สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียมและเปอร์ซาเนีย 2505 ® สำหรับฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่

SODIUM HYPOCHLORITE, QUATERNARY AMMONIUM COMPOUND AND PERXANIA 2505 ® AS SANITIZERS FOR *Listeria monocytogenes* IN CHICKEN SLAUGHTERHOUSE

T061171

กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์
KITTIKAN BOONPRASIT

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 61171
วัน,เดือน,ปี 17 ก.ค. 2549

.b 11594597
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2548

ISBN 974-15-2096-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SODIUM HYPOCHLORITE, QUATERNARY AMMONIUM COMPOUND AND PERXANIA 2505 ® AS SANITIZERS FOR *Listeria monocytogenes* IN CHICKEN SLAUGHTERHOUSE

KITTIKAN BOONPRASIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN FOOD SANITATION
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2005

ISBN 974-15-2096-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2005

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้[illegible]ศึกษาเพื่อประโยชน์ทางการศึกษาเท่านั้น ห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**ผลของโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียมและเปอร์ซาเนีย 2505 ® สำหรับฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่**
ชื่อนักศึกษา	**นางสาวกิตติกานต์ บุญประสิทธิ์**
รหัสนักศึกษา	46067904
ปริญญา	**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต**
สาขาวิชา	**สุขาภิบาลอาหาร**
พ.ศ.	2548
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	**ผศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์**

บทคัดย่อ

**เชื้อ *Listeria monocytogenes* เป็นเชื้อก่อโรคที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และเป็นปัญหาสำคัญต่อเศรษฐกิจการส่งออกสินค้าเนื้อไก่ของไทยไปต่างประเทศ จึงทำการศึกษาหาแหล่งปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่ของกระบวนการผลิตไก่แช่แข็ง พบว่าแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง คือซากไก่หลังออกจากถัง chiller ที่ใช้ล้างและปรับอุณหภูมิซากพบเชื้อ 4.0 %, น้ำในถัง chiller จุดที่ไก่ลงพบเชื้อ 3.33 %, เนื้อไก่บนสายพานการผลิตพบเชื้อ 4.0 %, Roller ใต้สายพานการผลิตพบเชื้อ 10.0 % และรางระบายน้ำห้องตัดแต่งพบเชื้อ 3.33% จากการศึกษาระดับความเข้มข้นของโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียมและเปอร์ซาเนีย 2505® และระยะเวลาสัมผัสเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ของสารเคมีทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีทั้งหมด มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm., 200 ppm. และ 100 ppm. ของสารเคมีทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml. ได้โดยไม่พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเวลา 1 นาที แต่พบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ 25 ppm. ของสารเคมีโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ และสารประกอบควอตเทอร์นารี แอมโมเนียม สามารถยับยั้งเชื้อ $1x10^6$ cfu/ml. โดยไม่พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเวลา 10 นาทีและพบว่าระดับความเข้มข้น 10 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารเคมี เปอร์ซาเนีย 2505® สามารถยับยั้งเชื้อ 1x10 ^{6} *cfu/ml.* ได้หมด ในเวลา 10 นาที และจากการศึกษาเมื่อนำสารเคมีทั้ง 3 ชนิด ไปใช้ในการยับยั้งเชื้อหลังทำความสะอาดกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง ณ จุดต่าง ๆ คือ ใช้สารเคมีโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ ที่บริเวณพื้นผิวถัง Chiller, สารประกอบควอตเทอร์นารี แอมโมเนียม ที่บริเวณพื้นผิว Roller ใต้สายพานและเปอร์ซาเนีย 2505® ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ พบว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการสัมผัสเพื่อยับยั้งเชื้อ 10 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้หมด แต่ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดยกรมปศุสัตว์ได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีทั้งสาม เป็น 50 ppm. และใช้เวลาในการสัมผัสเพื่อยับยั้งเชื้อ 10 นาที ที่บริเวณพื้นผิวจุดต่าง ๆ ดังได้กล่าวข้างต้น พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดยกรมปศุสัตว์และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Sodium Hypochlorite,Quaternary Ammonium Compound and Perxania 2505® as Sanitizers for *Listeria monocytogenes* in Chicken Slaughterhouse
Student	Miss Kittikan Boonprasit
Student ID.	46067904
Degree	Master of Science
Programme	Food Sanitation
Year	2005
Thesis Advisor	Assist. Prof.Dr. Adisorn Swetwiwathana

ABSTRACT

The ubiquitous occurrence of *Listeria monocytogenes* in frozen foods and the incidence of listeriosis is a world-wide problem. According to numerous reports on *Listeria monocytogenes* contamination in frozen chicken, hence, the source of *Listeria monocytogenes* contamination during slaughtering and processing of frozen chicken were investigated. Besides, effects of Sodium hypochlorite, Quaternary Ammonium compound and Perxania 2505® on *Listeria monocytogenes* during the process were also studied. The study revealed that, during the frozen chicken process, *Listeria monocytogenes* was found contaminate in chicken carcasses released from chiller tank (4.0%), on chiller tank area (3.33%), on conveyor belt (4.0%), on roller under conveyor belt (10.0%) and on water drained rail in cutting room (3.3%). Effects of 3 sanitizing agents (Sodium hypochlorite, Quaternary Ammonium compound and Perxania 2505®) concentration and appropriate contacting time by using these 3 sanitizing agents on *Listeria monocytogenes* showed that all agents at 400, 200, and 100 ppm. could eliminate a total number of *Listeria monocytogenes* ($1x10^6$ cfu/ml) 1 minute in a in-vitro broth. The use of 25 ppm. of Sodium hypochlorite, 25 ppm. of Quaternary Ammonium compound and 10 ppm. of Perxania 2505® could eradicate the same amount of *Listeria*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

monocytogenes within 10 minutes. The study of using Sodium hypochlorite on the surface of chiller tank, Quaternary Ammonium compound on the surface of roller under conveyor belt and Perxania 2505® on the surface of water drained rail at 25 ppm. for 10 minutes showed a highly effect on *Listeria monocytogenes* elimination from each surface, but this concentration and contacting time was not appropriate for diminishment of total bacterial number on the surface of each equipment. In order to reach the microbiological standard which set by Department of livestock Development (Thailand), 50 ppm. of each sanitizing agent was recommended to use for aforementioned equipment's surface in the study.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเนื่องจากได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ชี้แนะที่มีประโยชน์และมีคุณค่าเสมอมา ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประภาพร ชอไพบูลย์ และดร.กิตติชัย บรรจง ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์และช่วยแก้ไข ตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนสำเร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ต่าง ๆ แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาการศึกษาจนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับ บริษัทศรีไทย ฟู้ดแอนเบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความกรุณาและอนุเคราะห์สถานที่ในการทำงานทดลองและวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ปริญญาโท น้อง ๆ ที่บริษัทศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความช่วยเหลือ ความปรารถนาดีเสมอมาและมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ทำให้งานวิจัยดังกล่าวสำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณแม่ ญาติพี่น้อง ที่เป็นกำลังใจในการทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ที่พึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง VIII

สารบัญภาพ X

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 ขอบเขตการวิจัย 1

1.3 วัตถุประสงค์ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ลักษณะของเชื้อ *Listeria* spp. 3

2.2 การแพร่ระบาดของเชื้อ *Listeria monocytogenes* 5

2.3 การปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานผลิตเนื้อสัตว์ 7

2.4 การควบคุมและป้องกันเชื้อ *Listeria monocytogenes* 8

2.5 สารฆ่าเชื้อ 10

บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง 16

3.1 วัตถุดิบ 16

3.2 สารเคมี 17

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 17

3.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 18

3.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ 18

3.6 สถานที่ทำการทดลอง 18

3.7 วิธีดำเนินการทดลอง 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 23

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 52

เอกสารอ้างอิง 55

ภาคผนวก 61

ก. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ 62

1. *Listeria monocytogenes*
2. Total Bacteria Plate Count
3. MPN *E.coli*
4. *Salmonella* spp.

