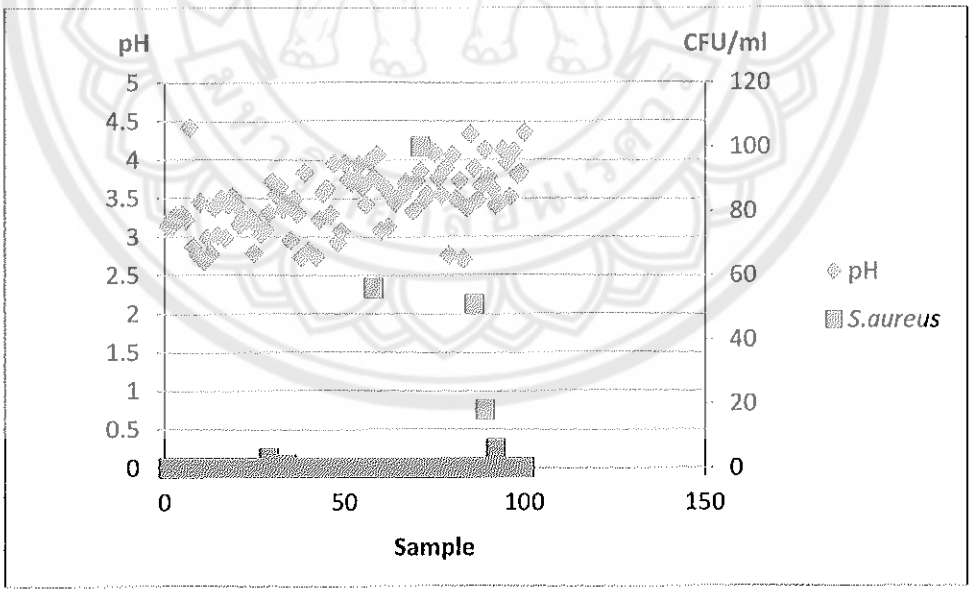
การสร้างแบบจำลองการกระจายของข้อมูลการลดลงองเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ Function RiskTriang จากข้อมูลผลการศึกษา ของปริมาณเชื้อต่ำสุด ปริมาณเชื้อเฉลี่ย ปริมาณเชื้อสูงสุด ใช้ Monte Carlo Stimulation สุ่มชักข้อมูลโดยสุ่ม 10,000 ครั้ง ทำซ้ำ 5 ครั้ง

บทที่ 4

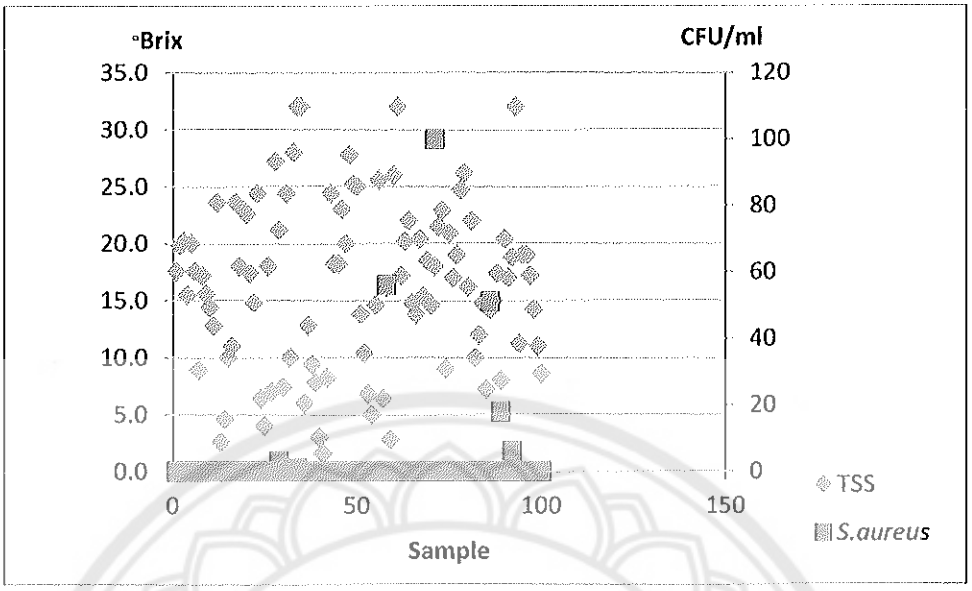
ผลการวิจัย

การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด

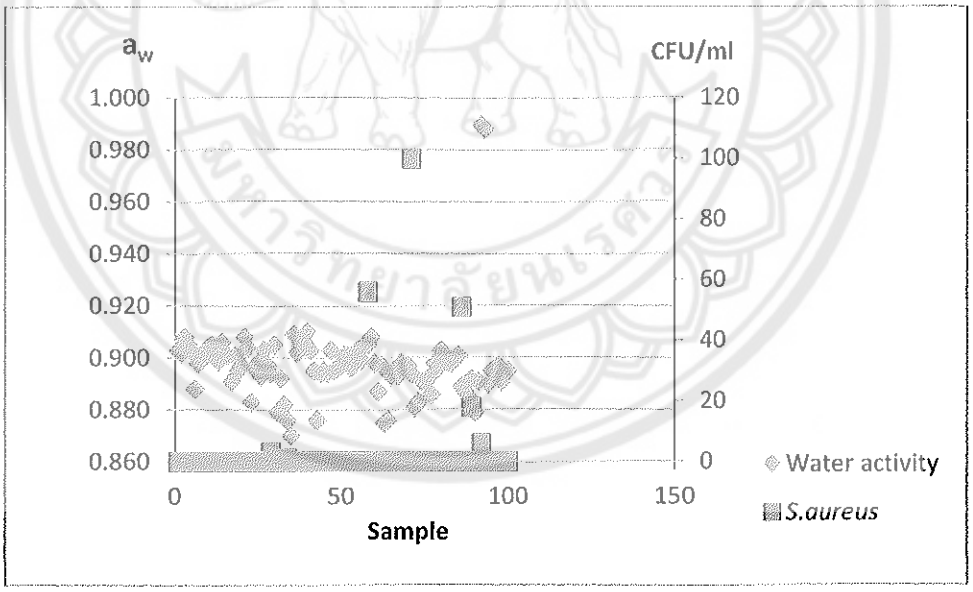
จากการเก็บตัวอย่างน้ำส้มคั้นสดที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 100 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ คือค่าความเป็นกรดด่าง ทางเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล ค่าปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ และทางจุลชีวิทยาเป็นการหาปริมาณการปนเปื้อน *S. aureus* พบว่าน้ำส้มคั้นสดมีค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาล (TSS) ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ เท่ากับ 3.47 16.4 0.898 และ 0.60 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 6 และพบการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำส้มคั้นสด จำนวน 7 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 1-100 CFU/ml โดยแสดงความสัมพันธ์ในรูปแบบการกระจายตัวของการตรวจพบ *S. aureus* กับค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาล (TSS) ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ดังภาพ 6, 7, 8 และ 9



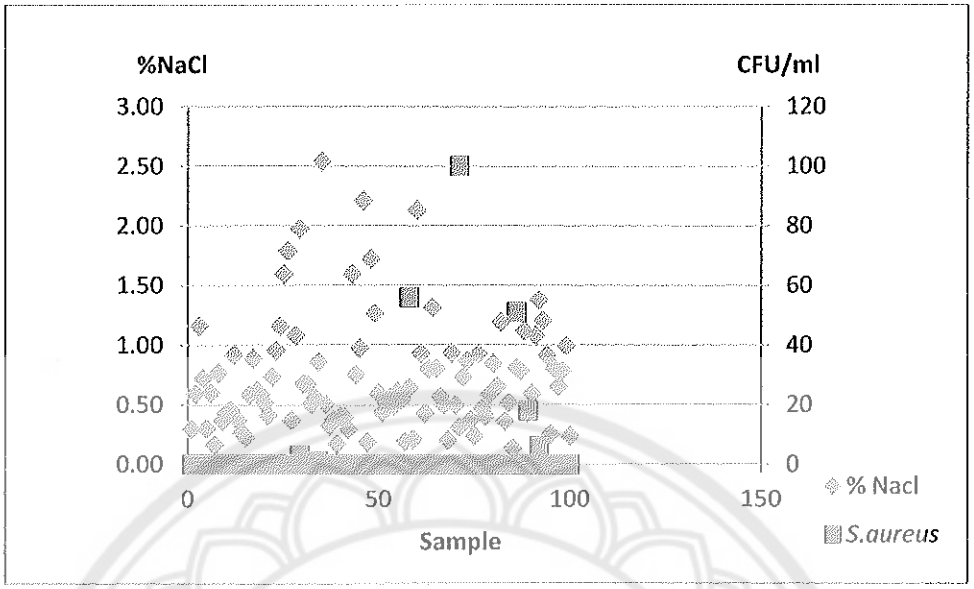
ภาพ 6 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ในน้ำส้มคั้นสด



ภาพ 7 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณน้ำตาล (TSS) ในน้ำส้มคั้นสด