ข. ขั้นตอนการเตรียมสารฆ่าเชื้อและการยับยั้งเชื้อในหลอดทดลอง 76

ค. ผลการทดลอง 78

ง. สถานที่ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อ 84

จ. มาตรฐานเชื้อจากการ Swab เครื่องมือและอุปกรณ์ 86

ประวัติผู้เขียน 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 คุณสมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญ ใช้แยก *Listeria* species.....4

2.2 อาการที่แสดงออกและอาการทางคลีนิคของเชื้อ Listeriosis 6

2.3 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Listeria* spp. ในโรงงานชำแหละไก่และไก่งวง ในแคลิฟอร์เนีย 7

2.4 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Listeria* spp. ในสภาพแวดล้อม ขณะปฏิบัติงานของโรงงาน ชำแหละสัตว์ปีกในประเทศอังกฤษ 8

4.1 ผลการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิต 24

4.2 ผลของการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในเครื่องมือและอุปกรณ์, มือและถุงมือ, เอี๊ยมพนักงานที่ใช้ในกระบวนการผลิตและสภาพแวดล้อม ในพื้นที่ทำการผลิต.....25

4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1 x 10^6 cfu/ml 28

4.4 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1x10^6 cfu/ml 35

4.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1x10^6 cfu/ml 38

4.6 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวถัง Chiller 42

4.7 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวถัง Chiller 43

4.8 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ บน Roller ใต้สายพาน 45

4.9 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่ Roller ใต้สายพาน 46

4.10 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.11 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ 49

จ.1 มาตรฐานจำนวนเชื้อที่พบได้ในเครื่องมือและอุปกรณ์ ในโรงงานผลิตสัตว์ปีก โดยวิธีการ Swab 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

4.1 ประสิทธิภาพของสารเคมี โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นและเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง.....32

4.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นและเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง.....36

4.3 ประสิทธิภาพของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้นและเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง.....40

ก.1 ปฏิกิริยาของเชื้อ *L.monocytogenes* ที่เกิดขึ้นบน Test Kit Microbact 12 L. (Listeria) 65

ข.1 ขั้นตอนการเตรียมสารฆ่าเชื้อและการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง 77

ค.1 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที 79

ค.2 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที 79

ค.3 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที 80

ค.4 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm.ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ค.5 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที 81

ค.6 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที.....81

ค.7 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505® ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของรางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที 82

ค.8 การ เปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505® ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของรางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที 82

ค.9 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505® ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของรางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที 83

ง.1 สถานที่ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อ 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการผลิตไก่ของไทยในปัจจุบัน ได้เจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว ทั้งที่เป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ขนาดกลาง และขนาดเล็ก หรือแม้แต่เป็นธุรกิจของครอบครัว สินค้าที่ผลิตจะเพิ่มขึ้นตามความต้องการของผู้บริโภคทั้งในและนอกประเทศ มีการเปิดตลาดการค้าระหว่างประเทศกันมากขึ้น ทำให้โอกาสการส่งสินค้าไก่สดแช่แข็งไปขายยังต่างประเทศเป็นไปอย่างกว้างขวางทำให้ประเทศผู้นำเข้าได้เพิ่มมาตรการเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศโดยระบุไม่ยอมให้พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อไก่นำเข้า เช่น ประเทศเกาหลี เป็นต้น ด้วยเหตุนี้สินค้าไก่สดแช่แข็งที่ผลิตจึงต้องมีคุณภาพดี มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งในและต่างประเทศ อาหารที่มีคุณภาพดีจะต้องมาจากวัตถุดิบที่มีคุณภาพ และกระบวนการผลิตเป็นไปอย่างถูกต้อง ปราศจากสิ่งปนเปื้อนต่างๆที่อาจก่อให้เกิดอันตราย หรือเกิดโรคได้ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆโดยเฉพาะเชื้อ *Listeria monocytogenes* ซึ่งมีอยู่ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และสามารถปนเปื้อนสู่ขั้นตอนการผลิตไก่สดแช่แข็ง โรงงานผลิตไก่จึงต้องมีมาตรการในการป้องกัน และกำจัดแหล่งปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเพื่อยกระดับคุณภาพสินค้าซึ่งเป็นสิ่งพึงประสงค์ของผู้ประกอบการผลิตและผู้บริโภคอาหาร

ดังนั้นจึงทำการศึกษาสารเคมีที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อสู่สินค้า นอกจากนั้นยังใช้ข้อมูลที่ได้นำไปแนะนำทางวิชาการแก่ผู้ผลิตไก่สด นำไปสู่การปรับปรุงกระบวนการผลิต เพื่อป้องกันปัญหากีดกันการนำเข้าและช่วยส่งเสริมสนับสนุนอุตสาหกรรมการส่งออกไก่สดแช่แข็งได้โดยตรงอีกด้วย

1.2 ขอบเขตการวิจัย

1. เพื่อศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

2. เพื่อศึกษาผลของสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ และในเวลาต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เพื่อศึกษาผลของการนำสารเคมีไปใช้ในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง เพื่อเฝ้าระวังไม่ให้มีการปนเปื้อน

2. เพื่อนำผลของสารเคมีที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ และในเวลาต่าง ๆ กัน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ ที่ใช้ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

3. เพื่อให้ทราบผลของการนำสารเคมีไปใช้ในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะของเชื้อ *Listeria* spp. (Morphology)

Listeria เป็นเชื้อแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ รูปท่อน สั้น ปลายมน (short, regular rod with rounded end) เซลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.5 ไมครอน (μm) ยาว 0.5-2 ไมครอน การเรียงตัวของเซล เป็นแบบเดี่ยวหรือรูปลูกบาศก์ (parallel) หรือสายสั้น ๆ เรียงเป็นรูปตัว V หรือตัว Y ติดสีแกรมบวก (Gram Positive) แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ นานเกิน 24 ชั่วโมง การติดสีแกรม จะเปลี่ยนไปเป็นแกรมบวกหรือแกรมลบก็ได้ (Gram Variable) ในเชื้อที่มีอายุมากอาจเห็นเซลเป็นเส้น (filamentous cell) เชื้อนี้สามารถเคลื่อนที่ได้ (motile) ที่ 20-25 °C เนื่องจากมี Peritrichous flagella การเคลื่อนที่ในอาหารเหลวจะมีลักษณะคือเคลื่อนตัวกลับไปกลับมา (Tumbling motility) และเมื่อแทง (Stab) เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว (Semisolid medium) และนำไปบ่มเพาะเลี้ยงที่ 20-25 °C จะเห็นการเคลื่อนที่แบบร่ม (Umbrella like) โดยสังเกตเห็นเป็นรัศมี แผ่ออกรอบ ๆ รอบรอยแทงเชื้อคล้ายร่มกาง ซึ่งจะอยู่ต่ำจากผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3-5 มิลลิเมตร แต่ถ้าบ่มเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37°C การพัฒนา Flagella จะไม่ดีทำให้ไม่เห็นการเคลื่อนที่ (Robinson *et al.*, 2000)

ลักษณะโคโลนีของเชื้อบน Nutrient agar หลังจากการบ่มเพาะเลี้ยงที่ 37 °C 24 ชั่วโมง โคโลนีจะเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.5 มิลลิเมตร ลักษณะกลมใสคล้ายหยดน้ำเนื้อบนผิวโคโลนีละเอียด (Finely textured surface) ขอบเรียบ โคโลนีมีสีฟ้าอมเทา (Blue gray) แต่ถ้าดูผ่านกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นสีฟ้าอมเขียว โคโลนีของเชื้อที่มีอายุ 3-7 วัน จะเหนียว ขอบไม่เรียบ และตรงกลางโคโลนีจะบุ๋มลงไป (ปรีชา, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญ ใช้แยก *Listeria* species

Biochemical test	*Listeria* spp.						
	L. monocytogenes	*L. ivanovii*	*L. innocua*	*L. welshimeri*	*L. seeligeri*	*L. grayi*	*L. murrayi*
Dextrose	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	+	-	+	+	-	-
Rhamnose	+	-	V[b]	V	-	-	V
Mannitol	-	-	-	-	-	-	+
Eesculin	+	+	+	+	+	+	+
Hippurate hydrolysis	+	+	+	+	+	-	-
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+
Methyl red	+	+	+	+	+	+	+
Beta-haemolytic	+	+	-	-	+[a]	-	-
Urea hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	-	-	-	-	-	+
CAMP positive / *Staphylococcus aureus*	+	-	-	-	+	-	-
CAMP positive / *Rhodococcus equi*	-	+	-	-	-	-	-

a = Slightly haemolytic

V[b] = Variable

ที่มา : Ryser และ Marth (1991)

จากการศึกษาความสามารถในการเจริญและดำรงชีวิตของ *Listeria* ในอาหารหลายชนิดในสภาวะต่าง ๆ พบว่า

- การคงทนต่อความร้อน (Heat resistance)

ความสามารถในการอยู่รอดของ *Listeria* ในอาหารที่ผ่านกระบวนการต้มหรือย่างขึ้นอยู่กับปริมาณของ *Listeria* ปริมาณและชนิดของอาหาร และเวลาที่ใช้ *Listeria monocytogenes* จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 °C 30 นาที (Robinson *et al.*, 2000)

- การทำให้เย็น (Chilling)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Listeria monocytogenes เป็น Food borne pathogen ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเชื้อที่สามารถเจริญได้ต่ำกว่าอุณหภูมิ 3 °C และสามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิแช่แข็งของอาหาร (FDA, 1992)

- คงทนต่อความเป็นกรด - ด่าง (pH)

Listeria เป็นเชื้อที่ไวต่อความเป็นกรดมากกว่าด่าง สามารถเจริญได้ดี ที่ pH 4.6 ถึง 9.6 (Hocking, 1997)

- Water activity

พบว่า *Listeria* มีความคงทนต่อเกลือและสามารถเจริญได้ในที่มี NaCl มากกว่า 10 % และยังพบว่า *Listeria monocytogenes* สามารถเจริญได้ในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 0.90 - 0.97 (Robinson *et al*., 2000)

2.2 การแพร่ระบาดของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes เป็นเชื้อที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในธรรมชาติ ปกติพบในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน โคลน อุจจาระ น้ำโสโครก และในสัตว์อีกหลายชนิดทั้งสัตว์เลี้ยงในบ้านและสัตว์เลี้ยงทางการเกษตร โดยเฉพาะในดินพบว่า *Listeria monocytogenes* สามารถมีชีวิตรอดในดินได้ถึง 295 วัน จึงเป็นโอกาสหนึ่งที่ทำให้มีการปนเปื้อนสู่ผัก สู่สัตว์เลี้ยง และทำให้เกิดการระบาดในเวลาต่อมา (Robinson *et al*., 2000)

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียก่อให้เกิดโรค Listeriosis ในคนและสัตว์ เชื้อนี้สามารถติดต่อทางอาหารได้ และแพร่เข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนระหว่างกระบวนการผลิต นอกจากอาหารแล้วยังมีเส้นทางอื่นที่เชื้อ *Listeria* จะถ่ายทอดสู่คน เช่น จากคนสู่คน จากสัตว์สู่คน และจากพืชหรือดินสู่คน (ปรีชา, 2537) เมื่อเดือนกรกฎาคม ค.ศ. 1998 ถึงเดือนมกราคม ค.ศ. 1999 พบ 4 บริษัทที่ทำการเรียกคืนสินค้าสำเร็จรูป เนื่องจากพบปัญหาเชื้อ *Listeria monocytogenes* ปนเปื้อนในสินค้า ซึ่งมีผลให้มีผู้เสียชีวิต 16 คน พบปัญหาการแท้งลูกในสตรีตั้งครรภ์ 6 คน และ 100 คน มีอาการป่วยจากเชื้อ *Listeria monocytogenes* (Janes *et al*., 2002)

Listeria มีเพียง 2 Species ที่ทำให้เกิดโรคคือ *Listeria monocytogenes* ซึ่งจัดเป็น Classical pathogen และ *L. ivanovii* ซึ่งไม่ค่อยพบว่าทำให้เกิดโรคในคน จากตารางที่ 2 โรคที่เกิดจาก *Listeria* จะมีผลต่ออวัยวะของร่างกายหลายแห่งรวมทั้งระบบทางเดินอาหาร ลักษณะอาการของโรคจะแตกต่างกันตามชนิดของ Listeriosis (ปรีชา, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 อาการที่แสดงออก (Symptoms) และอาการทางคลีนิค (Clinical manifestations) ของ Listeriosis

Symtoms	Clinical manifestations
Fever	Pyrexia
Convulsion	Meningitis/ meningoencephalitis
Chills	Septicaemia
Backache	Spontaneous abortion
Headache	Granulomatosis infantiseptica
Diarrhoea	(Listeriosis of newborn)
Vomiting	Conjunctivitis
Discoloured urine	Oculoglandular listeriosis
	Cutaneous listeriosis
	Pneumonic listeriosis
	Cervicoglandular listeriosis

ที่มา : ปรีชา (2537)

กลไกการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ประกอบด้วยปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความสามารถในการเข้าสู่เซลและการเจริญภายในเซลของ Host ในขณะที่ *Listeria* spp. ที่ไม่มีความรุนแรงจะไม่มีความสามารถนี้ ความสามารถในการต่อต้านการถูกทำลายโดย phagocytic cell และความสามารถในการสร้างสารพิษ (Toxins) ได้หลายชนิดรวมถึง haemolytic toxins (haemolysin) และ lypolytic toxins ด้วย haemolysin สามารถทำลาย phagocytic cell และ lysosome จึงเป็นสาเหตุสำคัญของการทำให้เกิดโรค ส่วน lipolytic toxins ที่คาดว่าเป็น phospholipids จะกระตุ้นการสร้าง Monocyte และในขณะเดียวกันจะยับยั้ง lymphocyte activity (FDA, 1992)

การรักษาทำได้โดยใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น Penicillin และ Ampicillin แต่ในกรณีดื้อยาทั้งสองชนิดให้ใช้ Erythromycin, Tetracycline, Chloramphenical และ Cephaeotin หรือใช้ยาเหล่านี้ร่วมกัน (ปรีชา, 2537)

ปริมาณของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Listeriosis (Minimum, infectious Dose) ในคนพบว่าปริมาณมากน้อยไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและความอ่อนแอของผู้รับเชื้อ จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาทดลองฉีดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ปริมาณ 100 cells เข้าไปในลูกไก่อายุ 10 วัน ทำให้ลูกไก่ตายภายใน 2-5 วัน โดยที่ในคนไม่มีผลการทดลอง (Jay., 2000)

2.3 การปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานผลิตเนื้อสัตว์

ในประเทศอังกฤษ พบว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบที่เป็นสัตว์ปีกพบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในอุจจาระสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งปนเปื้อนเชื้อที่สำคัญ ที่สามารถแพร่กระจายสู่ซากสัตว์ และกระบวนการผลิตสัตว์ปีกได้ (Ryser and Marth, 1991) การปนเปื้อนระหว่างกระบวนการผลิต มีหลายทางซึ่งเป็นการปนเปื้อนโดยทั่ว ๆ ไป ในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น สินค้าสัมผัสกับพื้นผิวที่ปนเปื้อนจากการ สเปรย์น้ำลงพื้น หรือ ท่อระบายน้ำ ทำให้สิ่งสกปรกจากพื้นปนเปื้อนเข้าสู่โต๊ะปฏิบัติงานหรือเครื่องมือ และการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อม ที่มีผงฝุ่นจากโครงสร้างหรือกิจกรรมที่ทำให้สิ่งปนเปื้อนลงสู่อาหาร หรือ พื้นผิวที่สัมผัสกับอาหาร (Henning and Cutter, 2001) นอกจากนี้ยังมีการศึกษากระบวนการผลิตในโรงงานชำแหละไก่งวงและโรงงานชำแหละไก่ พบการปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocua* ในตัวอย่างน้ำที่ไหลล้นออกจากถังแช่เย็นซากสัตว์ (Overflow chiller water) น้ำจากการล้างซากขณะถอนขนและน้ำหลังล้างเครื่องมือที่ใช้ล้วงเครื่องใน (Ryser and Marth, 1991)

ตารางที่ 2.3 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Listeria* spp.ในโรงงานชำแหละไก่และไก่งวง ในแคลิฟอร์เนีย

Sample	number of Chiken /Turkey analyzed	Number (%) of Positive samples			
		L.monocytogenes	*L.innocua*	*L.welshimeri*	Total
Scalding water overflow	16/15	0/0	0/0	0/0	0/0
Feather picker drip water	16/15	0/1 (6.7)	3 (18.8)/0	0/1 (6.7)	3 (18.8)/2 (13.3)
Incoming chiller water	16/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Overflow chiller water	16/15	2 (12.5) /0	0/0	0/1 (6.7)	2 (12.5)/1 (6.7)
Recycled water for cleaning gutters	16/15	1 (6.3)/2 (13.3	5 (31.3)/0	0/3 (20.0)	6 (37.5)/5 (33.3)

ที่มา : Ryser และ Marth (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Listeria* spp. ในสภาพแวดล้อม ขณะปฏิบัติงานของโรงงานชำแหละสัตว์ปีกในประเทศอังกฤษ

Type of sample	Number of samples analyzed	Number (%) of positive samples	
		L. monocytogenes	*L. innocua*
Transport crates	9	0	1 (11.1)
Automatic carcass opener	3	3 (100)	0
Evisceration - line drain	3	2 (66.7)	0
Neck -skin trimmer	3	2 (66.7)	0
Conveyor to packing area	3	1 (33.3)	0

ที่มา : Ryser และ Marth (1991)

การปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* สู่สินค้ายังมีสาเหตุมาจากผู้ปฏิบัติที่มือหรือถุงมือปนเปื้อนเชื้อ ก่อนเริ่มปฏิบัติงาน รวมทั้งการใช้มือสัมผัสกับร่างกายขณะปฏิบัติงาน โดยการแคะ แกะ เกา ผิวหนัง แบคทีเรียจากผิวหนังสามารถเข้าสู่สินค้าได้ เมื่อผู้ปฏิบัติงานใช้มือสัมผัสกับสินค้า (Tunnicliffe, 1995) จากการสำรวจร้านค้าขายปลีก พบว่าตรวจพบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อหมูสด 19.8 % ในเนื้อไก่สด 62 % (Duffy and Miettinen., 2001 cited by Novak *et al.*, 2003) และพบเชื้อก่อโรค *Salmonella* spp. 54 % เชื้อ *Listeria monocytogenes* น้อยกว่า 10 % ที่มีสาเหตุจากรถขนส่งอาหารและจากรายงานพบว่า 85 % ของผู้ประกอบการที่บ้าน 2,500 ราย ลงความเห็นว่าการพบเชื้อมีสาเหตุจากการใช้อุณหภูมิที่ไม่ถูกต้องในกระบวนการผลิตอาหาร (Maciorowski *et al.*, 1999) จากการศึกษาตรวจเชื้อ *Listeria* spp. ในวัตถุดิบ และอาหารพร้อมบริโภค จากร้านอาหารในประเทศสเปนระหว่างเดือนกันยายน 1999 ถึงเดือน มีนาคม 2000 พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* 2.9 % (พบ 3 ใน 103 ตัวอย่างที่สุ่มตรวจ) (Soriano *et al.*, 2000)