ภาพ 8 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ในน้ำส้มคั้นสด



ภาพ 9 ความสัมพันธ์ของการตรวจพบ *S. aureus* กับปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในน้ำส้มคั้นสด

ผลการศึกษาคุณลักษณะของน้ำส้มคั้นสด จะนำมาใช้เป็นข้อมูลเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด และการสร้างแบบจำลองการเจริญที่สามารถสร้างสารพิษในระดับที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วย

ตาราง 5 แสดงลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำส้มคั้นสด

Variable	Mean	Std. Dev	95% Conf. Interval
pH	3.47	0.41	3.39 - 3.55
TSS (°Brix)	16.44	7.26	15.00 - 17.88
Water activity(a_w)	0.898	1.02	0.895 - 0.900
% NaCl	0.60	1.86	0.53 - 0.68

ตาราง 6 แสดงเปรียบเทียบค่าลักษณะความสัมพันธ์ระหว่างการพบ/ไม่พบ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

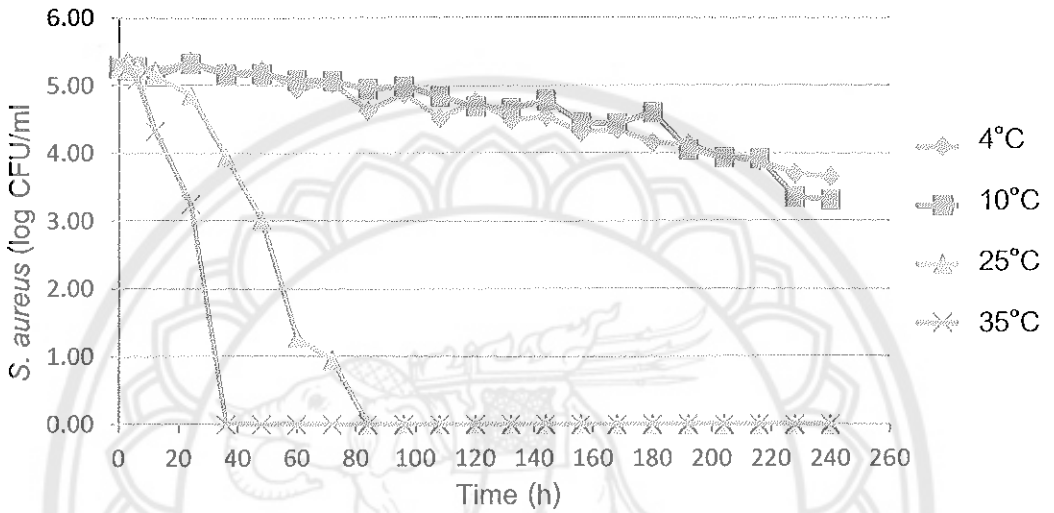
Variable	*S. aureus*		*p*-value
	Positive	Negative	
pH	3.69 ± 0.30	3.45 ± 0.41	0.147
TSS	18.3 ± 7.35	16.3 ± 7.27	0.475
Water activity	0.905 ± 1.04	0.897 ± 1.01	0.169
%NaCl	0.77 ± 1.89	0.59 ± 1.86	0.273

จากตาราง 6 สามารถแสดงความสัมพันธ์ของค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาล (TSS) ปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ กับการตรวจพบและไม่พบการปนเปื้อน *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น ได้ว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากค่า $p \geq 0.05$

2. **การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด**

การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าปริมาณของ *S. aureus* ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณลดลง 1.31 log และหมดไปเมื่อครบเวลา 72 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีการลดลง 2.06 log ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 10 ซึ่งแสดงว่า การเก็บรักษาน้ำส้มคั้นไว้โดยการแช่เย็นหรือแช่แข็ง เชื้อ *S. aureus* จะไม่มีการเพิ่มจำนวน โดยที่ลักษณะของน้ำส้มคั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ในขณะที่การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บไว้ในสถานที่ที่มีอากาศร้อน ปริมาณเชื้อ *S. aureus* จะลดลงและลักษณะของน้ำส้มคั้นจะเกิดการเน่าเสีย และเมื่อนำมาหาค่า D value และค่า Z value ของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น โดยแสดงค่าดังตารางที่ 8 มีค่า D value ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เท่ากับ 144.93 และ 140.85 ชั่วโมง ส่วนอุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส เท่ากับ 42.37 และ 56.82 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิตู้เย็นสำหรับการเก็บรักษาสภาพอาหาร จึงใช้เวลานานกว่าที่ *S. aureus* จะลดปริมาณลง 1 log cycle ในขณะที่อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิสภาพแวดล้อม และเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. aureus* โดยเฉพาะที่ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาสั้นกว่าที่ *S. aureus* จะลดปริมาณลง 1 log cycle โดยปกติค่า D value แสดงหน่วยเป็นนาที แต่เนื่องจากเป็นการศึกษาการเจริญของ

S. aureus ในน้ำส้มคั้นสด ซึ่งใช้หน่วยเป็นชั่วโมง และอุณหภูมิที่ใช้ไม่ได้เป็นอุณหภูมิสำหรับการทำให้ *S. aureus* ลดปริมาณลง ส่วนค่า Z value เท่ากับ 59.2 องศาเซลเซียส คือค่า Z value เป็นอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 59.2 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ค่า D value ของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดลดปริมาณลง 1 log cycle



ภาพ 10 แสดงการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ตาราง 7 แสดงค่า D value และค่า Z value ของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส

D-value (hr.)				Z-value (°C)
4°C	10°C	25°C	35°C	
144.93	140.85	42.37	56.82	59.2

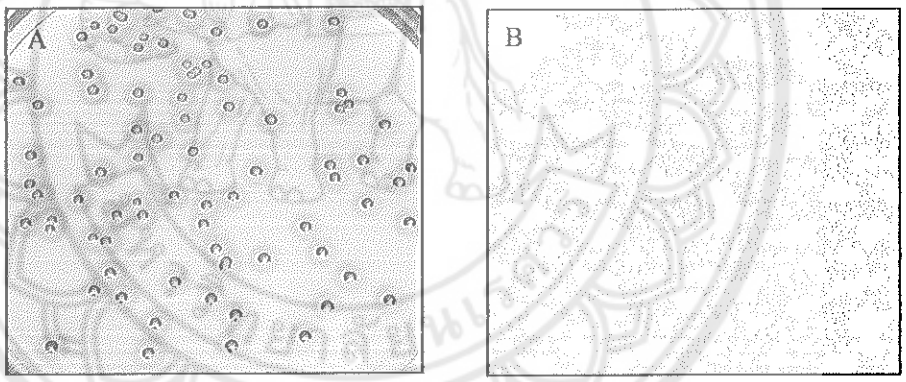
3. **การประเมินความเสี่ยงทางจุลชีววิทยา** (Microbial Risk Assessment) 4 ขั้นตอน

3.1 **การระบุอันตราย** (Hazard identification)

จากการสืบค้นข้อมูลทางระบาดวิทยาของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข โดยมีสาเหตุจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผู้ป่วยในช่วง 5 ปี (พ.ศ. 2558-2562) พบว่าเชื้อ *S. aureus* เป็นหนึ่งในเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ และจากข้อมูลการให้บริการตรวจวิเคราะห์ด้านอาหารในรายงานประจำปีของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า *S. aureus* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขจากโรคอาหารเป็นพิษ (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2554) นอกจากนี้มีการศึกษาการแพร่กระจายของ *S. aureus* ในผลไม้พร้อมบริโภคและเนื้อไก่ดิบปรุงรสของ สุดสายชล หอมทอง, และคณะ (2554; 2555) พบ *S. aureus* ในตัวอย่างผลไม้ และเนื้อไก่ดิบปรุงรส 42 และ 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50 และ 40 ตามลำดับ และจากการศึกษาของ ลินจง สุขลำพู และคณะ (2546) ได้ศึกษาการปนเปื้อน *S. aureus* ในขนมไทย จากตัวอย่างทั้งหมด 120 ตัวอย่าง พบ *S. aureus* เกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลินทรีย์ สำหรับอาหารพร้อมบริโภค ร้อยละ 74.2 ของตัวอย่างทั้งหมด เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถปนเปื้อนไปในอาหารที่มีกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะของผู้ปรุงหรือผู้เตรียมอาหาร รวมถึงสถานที่ผลิตและจำหน่ายอาหาร โดยเฉพาะอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการปรุงสุกหรืออาหารที่สัมผัสมือโดยตรง เช่นเดียวกับการศึกษาการแพร่กระจายของ *S. aureus* ในซูชิ พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในตัวอย่างซูชิ 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 35 โดยมี 11 ตัวอย่าง มีค่ามากกว่าเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2560 คิดเป็นร้อยละ 27.5 (สุดสายชล หอมทอง และคณะ, 2554) และจากการสืบค้นข้อมูลจากการสืบสวนโรคอาหารเป็นพิษทางระบาดวิทยาในโรงเรียน จังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งพบ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น และมีข้อมูลจากงานวิจัยของต่างประเทศที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้แก่ การแยกจุลินทรีย์จากน้ำผลไม้สดในประเทศอินเดีย พบ *S. aureus* ในน้ำส้ม 2 ตัวอย่างจากทั้งหมด 10 ตัวอย่าง (Aneja, K. R. et al., 2014) และประเทศไนจีเรียได้มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำผลไม้ พบ *S. aureus* มากที่สุดคือร้อยละ 14 โดยพบในน้ำส้ม (Bello et al., 2013) นอกจากนี้ได้มีการสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาในตัวอย่างเครื่องดื่มที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ซึ่งพบ *S. aureus* เปื้อนปนในน้ำผักผลไม้คั้นสดเช่นกัน โดยเฉพาะน้ำส้มคั้นสด และจากการสำรวจส่วนแบ่งทางการตลาดของน้ำผลไม้ในปี 2558 ของสถาบันอาหาร พบว่าน้ำส้มมีส่วนแบ่งทางการตลาดสูงที่สุด คือร้อยละ 47.8 ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจึงนำมาสู่การศึกษานี้ โดยระบุอันตรายเป็น *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