2.4 การควบคุมและป้องกันเชื้อ *Listeria monocytogenes*

การควบคุมและป้องกันเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่ ควรมีการควบคุมตั้งแต่การออกแบบโรงงาน โดยการแยกแต่และส่วนชัดเจน ป้องกันการปนเปื้อนข้าม เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนผลิตแยกจากส่วนบรรจุ หน้าต่างประตูด้านนอก มีการป้องกันแมลง สัตว์ เข้าสู่ภายในโรงงาน พื้น ผนัง ฝ้าเพดาน ทำด้วยวัสดุที่เรียบ ทำความสะอาดง่าย ไม่ทำด้วยไม้ ท่อระบายน้ำมีฝาปิดมีการป้องกันการปนเปื้อนข้าม สภาพแวดล้อมและอากาศ ภายในโรงงานผลิตไม่เป็นสาเหตุการปนเปื้อนข้าม อากาศจากภายนอกไม่เข้าสู่ภายใน ภายในพื้นที่ทำการผลิตมีการควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำ ซึ่งช่วยป้องกันการเจริญของเชื้อก่อโรค (Ryser and Marth, 1991) อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่สัมผัสกับอาหารจะต้องสะอาด เพราะอาจเป็นแหล่งของการปนเปื้อนได้ การทำความสะอาดเครื่องมือนั้น ขั้นแรกจะต้องกำจัดเศษอาหารออกให้หมดเท่าที่จะทำได้ (สุมาลี, 2535) เครื่องมือ อุปกรณ์ ที่สัมผัสกับสินค้า มีการควบคุมความสะอาด มีโปรแกรมการทำความสะอาด มีการใช้ความร้อนหรือสารเคมีในการฆ่าเชื้อ เช่น Chlorine iodine หรือ Quaternary ammonium compounds เพื่อควบคุมเชื้อ *Listeria monocytogenes* และเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ และเพื่อให้สินค้ามีคุณภาพปราศจากการปนเปื้อน รวมทั้งใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ พื้น ผนัง ฝ้าเพดาน ท่อระบายน้ำ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามสู่สินค้า (Hening and Cutter, 2001) นอกจากนี้ผู้ปฏิบัติงาน ต้องทำการควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคลรวมทั้งระเบียบปฏิบัติในการปฏิบัติงาน การแต่งกายถูกต้องด้วยเสื้อผ้าเครื่องแต่งกายที่สะอาด ไม่ไอ จาม รดบนอาหาร ไม่สัมผัสอาหารด้วยมือ ถุงมือ ที่ไม่ผ่านการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ (Tunnicliffe,1995) ในการทำความสะอาดสภาพแวดล้อมในกระบวนการผลิต จากการศึกษาพบว่า สารเคมี ที่เป็น Foam หรือ Gel จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดี แต่ต้องไม่ใช้เครื่อง High pressure เพราะจะทำให้เชื้อแพร่กระจาย ในการใช้แนะนำให้ใช้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) ในเวลา 1 ถึง 30 นาที สารเคมีที่มีสภาพเป็นด่าง จะกำจัดไขมันได้ 99 % และกำจัดโปรตีนได้ 93 % ในเวลา 30 นาที และมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* จากพื้นผิวที่มีมากกว่า 7 log ในเวลา 10 นาที โดยที่สารเคมี Sodium chlorite มีประสิทธิภาพในการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่ผิว Biofilm ที่เป็นไขมันและโปรตีนที่มีจำนวนเชื้อมากกว่า 5 log ใน 1 นาที ใช้เวลาในการทำความสะอาด 10 นาที ด้วยด่าง (alkali) และใช้เวลาทำความสะอาด 30 นาที ด้วยกรด sodium chlorite จะลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ลง ทำให้ตรวจไม่พบที่ระดับ 0.2 cfu / 50 cm^2 โดยที่เชื้อมากกว่า 7 log ที่สามารถลดลงได้ โดยที่ประสิทธิภาพการทำความสะอาดขึ้นกับการใช้สารเคมี สภาพของพื้นผิวและอุณหภูมิ (Frank *et al.*, 2003)

จากการสำรวจพบว่าสารเคมีฆ่าเชื้อ Quaternary ammonium compounds (Benzalkonium chloride and cetrimide) มีอิทธิพลต่อ *Listeria monocytogenes* ที่มีอยู่ทั่ว ๆ ไปในพื้นผิวอุปกรณ์และพบใน Biofilms ในเนื้อ และสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตนม นมหลากหลายชนิดและโรงงานผลิตอาหารที่ถูกสุขลักษณะมีการใช้ Quaternary ammonium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

compounds เป็นสารฆ่าเชื้อในการทำความสะอาด สำหรับใช้ในกระบวนการผลิตและพื้นผิวในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและยังเป็นการปลอดภัยต่อคนที่ใช้ จากการศึกษามีทางเป็นไปได้ว่า *Listeria monocytogenes* อาจจะมีการดื้อสารเคมีในภายหลัง จากการที่ใช้สารฆ่าเชื้อนี้ไปนาน ๆ (Mereghetti *et al.*, 2000)

นอกจากการควบคุมและป้องกันเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตแล้ว ผู้บริโภคยังมีส่วนในการควบคุมและป้องกันเชื้อโดยไม่เก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิอันตรายคือช่วง 5°C ถึง 60°C และมั่นใจว่าอาหารถูกทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ > 75 °C ก่อนบริโภค และควรเก็บอาหารสุกแยกจากอาหารดิบ รวมทั้งใช้อุปกรณ์ที่สะอาดในการประกอบอาหารและไม่เก็บอาหารก่อนปรุงสุกในสภาพแช่เย็นนานเกิน 5 วัน (Gursel and Gurakan, 1997)

2.5 สารฆ่าเชื้อ

2.5.1 ประเภทของสารฆ่าเชื้อ สารที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ ที่นิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมี 6 ประเภทคือ

2.5.1.1 คลอรีนและสารประกอบคลอรีน (Chlorine compound) เช่น Hypochlorite, สารประกอบ chloramines, Chlorinated trisodium phosphate, Derivatives ของ Isocyanuric acid, Dichlorodimethylhydantoin และ Chlorine dioxide (ClO_2)

2.5.1.2 Quaternary Ammonium Compounds อาจเรียกว่า " Quats "

2.5.1.3 สารฆ่าเชื้อที่เป็นกรด (Acid Sanitizer) เช่น Acetic acid, Propionic acid, formic acid และ Peracetic acid เป็นต้น

2.5.1.4 สารประกอบไอโอดีน (Iodine compound) เช่น สาร Iodophor, Alcohol-iodine solution และ Aqueous-iodine solution

2.5.1.5 สาร Glutaradehyde

2.5.1.6 สารประกอบโบรมีน (Bromine compound)

2.5.2 ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ (สุวิมล, 2543)

สารฆ่าเชื้อแต่ละประเภทจะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

2.5.2.1 ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ เมื่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นเพิ่มขึ้น จะต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการทำลายเชื้อมากขึ้น (Park *et al.*,1991; Wei *et al.*,1985) อ้างโดย (ปิยาณี, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.2 องค์ประกอบของการเจริญและสรีระวิทยาของจุลินทรีย์ เช่น เซลล์ปกติ (vegetative cell) กับสปอร์ (spore) เซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว (mature cell) กับเซลล์ที่อายุยังน้อย (younger cell) หรือชนิดของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน จะมีความทนทานต่อสารเคมีชนิดหนึ่ง ๆ ต่างกัน

2.5.2.3 ระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ (concentration or intensity of an antimicrobial agent) สารเคมีบางชนิดเมื่อความเข้มข้นมากขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์มากขึ้น แต่บางชนิดเมื่อความเข้มข้นน้อย มีประสิทธิภาพสูงกว่าความเข้มข้นที่มาก (El-Kest and Marth,1988)

2.5.2.4 ระยะเวลาที่สารเคมีสัมผัสกับจุลินทรีย์ (duration of exposure) จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความไวต่อสารเคมีไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับช่วงการเจริญ การสร้างสปอร์ และปัจจัยอื่น ๆ จึงทำให้เวลาในการสัมผัสไม่เท่ากันของสารแต่ละชนิด Gelinas *et al.*,(1984) ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อระยะเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

2.5.2.5 อุณหภูมิ (Temperature) สารละลายที่มีอุณหภูมิสูงจะลดแรงตึงผิว โดยทั่วไปแล้ว การเพิ่มอุณหภูมิจะเพิ่มอัตราการทำลายจุลินทรีย์ จากการทดลองของ Ito และ Seeger, (1980) อ้างโดย (สุภาวดี, 2543) กล่าวว่าประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของคลอรีนและสารประกอบคลอรีนจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

2.5.2.6 สภาวะแวดล้อม (environment) สารเคมีบางชนิดจะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นในสภาวะแวดล้อมที่มีความเป็นกรดหรือด่างต่างกัน หรืออาจมีประสิทธิภาพลดลงเพราะมีสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ (organic matter) ปะปนอยู่เป็นเกราะช่วยป้องกันเซลล์จุลินทรีย์จากการทำลายของสารเคมี

2.5.2.7 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเป็นกรด-ด่าง เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ สารฆ่าเชื้อจะมีความเป็นกรด-ด่าง ตามบัฟเฟอร์ที่ใช้ผสม และจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมสำหรับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของสารฆ่าเชื้อนั้น ๆ เช่นสารละลายไฮโปคลอไรท์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ช่วง 7-11 สารนี้จะสูญเสียประสิทธิภาพอย่างเร็วที่ความเป็นกรด-ด่าง มากกว่า 10 (Guthrie, 1983)

Cords และ Dychdala, (1993) พบว่าต้องใช้เวลา 465 นาทีในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *Bacillus metiens* ให้ลดลง 99 % ในสารละลายไฮโปคลอไรท์ ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm. อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียล ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 12.9 ในขณะที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 6.0 พบว่าใช้เวลาในการทำลายสปอร์ให้ลดลง 99 % ในเวลาเพียง 2.5 นาที โดยทั่วไปค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลาย ไม่มีผลต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ ยกเว้นสารฆ่าเชื้อบางชนิดเช่น สารประกอบคลอรีนและไอโอดีนจะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้น

2.5.2.8 การทำความสะอาดอุปกรณ์ กรณีที่มีสิ่งสกปรกตกค้างอยู่บนผิวของอุปกรณ์ จะลดประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อลง เพราะสารประกอบพวก hypochlorite หรือสารประกอบคลอรีนอื่น ๆ และสารฆ่าเชื้ออื่น จะไปทำปฏิกิริยากับสิ่งที่ตกค้าง ทำให้ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อลดลง

2.5.2.9 ความกระด้างของน้ำ สารพวก Quatemary ammonium compounds จะไม่ออกฤทธิ์ในน้ำที่เกลือแคลเซียมและแมกนีเซียม อยู่เกินกว่า 200 ppm. ถ้าน้ำกระด้างมากประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อจะลดลง

2.5.2.10 การสร้างฟิล์มชีวภาพบนพื้นผิว ฟิล์มชีวภาพจะช่วยป้องกันตัวจุลินทรีย์ทำให้สารฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง การป้องกันการสร้างฟิล์มชีวภาพบนพื้นผิวสามารถทำได้โดยการออกแบบเครื่องจักร อุปกรณ์ให้ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

2.5.3 ลักษณะของสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

2.5.3.1 สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (Sodium Hypochlorite)

เป็นของเหลว มีคลอรีนอยู่ประมาณ 10-14 % จะออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโดยทำให้โปรตีนของแบคทีเรียตกตะกอนและยังไปยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ด้วย ใช้ได้ผลดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ไวรัสและสปอร์บางชนิด แต่สารเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพลดลง เมื่อมีสิ่งสกปรกที่เป็นสารอินทรีย์ตกค้างอยู่

ในการใช้ควรเตรียมสารคลอรีนใหม่ทุกครั้ง เพราะการเตรียม Stock solution ไว้เป็นเวลานาน จะทำให้ความเข้มข้นและประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลง

คุณสมบัติของคลอรีนและสารประกอบฆ่าเชื้อคลอรีน

คลอรีนเป็นธาตุตัวหนึ่งในกลุ่มฮาโลเจน (Halogen) และอยู่ในรูปของก๊าซคลอรีนที่มีสีเหลืองแกมเขียว(greenish-yellow) คลอรีนได้จากการทำปฏิกิริยาของกรดไฮโดรคลอริคและแมงกานีสออกไซด์ และถูกทำให้เป็นของเหลวโดย T.Northmore ในปีค.ศ. 1805-1806

ปัจจุบันมีการนำคลอรีนและสารประกอบคลอรีนในรูปแบบต่างๆมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยแบ่งคลอรีนเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ คลอรีนเหลว สารประกอบไฮโปคลอไรท์ (Hypochlorite) สารอนินทรีย์คลอรามีน(inorganic chloramine) สารอินทรีย์คลอรามีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(organic chloramine) และสารคลอรีนไดออกไซด์ (Chlorine dioxide) ซึ่งมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน

2.5.3.2 สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม

ใช้ฆ่าเชื้อบนพื้น ผนังโต๊ะและเครื่องมือเครื่องใช้ มีประสิทธิภาพในการแผ่กระจายได้ดี จึงนิยมใช้กับพื้นผิวที่ไม่เรียบมีรูพรุน (Porous surface) ไม่กัดกร่อนโลหะ ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง ไม่มีกลิ่นและรสชาดใดๆ และนำมาเจือจางง่าย นอกจากนี้สารชนิดนี้ยังเป็นสาร wetting agent ด้วยเมื่อใช้ร่วมกับ synthetic surface-active agent และสาร Quats ยังออกฤทธิ์ได้ดีที่ pH เป็นด่าง

สาร Quats ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดี และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีกว่าสาร halogens (สารไอโอดีน คลอรีน และโบรมีน) ด้วยโดยไปยับยั้งการทำงานของเอมไซม์และการยึดเกาะของส่วนต่างๆ ภายในเซลของจุลินทรีย์ โดยสารนี้จะทำให้เกิดแผ่นฟิลม์บางๆ ที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อบนผิวของอุปกรณ์ สาร Quats ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ เพียงแต่ไปยับยั้งการงอก (germinate) ของสปอร์เท่านั้น แต่สาร Quats มีความคงตัวมากกว่าสารคลอรีนหรือไอโอดีน เมื่อมีสิ่งสกปรกที่เป็นสารอินทรีย์ตกค้างอยู่

สาร Quats ที่ประกอบด้วย alkyldimethylbenzyl ammonium chloride และ alkyldimethylbenzyl ammonium chloride สามารถออกฤทธิ์ได้ในน้ำกระด้างที่มีเกลือของแมกนีเซียมและแคลเซียมอยู่ 500-1,000 ppm โดยไม่ต้องเติมสารลดความกระด้าง (sequestrants) แต่ถ้าสารประกอบใน Quats เป็น diisobutylephemnoxy-ethoxyethyl-dimethylbenzyl ammonium chloride กับ methyldidecylbenzyl-trimethyl ammonium chloride จะต้องเติมสารลดความกระด้าง เช่น sodium tripolyphosphate เพื่อลดความกระด้างของน้ำให้เหลือเพียง 500 ppm.

ข้อดีของสาร Quats คือ

1. มีความคงตัวแม้จะมีสิ่งสกปรกที่เป็นสารอินทรีย์ตกค้างอยู่
2. ไม่กัดกร่อนโลหะ
3. มีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง
4. ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง
5. มีประสิทธิภาพดีที่ pH สูง
6. มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสีย คือ

1. **ออกฤทธิ์ได้จำกัด : ไม่สามารถทำลายแบคทีเรียแกรมลบเกือบทั้งหมด โดยเฉพาะเชื้อ** *Salmonella* **และ** *E. coli*

2. **ไม่สามารถใช้ร่วมกับสาร** anionic-wetting agents **ได้ เพราะจะไปลดประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของสาร** Quats

3. **ทำให้เกิดฟิลม์บนพื้นผิวของอุปกรณ์**

2.5.3.3 **สารเคมีเปอร์ซาเนีย** 2505 ® (Perxania 2505 ®) **หรือสารเคมีเปอร์ออกซี่อะซิติค แอซิค** (Peroxyacetic acid) **ที่ผลิตโดยบริษัท** Peroxythai Co., LTD.