3.2 การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

S. aureus เป็นแบคทีเรีย กลุ่ม Facultative anaerobe จัดอยู่ใน Family Micrococcaceae เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศแต่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศ มีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาด 0.5 - 1.0 ไมครอน แกรมบวก มักเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบ นูน มีสีครีม เหลือง ส้ม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6 - 46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 - 37 องศาเซลเซียส ทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 4.0 - 10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0 - 7.5 ส่วนค่าปริมาณน้ำอิสระ(a_w) อยู่ในช่วง 0.85 - 0.99 ถ้าค่า a_w น้อยกว่า 0.94 จะเจริญได้อย่างช้า ๆ สามารถทนเกลือที่ 18 - 20 % และยังเป็นเชื้อประจำถิ่นที่สามารถพบได้บริเวณผิวหนังและโพรงจมูกของมนุษย์ จึงทำให้มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารได้ง่าย (นราพร สมบูรณ์นะ และคณะ, 2558)



ภาพ 11 (A) ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium
(B) ลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (10x)

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Intoxication) เนื่องจากความสามารถในการสร้างสารพิษ Staphylococcal enterotoxins (SE) ชนิดต่าง ๆ ได้มากกว่า 20 ชนิด ได้แก่ SEA ถึง SEIV (Hennekinne, J. A. et al., 2012) โดยสารพิษที่สร้างขึ้นสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 143.3 องศาเซลเซียส จึงไม่ถูกทำลายเมื่อผ่านความร้อน ชนิดของสารพิษ ปริมาณสารพิษที่กินเข้าไปและทำให้เกิดการเจ็บป่วยจะอยู่ในช่วง 0.1-1.0 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (เพ็ญศรี รอดมา และคณะ, 2554) เมื่อปริมาณการปนเปื้อนของ *S. aureus* ประมาณ 10^5 - 10^8 cfu/g (Seo, & Bohach 2007; Montville, & Matthews, 2008) ซึ่งสามารถสร้างสารพิษได้ใน

ปริมาณที่สูงซึ่งทำให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *S. aureus* คือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งท้อง บางครั้งอาจมีอาการท้องเสียร่วมด้วย

สำหรับการหาความน่าจะเป็นของโอกาสที่ประชากรบริโภคน้ำส้มคั้นสดที่มีการปนเปื้อน *S. aureus* จากการข้อมูลการสำรวจการบริโภคน้ำส้มคั้นของประชากร พบว่าร้อยละของการบริโภคน้ำส้มคั้นของประชากร คือ 12 ดังนั้นความน่าจะเป็นของความเสี่ยง จึงเท่ากับ 0.12

3.3 การประเมินการได้รับสัมผัส (Exposure assessment)

3.3.1 การหาความชุกและปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น

จากการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด จำนวน 100 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน *S. aureus* 7 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นความชุก 0.07 และปริมาณที่พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 1 - 100 CFU/ml

3.3.2 ข้อมูลและพฤติกรรมการบริโภคน้ำส้มคั้น

จากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มีการบริโภคน้ำส้มคั้นของประชากรร้อยละ 12 ของประชากรทั้งหมด ค่าเฉลี่ยของปริมาณที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภคน้ำส้มคั้น ที่มีอายุ 3 ปีขึ้นไป เท่ากับ 218.69 มิลลิลิตร/คน/วัน

การประเมินโอกาสในการได้รับเชื้อ *S. aureus* คำนวณโดยใช้สมการ

$$P_E = Pc(1-e^{-mi*Cc})$$

$$= 0.07(1-e^{-218.69*5})$$

$$= 0.07$$

ดังนั้นโอกาสได้รับเชื้อ *S. aureus* จากการบริโภคน้ำส้มคั้นสด เท่ากับ 0.07

3.3.3 การประเมินปริมาณการได้รับสัมผัส

จากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มีการบริโภคน้ำส้มคั้นของประชากรร้อยละ 12 ของประชากรทั้งหมด ค่าเฉลี่ยของปริมาณที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภคน้ำส้มคั้น ที่มีอายุ 3 ปีขึ้นไป เท่ากับ 218.69 มิลลิลิตร/คน/วัน

การประเมินความน่าจะเป็นของโอกาสการปนเปื้อนเชื้อ จากการประเมินความถี่ของปริมาณปนเปื้อนเชื้อ ในระดับต่าง ๆ โดยวิธี Gumbel's Method มีปริมาณการปนเปื้อน 7 ระดับ คือ 1 3 6 18 51 56 และ 100 CFU/ml มีความถี่ของการปนเปื้อนเป็น 0.06930 0.05942

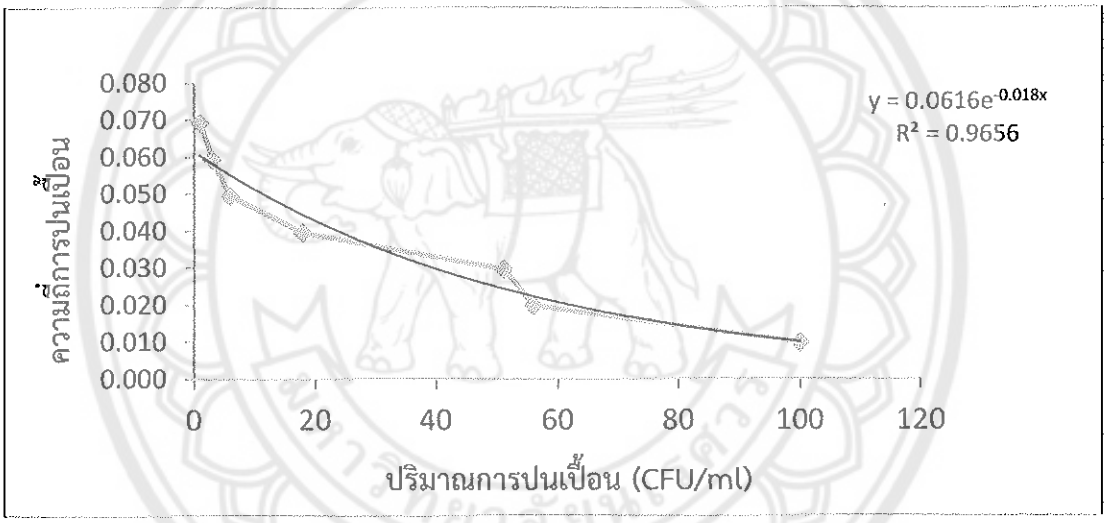
0.04950 0.03960 0.02970 0.01980 และ 0.00990 ตามลำดับ (ตาราง 8) และสร้างกราฟระหว่างปริมาณการปนเปื้อนและความถี่ของการปนเปื้อน เมื่อ y คือความความถี่ของการปนเปื้อน x คือปริมาณการปนเปื้อน จากกราฟได้สมการ $y = 0.0616e^{-0.018x}$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9656 (ภาพ 12)

ความน่าจะเป็นของปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่ระดับต่าง ๆ (ตาราง 9) โดยแทนค่าในสมการ เมื่อ

x คือ ระดับการปนเปื้อน

y คือ ความถี่ของการปนเปื้อน

e คือ ค่าคงที่ (e = 2.71828182845904...)