Perxania 2505 ® **มีคุณสมบัติเป็น** oxidizing agent **ซึ่งสารละลายผสมที่อยู่ในสภาวะสมดุลกับ** Acetic acid, Hydrogen peroxide **และน้ำ เป็นสารที่มีความปลอดภัยทั้งต่อผู้ใช้ และ สิ่งแวดล้อม เพราะไม่ก่อให้เกิดสารตกค้าง ซึ่งเมื่อเกิดการสลายตัวจะได้น้ำ ออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์**

Perxania 2505® **สามารถปลดปล่อยอนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วไปออกซิไดซ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวกโปรตีน และไขมัน ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ จึงออกฤทธิ์อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง ทั้งต่อเชื้อ** bacteria, virus **และสปอร์ ทั้งยังออกฤทธิ์เร็วกว้างขวางแม้ในสภาวะปนเปื้อนของอินทรีย์วัตถุสูง ปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ซึ่งทำให้** Perxania 2505® **เป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง**

ชื่อสารออกฤทธิ์ Peroxyacetic acid
Hydrogen peroxide
Acetic acid

คุณสมบัติ

Form ..... Liquid, Clear
Color ..... Colorless
Foam ..... None
Odor ..... Acetic acid
Specific Gravity 1.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์

- ออกฤทธิ์เร็ว มีประสิทธิภาพสูง
- ออกฤทธิ์ได้กว้างขวาง ครอบคลุมเชื้อจุลชีพทุกชนิด
- ออกฤทธิ์ได้ดีแม้สภาวะปนเปื้อนของอินทรีย์วัตถุสูง
- ออกฤทธิ์ได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิกว้างหรือความเป็นกรดด่างสูง
- ไม่กัดกร่อนวัสดุอุปกรณ์ที่ขนาดความเข้มข้นที่แนะนำ
- ปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม
- ประหยัดเวลา สะดวกในการใช้ ปลอดภัยสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการทดลอง

3.1. วัตถุดิบ

3.1.1 ขนไก่ : เก็บบริเวณตัวไก่ ขณะอยู่บนราวแขวน ก่อนทำให้สลบ สุ่มวิเคราะห์โดยใช้ ปริมาณ 25 กรัมต่อ 1 ตัวอย่าง (สุ่มจากไก่ 25 ตัว)

3.1.2 อุจจาระไก่ (Faeces) : เก็บโดยใช้ไม้พันสำลี เสียบเข้าไปในช่องทวารไก่ 60 ไม้ Swab (1 ไม้ต่อไก่ 1 ตัว สุ่มจากไก่ 60 ตัว) ใช้กรรไกรตัดเฉพาะส่วนที่เป็นสำลี ใช้น้ำหนัก 25 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.3 น้ำในถังลวกไก่ (Scalder) : เก็บขณะลวกไก่ 500 มิลลิลิตร สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.4 ผิวหนังไก่, ช่องท้องไก่ : เก็บโดยใช้ไม้พันสำลีป้ายบริเวณผิวหนังไก่ และช่องท้องไก่ ป้ายในบริเวณพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร ต่อ 1ไม้ ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.5 ลำไส้ไก่ : เก็บหลังจากล้วงเครื่องใน สุ่มวิเคราะห์ใช้น้ำหนัก 25 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.6 น้ำในถัง Chiller : เก็บในถัง Chiller 1 บริเวณไก่เข้า และ ถัง Chiller 2 บริเวณไก่ออกจากถัง Chiller สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.7 น้ำใช้ในโรงงาน : สุ่มเก็บจุดที่ใช้สำหรับล้างซากไก่ เช่น จุดใช้เติมอ่างลวก, จุดล้างซากหลังถอนขน, จุดล้างซากหลังล้วงเครื่องใน, จุดใช้เติมในถัง Chiller,จุดใช้ล้างเครื่องมือ-อุปกรณ์และจุดล้างมือพนักงาน สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.8 น้ำแข็งใช้ในโรงงาน : เก็บน้ำแข็งก่อนบด, เก็บน้ำแข็งหลังจากผ่านเครื่องบด สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตัวอย่าง (หลังจากน้ำแข็งละลาย)

3.1.9 เครื่องมือ-อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต : เก็บตัวอย่างก่อนนำไปใช้งาน เก็บโดยใช้ไม้พันสำลีป้ายบริเวณพื้นผิวในพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร ต่อ 1 ไม้ ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.10 มือ-ถุงมือพนักงาน : เก็บก่อนปฏิบัติงาน และขณะปฏิบัติงานเก็บโดยใช้ไม้พันสำลีป้ายบริเวณพื้นผิวในพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร ต่อ 1 ไม้ ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.11 เอี๊ยมพนักงาน : เก็บก่อนปฏิบัติงานและขณะปฏิบัติงานเก็บโดยใช้ไม้พันสำลีป้ายบริเวณพื้นผิวในพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร ต่อ 1 ไม้ ต่อ 1 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.12 เนื้อไก่ขณะทำการผลิต : เก็บบนสายพานการผลิตลักษณะแช่เย็น สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.13 เนื้อไก่แช่แข็ง : เก็บหลังจากแช่แข็งแล้ว สุ่มวิเคราะห์ใช้ 25 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง

พื้นที่ที่ใช้ในการ Swab พื้นผิวซากไก่, มือพนักงาน, เครื่องมือและอุปกรณ์ ใช้พื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร (Roberts *et al.*,1983)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (Sodium Hypochlorite) ของบริษัท พี.พี.เอ็ม. เคมิคอล จำกัด

3.2.2 สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม (Quaternary Ammonium Compound) ของบริษัท Ecolab ประเทศไทย จำกัด

3.2.3 เปอร์ซาเนีย 2505® (Perxania 2505®) ของบริษัท พรีมาเทค จำกัด

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 Fraser broth (Oxiod)

3.3.2 Listeria selective agar base oxford agar (Oxiod)

3.3.3 Palcum agar base (Oxiod)

3.3.4 Trytone soya yeast extract agar (TSAYE) (Oxiod)

3.3.5 Trytone soya yeast extract Broth (TSBYE) (Oxiod)

3.3.6 Sheep blood agar (Oxiod)

3.3.7 Fraser supplement (Oxiod)

3.3.8 Half fraser supplement (Oxiod)

3.3.9 Palcam selective supplement (Oxiod)

3.3.10 Listeria selective supplement (Oxiod)

3.3.11 Test kit Microbact 12 L ของบริษัท คลินิคอล ไดแอก นอสติกส์ จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
61171

3.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.4.1 *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 ของบริษัท คลินิคอล ไดแอก นอสติกส์ จำกัด

3.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.5.1 ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 37±1 °C ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 700 ลิตร Model BM 700 Serial No. 890037

3.5.2 ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 30±1 °C ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 400 ลิตร Model B 30 Serial No. 880-922

3.5.3 เครื่องผสมตัวอย่าง (Mixer) ยี่ห้อ Vortex Model G 560 Serial No. 241713

3.5.4 เครื่องชั่งอิเลคทรอนิกส์ (Balance electronic) ยี่ห้อ CHYO ช่วงการใช้งาน 0-500 กรัม Model MK-500 Serial No. 74939

3.5.5 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 70 ลิตร Model W 350T Serial No. 88-0220

3.5.6 เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ Suntex ช่วงการใช้งาน pH 4.0–9.0 Model SP-7 Serial No. 332577

3.5.7 เครื่องปิดผนึก (Sealing) ยี่ห้อ Impulse Sealer Serial No. S FM-300

3.5.8 เครื่อง Computer ยี่ห้อ Philips Serial No. 29 ZM 1 H 2650 ใช้ Solfware Microbact computer ของบริษัท คลินิคอล ไดแอก นอสติกส์ จำกัด