ภาพ 12 กราฟแสดงความถี่และปริมาณปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

ตาราง 8 แสดงการหาความถี่ของการปนเปื้อนโดยวิธี Gumbel's Method

ปริมาณเชื้อการปนเปื้อน cfu/มล.	ลำดับที่	Reoccurrence	ความถี่
100	1	101.00	0.00990
56	2	50.50	0.01980
51	3	33.67	0.02970
18	4	25.25	0.03960
6	5	20.20	0.04950
3	6	16.83	0.05942
1	7	14.43	0.06930

ตาราง 9 แสดงความน่าจะเป็นของปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดที่ระดับต่าง ๆ

ปริมาณการปนเปื้อน (X)	ความถี่การปนเปื้อน (Y)*	ความน่าจะเป็น (Y/Z)
1	0.06050**	0.219272***
3	0.05836	0.211514
6	0.05529	0.200389
18	0.04454	0.161438
51	0.02458	0.089099
56	0.02247	0.081426
100	0.01017	0.036862
รวม	0.27591(Z)	1.000000

* $y = 0.0616e^{-0.018x}$, ** $= 0.0616e^{-0.018x1} = 0.06050$, *** $= 0.06050 / 0.27591 = 0.219272$

ประเมินความน่าจะเป็นของการสัมผัส *S. aureus* จากการบริโภคน้ำส้มคั้นสด จาก

ความชุกของการตรวจพบ *S. aureus* น้ำส้มคั้นสด = 0.07

ปริมาณเชื้อที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อบริโภคน้ำส้มคั้นสด คำนวณจากปริมาณที่ตรวจพบมากที่สุด (100 CFU/ml) เท่ากับ 2.19×10^4 CFU/ml/คน/วัน

แทนค่าความชุก (P) และปริมาณเชื้อที่เข้าสู่ร่างกาย (Dose) ลงในสมการ (1) ได้ค่าความน่าจะเป็นที่จะได้รับ *S. aureus* จากน้ำส้มคั้นสด เท่ากับ 0.07

จำนวนครั้งของโอกาสที่ประชากรบริโภคน้ำส้มคั้นสด 1 ครั้ง/วัน ใน 12 เดือน = 365 x 1 = 365

จำนวนประชากรในจังหวัดพิษณุโลก 865,759 คน

จำนวนประชากรที่บริโภคน้ำส้มคั้นสดในจังหวัดพิษณุโลก (12/100) x 865,759 = 103,891 คน

ความน่าจะเป็นของโอกาสที่ประชากรที่นิยมบริโภคน้ำส้มคั้นสด คิดเป็นร้อยละ 12 หรือความน่าจะเป็นของความเสี่ยง = 0.12

การประเมินความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ในประชากรที่นิยมบริโภคน้ำส้มคั้นสดต่อประชากร 100,000 คำนวณจากผลคูณ (0.07 x 365 x 1 x 0.07 x 0.12) /103,891) x 100,000 = 0.2066 ครั้ง

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าในหนึ่งปีประชากรในจังหวัดพิษณุโลกมีโอกาสเจ็บป่วยจากเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มคั้นสด จำนวน 0.21 ครั้ง ต่อประชากร 100,000 คน หรือประชากร 1,000,000คน มีโอกาสเจ็บป่วย 2 ครั้ง

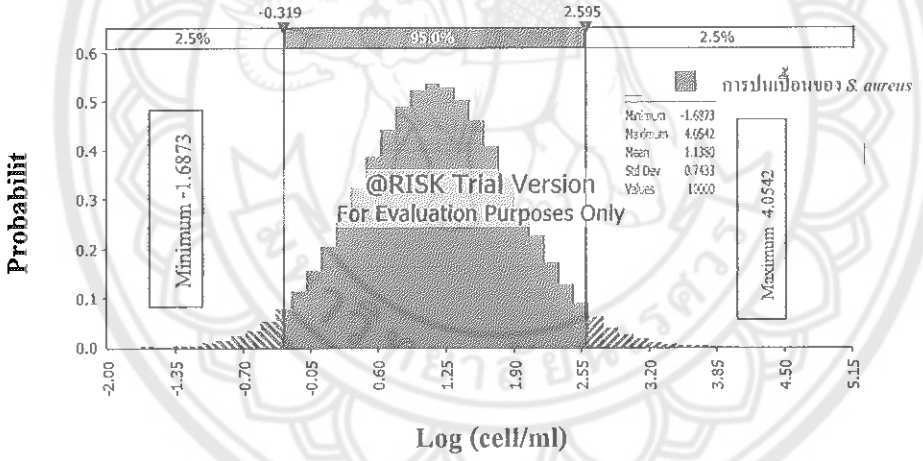
3.4 **การอธิบายความเสี่ยง** (Risk characterization)

จากการรวบรวมข้อมูลจากทั้ง 3 ขั้นตอนข้างต้น แล้วนำมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม @Risk 7.5 Industrial trial ได้แบบจำลองของการกระจายของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน การกระจายของข้อมูลการเจริญที่อุณหภูมิ 4 และการกระจายของข้อมูลการลดลงของเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ดังภาพ 13, 14 และภาพ 15 โดยใช้ข้อมูลนำเข้าดังตาราง 10

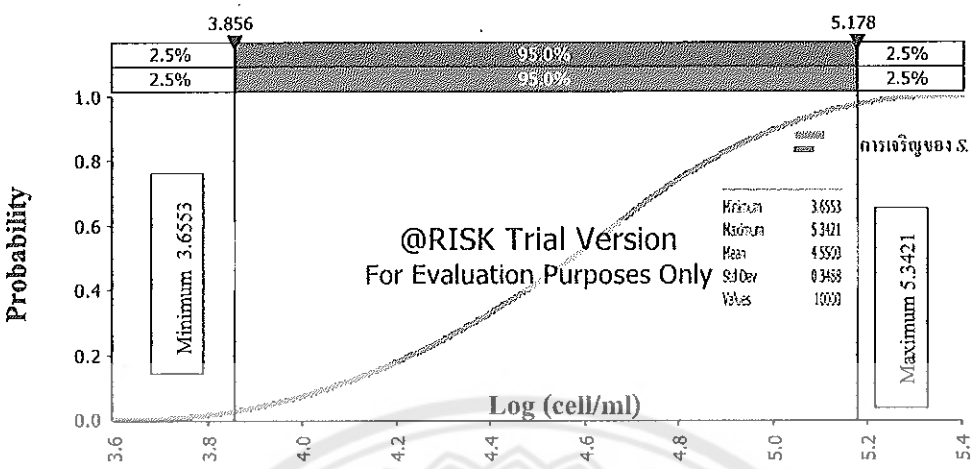
ตาราง 10 แสดงข้อมูลนำเข้าสำหรับการประเมินความเสี่ยง

ข้อมูลนำเข้า	ปริมาณต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณสูงสุด	หน่วย
ปริมาณปนเปื้อนในน้ำส้มคั้นสด (Std. Dev 0.7433)	0.00	1.138	2.00	Log CFU/ml
การเจริญของเชื้อ(4°C)	3.65	4.65	5.35	Log CFU/ml
การลดลงของเชื้อ(35°C)	0.00	1.01	5.31	Log reduction

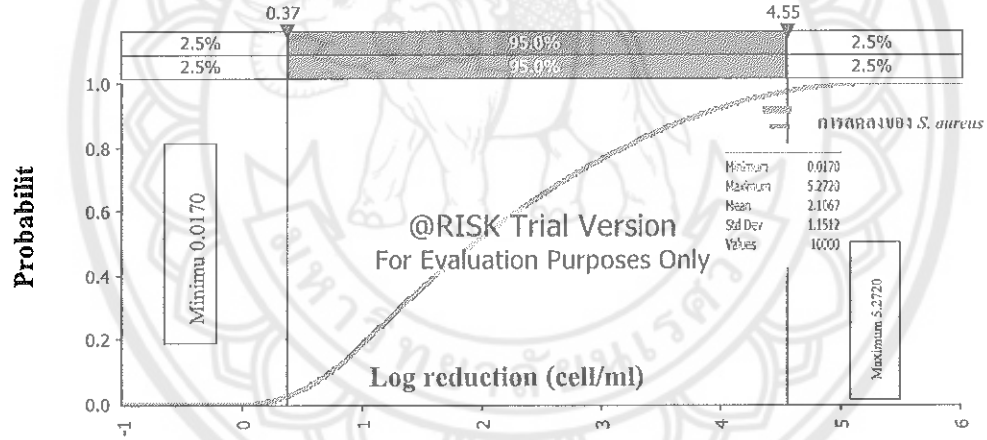
จากภาพ 13, 14 และ 15 พบว่าการกระจายของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน การกระจายของข้อมูลการเจริญที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และการกระจายของข้อมูลการลดลงของเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด มีค่าเฉลี่ย 1.1380 4.5500 และ 2.1067 log (cell/ml) ตามลำดับ



ภาพ 13 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลปริมาณการปนเปื้อน *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด



ภาพ 14 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลการเจริญของเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพ 15 แบบจำลองการกระจายของข้อมูลการลดลงของเชื้อเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

บทที่ 5

บทสรุป

จากการศึกษาเพื่อตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด และประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

สรุปผลการวิจัย

1. การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำส้มคั้นสด

ลักษณะทางกายภาพของความเป็นกรดด่างของน้ำส้มคั้นสด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.47 ส่วนปริมาณน้ำตาลแสดงค่าความหวานเป็นองศาบริกซ์ มีค่าเท่ากับ 16.44 ปริมาณน้ำอิสระของน้ำส้มคั้นสด คือ 0.897 ปริมาณเกลือในน้ำส้มคั้นสดมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.60 และพบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด จากจำนวนตัวอย่าง 100 ตัวอย่าง พบ *S. aureus* 7 ตัวอย่าง ซึ่งคิดความชุก 0.07 และปริมาณที่พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 1 - 100 CFU/ml

2. การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด

การเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณของ *S. aureus* ในช่วงเวลา 0 - 72 ชั่วโมง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณลดลง 1.31 log และหมดไป เมื่อครบเวลา 72 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีการลดลง 2.06 log และหมดไป ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยลักษณะน้ำส้มคั้นสด มีสภาวะไม่เหมาะต่อการเจริญของ *S. aureus* จึงทำให้ไม่สามารถที่เจริญและเพิ่มจำนวนได้

3. การประเมินความเสี่ยงของการได้รับสัมผัส *S. aureus*

การบริโภคน้ำส้มคั้นสด ของประชากรในจังหวัดพิษณุโลก ไม่มีความเสี่ยงที่จะเกิดการเจ็บป่วยจาก *S. aureus* เนื่องจากโอกาสเกิดการเจ็บป่วย เท่ากับ 2 ครั้ง ต่อปีต่อประชากร 1,000,000 คน

อภิปรายผล

การศึกษาคุณลักษณะของน้ำส้มคั้นสด มีค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 3.47 ส่วนปริมาณน้ำตาลแสดงค่าความหวานเป็นองศาบริกซ์ มีค่าเท่ากับ 16.44 ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระของน้ำส้มคั้นที่ได้จากการศึกษานี้ คือ 0.897 และมีปริมาณเกลือที่พบในน้ำส้มคั้นมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.60 พบว่ามีความแตกต่างจากน้ำส้มคั้นที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้โดยมีค่าความเป็นกรดด่างใกล้เคียงกับการศึกษาของศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ และคณะ ในปี 2552 ซึ่งมีค่า 3.5 ± 0.2 ค่าความหวานของน้ำส้มคั้น เท่ากับ 16.44 สูงกว่า 11.8 (Bates, R. P., J. R Morris, & P.G Crandall, 2001) ในขณะที่ปริมาณน้ำอิสระของน้ำส้มคั้นที่ได้จากการศึกษานี้ คือ 0.897 เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลจาก Safefood 360°(2014) ซึ่งมีค่าของปริมาณน้ำอิสระอยู่ที่ 0.870 ปริมาณเกลือที่พบในน้ำส้มคั้นสดมีค่าเท่ากับ 0.60 โดยเป็นค่าที่สูงกว่าการศึกษาของ Corpas, L. et al. (2012) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.015 เนื่องจากส่วนใหญ่ของการผลิตน้ำส้มคั้นมีการปรุงแต่งรสชาติโดยการเติมน้ำเชื่อม เกลือ และน้ำต้มสุก ตามความชอบของผู้บริโภคในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น ๆ จึงมีความแตกต่างกัน รวมถึงชนิดของส้มที่นำมาคั้น จะมีความหวานและความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกันด้วย

สำหรับการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสดจำนวน 100 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน *S. aureus* 7 ตัวอย่าง คิดเป็นความชุก 0.07 และปริมาณที่พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 1 - 100 CFU/ml ซึ่งมีการปนเปื้อนที่น้อยมาก เช่นเดียวกับการปนเปื้อน *S. aureus* ในชีสสดของประเทศบราซิล โดยรายงานค่าประมาณของการปนเปื้อนคือ น้อยกว่า 3 น้อยกว่า 10 หรือ น้อยกว่า 100 และ 0 หรือ ไม่พบ (Nunes, M. M., & Caldas, E. D., 2017) แต่มีความแตกต่างจากการศึกษา ในตัวอย่างอาหารประเภทอื่น ๆ เช่น การศึกษาของเพ็ญศรี รอดมา และคณะ (2554) พบการปนเปื้อน *S. aureus* ในอาหารพร้อมบริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร มีระดับการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 34 - 340 เซลล์ต่อกรัม เนื่องจากชนิดของตัวอย่างที่ศึกษามีลักษณะขององค์ประกอบทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกัน จึงทำให้โอกาสในการพบการปนเปื้อนไม่เท่ากัน

การปนเปื้อน *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด พบว่า คุณลักษณะของน้ำส้มคั้นไม่มีผลต่อการตรวจพบและไม่พบ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้น นอกจากนี้ ปริมาณและความชุกของการตรวจพบ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด มีปริมาณการปนเปื้อนที่ค่อนข้างน้อย และมีความชุกต่ำ ซึ่งมีปริมาณไม่มากพอที่จะสร้างสารพิษแล้วทำให้เกิดการเจ็บป่วยต่อการบริโภคน้ำส้มคั้นสด อีกทั้งด้วยลักษณะของน้ำส้มเองที่มีความเป็นกรดสูง เป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตสารพิษ ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารพิษของ *S. aureus* จะอยู่ที่ 7.0 - 7.5 (ศนิ จิระสถิต, 2560) ในขณะที่ pH ของน้ำส้มคั้นสดจากการศึกษานี้ เท่ากับ 3.47

การศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด เป็นการศึกษาการเจริญของ *S. aureus* ระหว่างการเก็บรักษา ก่อนการบริโภคที่อุณหภูมิ 4 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณของ *S. aureus* ในช่วงเวลา 0 - 72 ชั่วโมง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง คือ การเจริญของ *S. aureus* คงที่ ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลง โดยลดลง 1.31 log และหมดไปเมื่อครบเวลา 72 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ลดลง 2.06 log และหมดไป ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยลักษณะน้ำส้มคั้นมีสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. aureus* ดังนั้น *S. aureus* จึงมีปริมาณไม่มากพอที่จะสร้างสารพิษ แล้วทำให้ผู้บริโภคน้ำส้มคั้นเกิดการเจ็บป่วยได้ แต่จะทำให้เกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์แข่งขันชนิดอื่น

การประเมินการได้รับสัมผัส *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด โดยปริมาณเชื้อที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อบริโภคน้ำส้มคั้นสด คำนวณจากปริมาณที่ตรวจพบมากที่สุด(100 CFU/ml) เท่ากับ 2.19×10^4 CFU/มล./คน/วัน ค่าความน่าจะเป็นที่จะได้รับ *S. aureus* จากน้ำส้มคั้นสด เท่ากับ 0.07 ซึ่งการบริโภคน้ำส้มคั้นมีความน่าจะเป็นที่จะได้รับ *S. aureus* อยู่ในระดับความเสี่ยงที่น้อยมาก เช่นเดียวกันกับการศึกษาอื่นที่ให้ผลการประเมินความเสี่ยงต่ำ เช่น การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณทางจุลชีววิทยาของ *Clostridium perfringens* ในซีสธรรมชาติและซีสปรุงแต่ง ให้ผลของความน่าจะเป็นที่จะเกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคซีสต่อคนต่อวันสำหรับซีสธรรมชาติและซีสปรุงแต่ง เท่ากับ 9.57×10^{-14} และ 3.58×10^{-14} ตามลำดับ สรุปได้ว่าความน่าจะเป็นที่จะเกิดการเจ็บป่วยจาก *C. perfringens* เมื่อบริโภคซีส มีความเสี่ยงต่ำ (Lee, H. et al., 2016) เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ จึงทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษและทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้

การประเมินความเสี่ยง *S. aureus* จากการบริโภคน้ำส้มคั้นสด พบว่าประชากรในจังหวัดพิษณุโลกมีโอกาสเกิดการเจ็บป่วย 2 ครั้ง ต่อปีต่อประชากร 1,000,000 คน ซึ่งมีโอกาสที่จะเกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำส้มคั้นน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ เพ็ญศรี รอดมา และคณะ (2554) ซึ่งเป็นการประเมินความเสี่ยง *S. aureus* ที่ปนเปื้อนอาหารพร้อมบริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร พบระดับการปนเปื้อน *S. aureus* อยู่ในช่วง 34 - 340 เซลล์ต่อกรัม และผลจากการประเมินความเสี่ยงของโอกาสที่จะบริโภคอาหารที่มี *S. aureus* คือ 1,832 ครั้งต่อปีต่อประชากร 100,000 คน ด้วยลักษณะตัวอย่างที่นำมาศึกษามีความแตกต่างกัน ทำให้ปริมาณการพบ *S. aureus* มากกว่า และมีโอกาสสร้างสารพิษในปริมาณที่สามารถทำให้เกิดการเจ็บสูงกว่าการศึกษาครั้งนี้

ถึงอย่างไรหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่มีหน้าที่ กำกับ ดูแลสุขลักษณะการผลิตอาหาร และสุขอนามัยของผู้บริโภค สามารถนำข้อมูลจากการศึกษานี้ ไปใช้เพื่อเฝ้าระวังและควบคุมการผลิตน้ำส้มคั้นสดให้มีความสะอาดและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อมูลที่นำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยงควรมีเพียงพอสำหรับนำมาประเมินความเสี่ยง โดยเฉพาะข้อมูลการระบาดควรเป็นข้อมูลที่เกิดขึ้นจริงในพื้นที่นั้น ๆ รวมถึงพฤติกรรมการบริโภคน้ำส้มคั้นสด

2. ตัวอย่างที่นำมาศึกษามีข้อจำกัดของลักษณะกายภาพและเคมี จึงทำให้มีสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการศึกษาการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งการเจริญของเชื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญของการเกิดความเสี่ยง จึงส่งผลให้การประเมินความเสี่ยงไม่สมบูรณ์

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กมลวรรณ กันแต่ง, อัจฉรา อยู่คง, และรัชฎาพร สุวรรณรัตน์. (2558). ความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคที่จำหน่าย ณ สถานีขนส่งผู้โดยสารในเขตกรุงเทพมหานคร. *ว กรมวิทย*, 57(3), 269-278.