3.6 สถานที่ดำเนินการทดลอง

3.6.1 โรงงานผลิตไก่สดแช่แข็งเพื่อการส่งออก

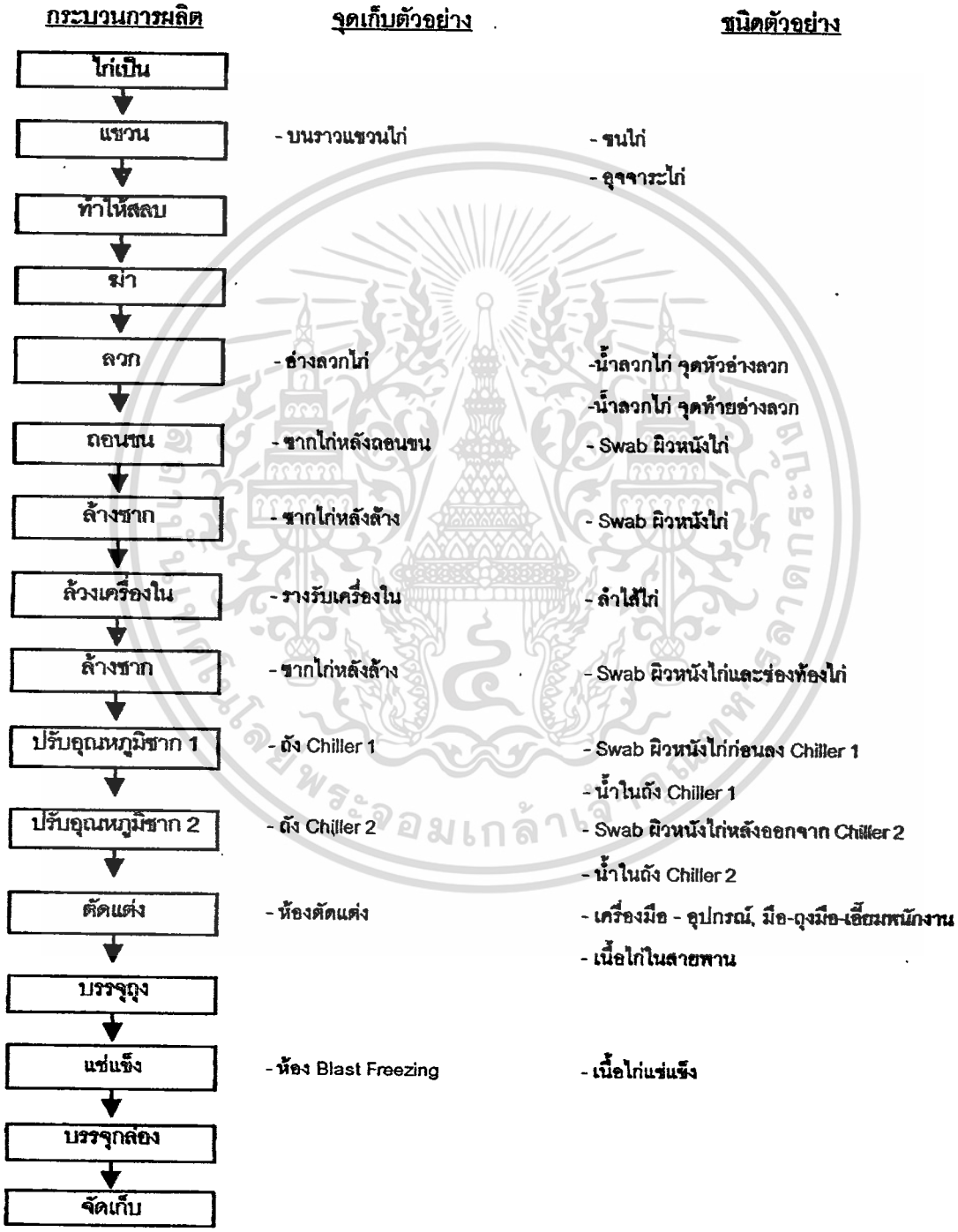
3.6.2 ห้องปฏิบัติการบริษัทศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) 69 หมู่ 4 ถนน วัดกิ่งแก้ว ต.ราชาเทวะ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 วิธีดำเนินการทดลอง

3.7.1 ศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

3.7.1.1 กระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งและจุดเก็บตัวอย่าง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการเก็บตัวอย่าง เก็บจุดละ 2 ตัวอย่างต่อครั้ง เก็บทั้งหมด 15–25 ครั้งต่อจุด โดยจุดที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนมากจะเก็บ 25 ครั้งคือ ขนไก่, อุจจาระไก่, Swab ผิวหนังไก่ห้องถอนขน, ลำไส้ไก่, Swab ผิวหนังไก่ห้องล้วงเครื่องใน, Swab ผิวหนังไก่ห้อง Chiller และเนื้อไก่ ขนไก่ เสี่ยงต่อการปนเปื้อนดินหรืออุจจาระไก่ ขณะอยู่ภายในเล้าและจากการขนส่ง ซึ่งสัมผัสกับสภาพแวดล้อม ขณะเคลื่อนย้าย มือของพนักงานจับไก่ อุจจาระไก่ เสี่ยงต่อเชื้อทางเดินอาหารจำนวนมาก อาจพบการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในอุจจาระไก่ ผิวหนังไก่หลังถอนขน เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อในอ่างลวกหรือเชื้อที่ติดมากับขนไก่ ถ้าน้ำที่ใช้ลวกไก่มีเชื้อปนเปื้อนหรืออุณหภูมิน้ำที่ใช้ลวกไก่ไม่สามารถทำลายเชื้อได้ รวมทั้งการล้างซากหลังถอนขนไม่มีประสิทธิภาพ น้ำที่ใช้ปนเปื้อนเชื้อ ลำไส้ไก่ เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อที่มีอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากลำไส้ไก่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อก่อโรค ผิวหนังไก่ห้องล้วงเครื่องใน เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อหากผิวหนังไก่ปนเปื้อนเชื้อกรณีไส้แตก ถ้าการล้างซากและน้ำที่ใช้ล้างซากไม่มีประสิทธิภาพ ผิวหนังไก่หลังออกจากถัง Chiller เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อถ้าถัง Chiller ล้างไม่สะอาดหรือระบบการฆ่าเชื้อและล้างซากไก่ในถัง Chiller ไม่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งน้ำและน้ำแข็งที่ใช้เติมในถัง Chiller มีเชื้อปนเปื้อน และเนื้อไก่ในกระบวนการผลิต อาจเสี่ยงต่อการปนเปื้อนถ้าภาชนะและอุปกรณ์ที่สัมผัสกับเนื้อไก่ ทำความสะอาดไม่ดี เช่นสายพานรับเนื้อไก่ ปนเปื้อนเชื้อ สภาพแวดล้อม ในการผลิตก่อให้เกิดการปนเปื้อน เช่น ผนัง ฝ้าเพดาน ท่อระบายน้ำซึ่งเป็นแหล่งสะสมของเชื้อที่มักถูกมองข้ามเพราะไม่สัมผัสกับเนื้อไก่ สามารถแพร่กระจายสู่เครื่องมือและเนื้อไก่ได้ ถ้าขาดความระมัดระวังขณะล้างทำความสะอาด

3.7.1.2 นำตัวอย่างจากข้อ 3.7.1.1 มาตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Listeria monocytogenes* ตามวิธีของ ISO 11290 -1:1996 (E) และใช้วิธีการยืนยันผลโดยวิธี Test Kit Microbact 12 L. (Listeria) และแปรผลด้วย Microbact Computer ซึ่งเป็น Software ที่จัดทำโดยเฉพาะสำหรับแปรผลปฏิกิริยา ทาง Biochemical Test ของเชื้อ Listeria ที่มีต่อน้ำตาลแต่ละตัวบน Test Kit Microbact 12 L. (Listeria) นำข้อมูลของ ปฏิกิริยาน้ำตาลแต่ละตัวที่ได้โดยใส่เครื่องหมาย +,- ปฏิกิริยา + คือเมื่อหยดสารละลายเชื้อ *L. monocytogenes* ลงไปใน Test Kit นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C นาน 4 ชั่วโมง เชื้อจะย่อยน้ำตาลและสร้างกรดทำให้สีของ Indicator ในน้ำตาลเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ปฏิกิริยา - คือเชื้อ *L. monocytogenes* ไม่ย่อยน้ำตาลและไม่สร้างกรด ทำให้ Indicator ในน้ำตาลเห็นเป็นสีม่วง ใส่ข้อมูลที่ได้ลงในเครื่อง เครื่องจะทำการแปรผล และแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นเชื้อ *Listeria* spp.ใด จากนั้นสรุปหาเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในแหล่งต่าง ๆ ของกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.2 ศึกษาผลของสารเคมีฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง

ในการศึกษาวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการฆ่าเชื้อ

ปัจจัยที่เป็นความเข้มข้นมี 8 ระดับสำหรับสารเคมี Sodium Hypochlorite และ Perxania 2505 ® ความเข้มข้น 9 ระดับสำหรับสารเคมี Quaternary Ammonium Compound

ปัจจัยที่เป็นเวลามี 4 ระดับคือ 1 นาที, 5 นาที, 10 นาที และ15 นาที โดยมีขั้นตอนในการศึกษาดังนี้

3.7.2.1 เตรียมเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่เพาะเลี้ยงใน TSBYE เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เจือจางเชื้อให้มีความเข้มข้น $1x10^{7}$ cfu / ml

3.7.2.2 เตรียมสารเคมี Sodium Hypochlorite ให้มีความเข้มข้น 0,1, 5, 10, 25, 50,100 และ 200 ppm.

3.7.2.3 เตรียมสารเคมี Quaternary Ammonium Compound ให้มีความเข้มข้น 0,1, 5, 10, 25, 50, 100 ,200 และ 400 ppm.

3.7.2.4 เตรียมสารเคมี Perxania 2505 ® ให้มีความเข้มข้น 0,1, 5, 10, 25, 50, 100 และ 200 ppm.

3.7.2.5 ในการศึกษา การใช้สารเคมีทั้งสามชนิดในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะกำหนดความเข้มข้นเริ่มต้นของสารแต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษา โดยพิจารณาจากคำแนะนำของบริษัทที่จำหน่ายสารเคมี ที่แนะนำให้ใช้เพื่อการฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้นเป็น ppm. โดยในการศึกษาการใช้สารเคมีแต่ละความเข้มข้นในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* นี้ จะศึกษาเปรียบเทียบกับอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TSBYE ที่ไม่มีการเติมสารใด ๆ เป็นหลอดควบคุม (0 ppm.)