กรมควบคุมโรค.(2559). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2558. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้น 12 มีนาคม 2561, จาก http://www.boe.moph.go.th

กรมควบคุมโรค. (2559). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2559. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้น 12 มีนาคม 2561, จาก http://www.boe.moph.go.th

กรมควบคุมโรค. (2562). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2560. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้น 2 มกราคม 2562, จาก http://www.boe.moph.go.th

กรมควบคุมโรค. (2562). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2561. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้น 10 มีนาคม 2562, จาก http://www.boe.moph.go.th

กรมควบคุมโรค. (2562). *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2562. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข*. สืบค้น 12 มีนาคม 2562, จาก http://www.boe.moph.go.th

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2554). *วิธีมาตรฐานสาหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 1*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2544). *ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย*. สืบค้น 5 มกราคม 2561, จาก, http://nutrition.anamai.moph.go.th/images/file/nutritive_values_of_thai_foods.pdf

กรุงเทพธุรกิจ. (2551). *อย.เตือน "น้ำผักผลไม้-น้ำสมุนไพร" มีจุลินทรีย์ปนเปื้อน*. สืบค้น 5 มกราคม 2561, จาก https://www.thaihealth.or.th/

จินตนา ตันเวชศิลป์. (2556). *การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของการนำเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าสู่ฟาร์มสุกรปลอด โรคปากและเท้าเปื่อยที่ได้รับการรับรองจากกรมปศุสัตว์ในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย* (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดาริวรรณ เศรษฐีธรรม, และเนตรนภา เจียระแม. (2555). สถานการณ์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม เครื่องดื่ม และภาชนะที่ให้บริการใน โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล จังหวัดมหาสารคาม. *วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 5*(3), 87-96

นราพร สมบูรณ์นะ, ชุติกาญจน์ จิตบุญทวีสุข. (2558). กลไกการอยู่รอดของ *Staphylococcus aureus* ภายในเซลล์มนุษย์. *พุทธชินราชเวชสาร, 32*(1), 65-73.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2541). ทฤษฎีการผลิตน้ำผลไม้บรรจุขวดพร้อมดื่ม และความรู้เกี่ยวกับการขึ้นทะเบียนฯ. *อาหาร, 28*(3), 157-167.

เพ็ญศรี รอดมา, อารุณี ศรพรหม, และนิตยา สุนทรชื่น. (2552). การประเมินปริมาณการได้รับสัมผัสเชื้อ*Bacillus cereus* ในนมผงดัดแปลงสำหรับทารก. *ว กรมวิทย พ 2552, 51*(1), 64-75.

เพ็ญศรี รอดมา, อุรารัตน์ วุฒิกรภัณฑ์, อัชฌา สัจจปาละ, อารุณี ศรพรหม และทะนงพันธ์ สัจจปาละ. (2554). การประเมินปริมาณความเสี่ยง *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนอาหารพร้อมบริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร. *ว กรมวิทย พ 2554, 53*(2), 29-45.

เยาวนิตย์ ทองรัตน. (2558). *วิชาการงานอาชีพ*. สืบค้น 2 มีนาคม 2561, จาก https://sites.google.com/site/yaow500/hnwy-thi-1-khwam-hmay-khxng-kheruxng-dum

ลินจง สุขลำภู, พรรณชรินทร์ ศรัทธา, และสุพรรณี เสนาอาด (2546). ศึกษาการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในขนมไทย. ใน *การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร*. สืบค้น 10 มกราคม 2562, จาก http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4106011.pdf.

ศนิ จิระสถิตย์. (2560). จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 22*(2), 218-232.

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ. (2552). *ความปลอดภัยของอาหาร Food safety* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ตีรณสาร.

ศุภชัย ใช้เนียมวงศ์. (2552). *เคมีวิเคราะห์* (พิมพ์ครั้งที่ 16). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, บุณิกา จุลละโพธิ, และธนิดา หรินทรานนท์. (2556). การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ จากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค. *Journal of Applied Animal Science, 6*(3), 46-52.

สถาบันอาหาร. (2555). *ศูนย์วิจัย และประเมินความเสี่ยงด้านอาหารปลอดภัย.สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม.* สืบค้น 1 มกราคม 2562, จาก http://fic.nfi.or.th/foodsafety

สุวิมล กีรติพิบูล. (2546). จุลินทรีย์กับการควบคุมสุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ใน *หนังสือชุด สุขลักษณะการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เล่ม 2.* กรุงเทพฯ: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

สุดสายชล หอมทอง, อัญธิกา พูลทรัพย์, จุฑามาศ สุขศรี, และอาฟวี ขำทอง. (2555). การแพร่กระจายของ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อไก่ดิบปรุงรส. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา,17*(2), 103-108.

สุดสายชล หอมทอง, จิราพร ตันวุฒิบัณฑิต, ณัฐชนาภัทธ, ดังก้อง อำไพบุตรงาม, และบุณฑริกา นิลโนรี. (2554). การแพร่กระจายของ *Staphylococcus aureus* และ*Bacillus cereus* ในซูชิ. *วารสารวิทยาศาสตร์ บูรพา, 16*(1), 69-76.

สุดสายชล หอมทอง, นพวัฒน์ ภูคำ, วาทินี พิทักษ์พงศ์, ฐิติพรรณ บางบำรุง และณัฐาพร เกตรัตนมาลี. (2554). การแพร่กระจายของ *Staphylococcus aureus* ในผลไม้พร้อมบริโภค บริเวณอำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 13*(4), 52-58.

Al-Jedah, J. H., & Robinson, R. K. (2002). Nutritional value and microbiological safety of fresh fruit juices sold through retail outlets in Qatar. *Pakistan Journal of Nutrition, 1*(2), 79-81.

Andrews, W. H., & Hammack, T. S. (2003). *Chapter 1 Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate. In U.S. FDA, Center for Food Safety & Applied Nutrition. Bacteriological Analytical Manual.* Retrieved April 20, 2019, from http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-1.html

Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., Kumar, V., & Kaur, M. (2014). Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrots. *International journal of food science, 2014*, 1-7.

Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. *Toxins*, *2*(7), 1751-1773.

Baert, K., Devlieghere, F., Amiri, A., & De Meulenaer, B. (2012). Evaluation of strategies for reducing patulin contamination of apple juice using a farm to fork risk assessment model. *International journal of food microbiology*, *154*(3), 119-129.

Bahk, G. J., Todd, E. C., Hong, C. H., Oh, D. H., & Ha, S. D. (2007). Exposure assessment for Bacillus cereus in ready-to-eat Kimbab selling at stores. *Food Control*, *18*(6), 682-688.

Bates, R. P., Morris, J. R., & Crandall, P. G. (2001). *Principles and practices of small-and medium-scale fruit juice processing* (No. 146). N.P.: Food & Agriculture Org.

Buchanan, R. L., Smith, J. L., & Long, W. (2000). Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *International journal of food microbiology*, *58*(3), 159-172.

Corpas, L., Velciov, A., Rivis, A., Olariu, L., Gravilă, C., & Ahmadi, M. (2012). Physico-chemical characterization of some fruits juices from Romanian hypermarket fruits. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, *18*(1), 95-99.

Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS microbiology reviews*, *36*(4), 815-836.

Hoornstra, E., & Notermans, S. (2001). Quantitative microbiological risk assessment. *International journal of food microbiology*, *66*(1-2), 21-29.

John. B., Maarten, N., Roland, L. & Marcel, Z. (2012). Tools for Microbiological risk assessment. In *Report Commissioned by the ILSI Europe Risk Analysis in Food Microbiology Task Force.* N.P.: n.p.

Kallio, J., Jaakkola, M., Mäki, M., Kilpeläinen, P., & Virtanen, V. (2012). Vitamin C inhibits staphylococcus aureus growth and enhances the inhibitory effect of quercetin on growth of Escherichia coli in vitro. *Planta medica*, *78*(17), 1824-1830.

Kang Zhou, Kaicheng Zhong, Chao Long, Xinfeng Han & Shuliang Liu. (2014). Development and validation of a predictive model for the growth of *salmonella enterica* in chicken meat. Journal of Food Safety, 34, 326–332

Kitamoto, M., Kito, K., Niimi, Y., Shoda, S., Takamura, A., Hiramatsu, T., ... & Yamamoto, A. (2009). Food poisoning by Staphylococcus aureus at a university festival. *Jpn J Infect Dis*, *62*(3), 242-3.

Lammerding, A. M., & Fazil, A. (2000). Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *International journal of food microbiology*, *58*(3), 147-157.

Lawley, R., Curtis, L., & Davis, J. (2012). *The food safety hazard guidebook*. Royal Society of Chemistry.

Lee, H., Kim, K., Choi, K. H., & Yoon, Y. (2015). Quantitative microbial risk assessment for Staphylococcus aureus in natural and processed cheese in Korea. *Journal of dairy science*, *98*(9), 5931-5945.

Lee, H., Lee, S., Kim, S., Lee, J., Ha, J., & Yoon, Y. (2016). Quantitative Microbial Risk Assessment for Clostridium perfringens in Natural and Processed Cheeses. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, *29*(8), 1188.

Lee, Y. J., Jung, B. S., Kim, K. T., & Paik, H. D. (2015). Predictive model for the growth kinetics of Staphylococcus aureus in raw pork developed using Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) 2013. *Meat science*, *107*, 20-25.

Malcolm, T. T. H., Cheah, Y. K., Radzi, C. W. J. W. M., Kantilal, H. K., Martinez-Urtaza, J., Nishibuchi, M., & Son, R. (2016). Microbial risk assessment of Vibrio parahaemolyticus in bloody clams in Malaysia: A preliminary model from retail to consumption. *Microbial Risk Analysis*, *4*, 43-51.

Min-Jeong Rho & Donald W. Schaffner. (2007). Microbial risk assessment of staphylococcal food poisoning in Korean kimbab. International Journal of Food Microbiology, 116, 332–338

Montville, T. J., & Matthews, K. R. (2008). *Food microbiology: An introduction* (2nd ed.). Washington D.C: ASM Press.

Murchie, L., Xia, B., Madden, R. H., Whyte, P., & Kelly, L. (2008). Qualitative exposure assessment for Salmonella spp. in shell eggs produced on the island of Ireland. *International journal of food microbiology*, *125*(3), 308-319.

Nunes, M. M., & Caldas, E. D. (2017). Preliminary Quantitative Microbial Risk Assessment for Staphylococcus enterotoxins in fresh Minas cheese, a popular food in Brazil. *Food Control*, *73*, 524-531.

Ostyn, A., De Buyser, M. L., Guillier, F., Groult, J., Felix, B., Salah, S., ... & Hennekinne, J. A. (2010). First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. *Eurosurveillance*, *15*(13), 19528.

Qing-li Dong. (2012). Exposure assessment of *Bacillus cereus* in Chinese-style cooked rice. Journal of Food Process Engineering, 36, 329–336

Safefood 360°. Water Activity (aw) in Foods. (2014). Retrieved December 12, 2016, from http://safefood360.com/resources/Water-Activity.pdf

Seo, K. S., & Bohach, G. A. (2007) Staphylococcus aureus. Ch 22 In: *Doyle MP, Beuchat LR (Eds.) Food microbiology: Fundamentals and frontiers* (3rd ed.). Washington D.C.: ASM Press.

Tallent, S., Hait, J., Bennett, R. W., & Lancett, G. A. (2001). *Bacteriological analytical manual Chapter 12 Staphylococcus aureus*. Retrived January 25, 2019, from https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus

Thai food.com. (2016). *Thai food*. Retrieved December 25, 2018, from https://www.thai-thaifood.com/

United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. (2012). *Leftovers and food safety*. Retrieved December 14, 2018, from https://shcs.ucdavis.edu/sites/ default/files/documents/Leftovers_and_Food_Safety_0.pdf.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Baird-Parker medium (BP)

1.1 Base medium

Tryptone	10 กรัม
Beef extract	5 กรัม
Yeast extract	1 กรัม
Sodium pyruvate	10 กรัม
Glycine	12 กรัม
Lithium chloride.$_6H_2O$	5 กรัม
Agar	20 กรัม

ละลายส่วนประกอบในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจน agar ละลาย และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที pH 7.0 ± 0.2

1.2 1% Potassium tellulite solution

Potassium tellulite trihydrate	1 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ละลาย potassium tellulite trihydrate ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยวิธีการกรอง

1.3 Egg yolk emulsion

ล้างเปลือกไข่สดให้สะอาด แช่ใน 70% ethanol นาน 1 ชั่วโมง ตอกไข่ด้วยวิธี aseptic technique

เตรียม egg yolk emulsion ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยนำส่วนของไข่แดงใส่ลงในภาชนะปราศจากเชื้อ 15 มิลลิลิตร ผสมน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร ปริมาตร 35 มิลลิลิตร (ไข่แดง: น้ำเกลือ = 3 : 7)

การใช้งาน

เติม 1% Potassium tellulite solution 10 มิลลิลิตร และ Egg yolk emulsion 50 มิลลิลิตร ลงใน base medium 950 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทลงในจานเพาะเชื้อตามปริมาตรที่ต้องการ

2. Brain heart infusion (BHI) broth

Brain heart-infusion	6 กรัม
Peptic digest of animal tissue	6 กรัม

NaCl	5 กรัม
Dextrose	3 กรัม
Pancreatic digest of gelatin	14.5 กรัม
Na_2HPO_4	2.5 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที pH 7.4 ± 0.2

3. Trypticase (tryptic) soy agar (TSA)

Trypticase peptone	15 กรัม
Phytone peptone	5 กรัม
NaCl	5 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจน agar ละลาย และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที pH 7.3 ± 0.2

4. Trypticase (tryptic) soy agar (TSA)

Trypticase peptone	17 กรัม
Phytone peptone	3 กรัม
NaCl	5 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองตามปริมาตรที่ต้องการ และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที pH 7.3 ± 0.2

5. Butterfield's phosphate buffered dilution water (BPB)

5.1 Stock solution

KH_2PO_4	34 กรัม
น้ำกลั่น	500 มิลลิลิตร

ชั่ง KH_2PO_4 34 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.2 ด้วย 1N NaOH (NaOH 40 กรัม ละลายน้ำแล้วเติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร) ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

5.2 Diluent

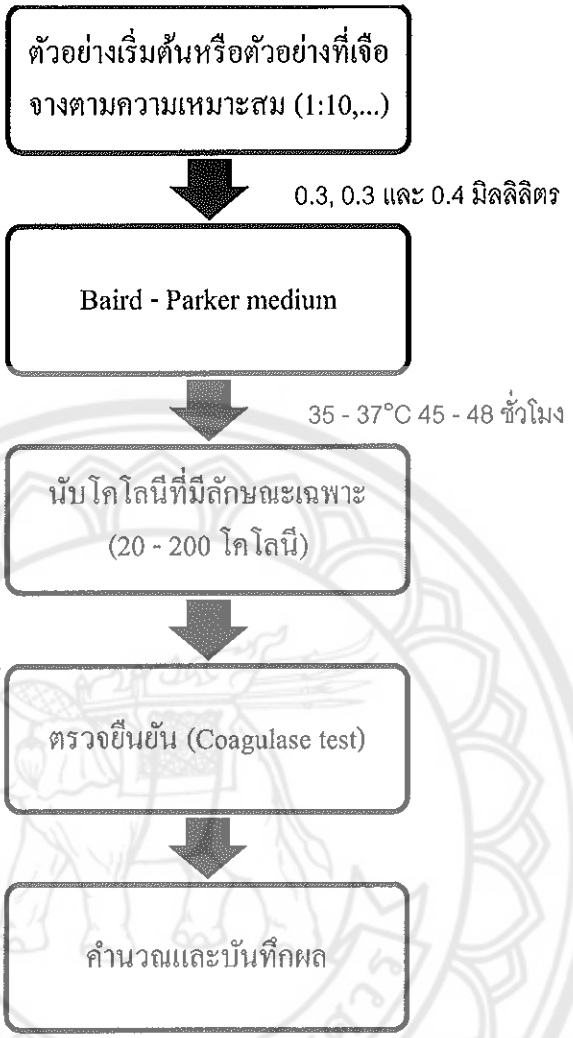
ปิเปต Stock solution 1.25 มิลลิลิตร นำมาปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตใส่หลอดลองหรือขวดตามปริมาตรที่ต้องการและฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

สารเคมี

1. Coagulase plasma (rabbit) with EDTA ใช้ชนิดสำเร็จรูป
2. Silver Nitrate ($AgNO_3$)

   ชั่ง $AgNO_3$ 24 กรัม ละลายน้ำแล้วเติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
3. Potassium Cromate (K_2CrO_4)

   ชั่ง K_2CrO_4 4 กรัม ละลายน้ำแล้วเติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร



แผนภูมิที่ 1 การตรวจปริมาณ (Enumeration) *S. aureus* ในน้ำส้มคั้นสด โดยวิธี Spread plate

1. วิธีการตรวจวิเคราะห์ *S. aureus* ตามตามวิธีมาตรฐาน ของ FDA-BAM online, 2016(Chapter 12

1.1 เขย่าตัวอย่างในภาชนะบรรจุเข้ากัน เทตัวอย่างลงในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ และเขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง (ตัวอย่างเริ่มต้น)

1.2 เตรียมตัวอย่างโดยเจือจางตัวอย่างตามลำดับ ลำดับละ 10 เท่า ด้วยสารละลายเจือจาง (Butterfield'phosphate buffered dilution water)

1.3 ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ลงในสารละลายเจือจาง 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างเจือจางเป็น 1 : 10

1.4 ปิเปตตัวอย่างเริ่มต้นและตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1 : 10 ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium จานเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 จานเพาะเชื้อ (0.3,0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร) ต่อระดับความเจือจาง แล้วใช้แท่งแก้วงอเกลี่ยให้ทั่วจนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง

1.5 นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง

1.6 นับโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีเฉพาะ คือ กลม นูน สีเทาถึงสีดำ มีโซนขุ่นรอบโคโลนี และอาจมีโซนใสรอบนอกด้วย 20-200 โคโลนี

1.7 เขี่ยเชื้อจากข้อ 6 อย่างน้อย 5 โคโลนี นำไปตรวจยืนยัน

1.8 การตรวจยืนยัน

1.8.1 การทดสอบ Coagulase test โดยเขี่ยโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะลงใน Brain heart infusion broth 0.2-0.3 มิลลิลิตร และ Tryptic soy agar (TSA) slant บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง (เก็บ TSA slant ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทดสอบเพิ่มเติมหรือทดสอบ Coagulase ซ้ำ)

1.8.2 เติม coagulase plasma (rabbit) with EDTA 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง สังเกตการจับตัวกันเป็นลิ่ม (clot) ในหลอด โดยการเอียงหรือคว่ำหลอด ถ้ายังอยู่ในสภาพเดิม สรุปว่าพบ *S. aureus* แต่ในกรณีที่ไม่แข็งหรือแข็งบางส่วนให้บ่มต่ออีก 18-48 ชั่วโมง แล้วอ่านผล ถ้าไม่พบการแข็งตัวเป็นลิ่มขึ้นให้สรุปผลเป็นลบ

1.9 เก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ผลบวก โดยเก็บไว้ใน glycerol broth ที่ -20 องศาเซลเซียส

2. การวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยนำตัวอย่างน้ำส้มคั้นสด 20 มิลลิลิตร โดยเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ทำการวัด 3 ครั้ง/ตัวอย่าง

3. การหาปริมาณน้ำอิสระ (a_w) โดยการใส่ตัวอย่างน้ำส้มคั้นลงในตลับพลาสติก แล้ววางที่หลุม ปิดฝาเครื่อง หลังจากนั้นเครื่องจะทำการอ่านค่า

4. ของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (น้ำตาล) (°Brix) ด้วยเครื่องวัดความหวาน (Hand Refractometer) โดยหยดตัวอย่างลงบนกระจกปริซึม ปิดแผ่นเพลทลงให้ตัวอย่างกระจายทั่วผิวกระจก หลังจากนั้นอ่านค่าจากการมองที่ช่องส่อง โดยหันไปทางที่มีแสงสว่าง จะเห็นแถบสเกลที่มีเส้นเชื่อมต่อระหว่างสีฟ้าและสีขาวเป็นตัวชี้สเกลซึ่งมีค่า 0 - 32 °Brix

ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

Sample	pH	Sugar content	Water activity	% Nacl	*S.aureus* (CFU/ml)
1	3.14	17.6	0.903	0.29	< 1
2	3.14	19.8	0.902	0.59	< 1
3	3.27	20.2	0.908	1.16	< 1
4	3.26	15.5	0.905	0.72	< 1
5	3.29	20.0	0.903	0.30	< 1
6	3.22	17.6	0.888	0.60	< 1
7	4.42	8.9	0.898	0.16	< 1
8	2.87	17.2	0.899	0.77	< 1
9	2.77	15.6	0.902	0.36	< 1
10	3.45	14.4	0.904	0.43	< 1
11	2.68	12.8	0.905	0.46	< 1
12	2.99	23.6	0.900	0.92	< 1
13	2.78	2.6	0.899	0.37	< 1
14	3.38	4.6	0.906	0.26	< 1
15	3.02	10.0	0.901	0.23	< 1
16	3.49	11.0	0.901	0.58	< 1
17	2.99	23.6	0.891	0.89	< 1
18	3.41	18.0	0.901	0.62	< 1
19	3.52	23.0	0.895	0.59	< 1
20	3.42	22.6	0.897	0.52	< 1
21	3.16	17.4	0.908	0.41	< 1
22	3.25	14.8	0.904	0.73	< 1
23	3.21	24.4	0.883	0.96	< 1
24	3.26	6.4	0.896	1.16	< 1
25	2.79	4.0	0.898	1.60	< 1

Sample	pH	Sugar content	Water activity	% Nacl	*S.aureus* (CFU/ml)
26	3.14	18.0	0.893	1.79	< 1
27	3.04	7.0	0.903	0.37	< 1
28	3.09	27.2	0.897	1.08	< 1
29	3.31	21.2	0.894	1.98	3
30	3.71	7.4	0.905	0.68	< 1
31	3.55	24.4	0.879	0.67	< 1
32	3.65	10.0	0.892	0.51	< 1
33	3.35	28.0	0.882	0.56	< 1
34	3.44	32.0	0.876	0.86	1
35	2.95	32.0	0.870	2.54	< 1
36	3.49	6.0	0.909	0.50	< 1
37	3.3	12.8	0.902	0.32	< 1
38	2.73	9.4	0.905	0.38	< 1
39	3.83	7.8	0.906	0.17	< 1
40	2.81	3.0	0.910	0.40	< 1
41	2.78	1.6	0.903	0.40	< 1
42	2.74	8.2	0.895	0.29	< 1
43	3.22	24.4	0.876	1.60	< 1
44	3.56	18.2	0.894	0.75	< 1
45	3.63	18.2	0.895	0.97	< 1
46	3.29	23.0	0.894	2.21	< 1
47	3.95	20.0	0.903	0.19	< 1
48	2.92	27.8	0.895	1.72	< 1
49	3.07	25.2	0.896	1.27	< 1
50	3.95	25.0	0.897	0.60	< 1
51	3.74	13.8	0.901	0.44	< 1
52	3.7	10.4	0.901	0.51	< 1

Sample	pH	Sugar content	Water activity	% Nacl	*S.aureus* (CFU/ml)
53	3.77	6.8	0.896	0.56	< 1
54	3.93	5.0	0.899	0.49	< 1
55	3.64	14.6	0.903	0.61	< 1
56	3.41	25.6	0.899	0.54	< 1
57	3.98	6.4	0.905	0.19	< 1
58	3.77	16.2	0.905	0.64	56
59	4.06	2.8	0.908	0.21	< 1
60	3.08	26.0	0.898	2.13	< 1
61	3.64	32.0	0.887	0.93	< 1
62	3.13	17.2	0.897	0.43	< 1
63	3.53	20.2	0.875	0.80	< 1
64	3.44	22.0	0.876	1.31	< 1
65	3.52	14.8	0.893	0.81	< 1
66	3.53	13.8	0.895	0.57	< 1
67	3.7	20.4	0.893	0.50	< 1
68	3.66	15.4	0.898	0.20	< 1
69	3.33	18.5	0.897	0.93	< 1
70	3.72	14.6	0.897	0.50	< 1
71	3.85	18.0	0.894	0.31	100
72	3.47	21.5	0.881	0.73	< 1
73	3.55	22.9	0.883	0.87	< 1
74	4.12	9.0	0.891	0.37	< 1
75	4.09	20.9	0.891	0.24	< 1
76	3.76	17.0	0.892	0.93	< 1
77	3.54	19.0	0.886	0.47	< 1
78	3.89	24.7	0.898	0.41	< 1
79	2.76	26.2	0.896	0.59	< 1

Sample	pH	Sugar content	Water activity	% Nacl	*S.aureus* (CFU/ml)
80	4.06	16.2	0.903	0.85	< 1
81	3.49	22.0	0.901	0.65	< 1
82	3.73	10.0	0.898	1.19	< 1
83	2.71	12.0	0.898	0.37	< 1
84	3.37	14.8	0.900	0.52	< 1
85	4.33	7.2	0.901	0.14	< 1
86	3.89	14.2	0.889	0.81	51
87	3.48	15.0	0.887	0.79	< 1
88	3.66	17.4	0.885	1.12	< 1
89	4.13	8.0	0.892	0.43	18
90	3.78	20.4	0.879	0.59	< 1
91	3.63	17.0	0.891	1.08	< 1
92	3.41	18.8	0.990	1.38	6
93	3.44	32.0	0.988	1.21	< 1
94	4.13	11.2	0.890	0.92	< 1
95	3.97	19.0	0.895	0.26	< 1
96	3.52	19.0	0.894	0.81	< 1
97	4.11	17.2	0.897	0.65	< 1
98	3.81	14.2	0.891	0.79	< 1
99	3.83	11.0	0.894	0.99	< 1
100	4.35	8.6	0.895	0.24	< 1
ค่าเฉลี่ย	3.47	16.4	0.898	0.73	