3.7.2.6 วิธีการทดลอง ใช้ Pipette ดูดสารเคมีที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด เติมเชื้อเข้มข้น $1x10^{7}$ cfu / ml เติมลงไปในสารเคมีที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ที่เตรียมไว้ เติมหลอดละ 1 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้เชื้อ *L. monocytogenes* เริ่มต้น $1x10^{6}$ cfu / ml ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที, 5 นาที,10 นาที และ 15 นาที ให้สารเคมีทำปฏิกิริยาในการฆ่าเชื้อเพื่อศึกษาผลของสารทั้ง 3 ชนิดที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ pipette ดูดสารละลายที่เติมเชื้อลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไป ในเวลาต่าง ๆ ในแต่ละหลอดใส่ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE ที่หลอมละลายแล้วและมีอุณหภูมิประมาณ 45±5 °C จานละ 10-15 มิลลิลิตร โดยผสมอาหารเลี้ยงเชื้อกับสารละลายตัวอย่างที่ศึกษาให้เข้ากัน ปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว (ประมาณ 5 นาที) นำเข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญในจานเพาะเชื้อ คำนวณเป็น cfu / ml. แล้วบันทึกผล

3.7.2.7 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical การทดลองด้วย ANOVA Package for the Social Science (SPSS) วิเคราะห์ผล

3.7.2.8 นำผลการศึกษาข้อ 3.7.2 ไปศึกษาการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

3.7.3 ศึกษาผลของสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

3.7.3.1 จากการศึกษาในข้อ 3.7.2 เลือกสารเคมีและระยะเวลาการสัมผัส ที่ไม่ยาว ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดมาใช้ในการทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ หรือจุดที่มีปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.7.1

3.7.3.2 ทำการเก็บตัวอย่างโดยเก็บตัวอย่างจากจุดที่พบเชื้อ *L. monocytogenes* จากผลการศึกษาในข้อ 3.7.1 เปรียบเทียบผลระหว่างก่อนที่จะใช้สารเคมีฆ่าเชื้อและภายหลังจากการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ ตามความเข้มข้นและเวลาในการฆ่าเชื้อของสารเคมีแต่ละชนิด ซึ่งเป็นผลจากการศึกษาในข้อ 3.7.2 โดยเปรียบเทียบที่จุดเดียวกัน ในการศึกษาจะตรวจเชื้อบ่งชี้เพิ่มเติมอีก 3 ชนิดคือเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count), เชื้อ MPN *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* spp. (วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ ตามเอกสารภาคผนวก ก) เพื่อจะได้นำผลจากการศึกษาไปประกอบการตัดสินใจ เลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาสัมผัสเพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

จากการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง ณ จุดต่าง ๆ ในกระบวนการผลิต (ตารางที่ 4.1) ทั้งหมด 680 ตัวอย่างพบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.74 % แหล่งที่พบเชื้อ *L. monocytogenes* จากการศึกษาคือ ไก่ที่ออกจากถัง Chiller สุ่มเก็บทั้งหมด 50 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.00 % การพบเชื้อจากผิวหนังไก่ที่ออกจากถัง Chiller สันนิษฐานว่ามาจากการปนเปื้อนเชื้อของถัง Chiller จากการล้างที่ไม่มีประสิทธิภาพ เพราะลักษณะภายในของถัง Chiller มีลักษณะเป็น Screw มีรอยต่อที่ใบพัด ทำให้เกิดการสะสมของเชื้อได้ ถ้าทำความสะอาดไม่ดี รวมทั้งน้ำในถัง Chiller ไม่มีการ Over Flow ตามที่กำหนดหรือ Over Flow เฉพาะน้ำที่ผิวหน้าถัง Chiller ส่วนใต้ถัง Chiller อาจพบว่ามีการสะสมของเชื้ออยู่ใต้ถัง ไก่ที่ถูกล้างและปรับอุณหภูมิชาก จะถูก Screw Chiller พัดกวนไก่ไปใต้ถังด้วย แหล่งที่สองคือน้ำในถัง Chiller จุดที่ไก่ลงถัง Chiller เพื่อปรับอุณหภูมิชาก สุ่มเก็บทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.33 % การพบเชื้อสันนิษฐานว่ามาจากการสะสมของเชื้อในถัง Chiller เนื่องจากภายในถัง Chiller มักมีชิ้นส่วนของเครื่องในไก่ ติดลงไปในถัง Chiller ด้วยเพราะเป็นจุดแรกที่ไก่ลง ถ้าเวลานานขึ้นปริมาณการสะสมจะมากขึ้นด้วย ทำให้เชื้อมีการสะสมและติดปนเปื้อนไปกับซากไก่ที่ลงถัง Chiller จึงทำให้มีการตรวจพบเชื้อ หรือการเติมสารฆ่าเชื้อในน้ำที่อยู่ในถัง Chiller มีประสิทธิภาพน้อยลงเนื่องจากมีเชื้อสะสมปริมาณมากขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อลดลง ซึ่งอาจต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อขึ้นเมื่อใช้เวลาเพิ่มขึ้น แหล่งที่สาม คือ เนื้อไก่บนสายพาน ที่อยู่ระหว่างการผลิต ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 50 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.00 % การพบเชื้อสันนิษฐานว่ามาจาก การปนเปื้อนของไก่ที่ออกจากถัง Chiller หรือไก่สัมผัสกับเครื่องมือ – อุปกรณ์รวมทั้งสายพานที่ปนเปื้อนเชื้อหรือ Roller ใต้สายพาน มีเชื้อสะสมหรือจากการกระเด็น ของน้ำที่พื้นรางระบายน้ำ ปนเปื้อนสู่สายพาน หรือสู่สินค้า ขณะฉีดน้ำล้าง ระหว่างทำการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิต

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่สุ่มตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *L. monocytogenes*	คิดเป็น %
1. ขนไก่	50	0	0
2. Cloacal Swab (อุจจาระไก่)	50	0	0
3. น้ำลวกไก่ จุดไก่ลงถังลวก	30	0	0
4. น้ำลวกไก่ จุดไก่ออกจากถังลวก	30	0	0
5. Swab ผิวหนังไก่ก่อนล้าง หลังถอนขน	50	0	0
6. Swab ผิวหนังไก่หลังล้าง หลังถอนขน	50	0	0
7. ลำไส้ไก่	50	0	0
8. Swab ผิวหนังไก่ หลังล้าง หลังล้างเครื่องใน	50	0	0
9. Swab ผิวหนังไก่ ก่อนเข้าถัง Chiller	50	0	0
10. Swab ผิวหนังไก่ หลังออกถัง Chiller	50	2	4.00%
11. น้ำในถัง Chiller จุดไก่ลง	30	1	3.33%
12. น้ำในถัง Chiller จุดไก่ออก	30	0	0
13. เนื้อไก่ในสายพานการผลิต	50	2	4.00%
14. เนื้อไก่หลังแช่แข็ง	50	0	0
15. น้ำใช้ในกระบวนการผลิต	30	0	0
16. น้ำแข็งที่ใช้ในกระบวนการผลิต	30	0	0
รวม	680	5	0.74%

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างโดยการ Swab เครื่องมือ อุปกรณ์ ชุดทำงานของพนักงานและภาชนะสัมผัส ณ จุดต่าง ๆ ในกระบวนการผลิต (ตารางที่ 4.2) ทั้งหมด 330 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.21 % แหล่งที่พบเชื้อ *L. monocytogenes* คือ Roller ใต้สายพาน สุ่มเก็บทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.0 % สาเหตุการพบเชื้อสันนิษฐานว่ามาจากการที่เศษเนื้อไก่ ไขมันไก่ ติดไปกับสายพาน ไปอยู่ที่ Roller ใต้สายพานแล้วเกิดการสะสม เน่าเสียทำให้มีเชื้อสะสม ปนเปื้อนติดอยู่กับ Roller แหล่งที่สองคือ รางระบายน้ำ สุ่มเก็บ 30 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.33 % รางระบายน้ำเป็นแหล่งสะสมของเชื้อ ที่มักมองข้ามเพราะเป็นแหล่งที่ไม่สัมผัสกับสินค้า และลักษณะของรางระบายน้ำมักมีพื้นผิวที่ไม่เรียบ ทำความสะอาดได้ยาก หลังทำความสะอาดและฆ่าเชื้ออาจมีเชื้อปนเปื้อนหลงเหลืออยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลของการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในเครื่องมือและอุปกรณ์, มือและถุงมือ, เอี๊ยมพนักงานที่ใช้ในกระบวนการผลิตและสภาพแวดล้อม ในพื้นที่ที่ทำการผลิต

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่สุ่มตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *L. monocytogenes*	คิดเป็น %
1. เขียง	30	0	0
2. มีด	30	0	0
3. สายพาน	30	0	0
4. Roller ใต้สายพาน	30	3	10.00%
5. ตะกร้าพลาสติก	30	0	0
6. โต๊ะแสตนเลส	30	0	0
7. รางระบายน้ำ	30	1	3.33%
8. พื้น	30	0	0
9. ผนัง	30	0	0
10. มือ - ถุงมือพนักงาน	30	0	0
11. เอี๊ยมพนักงาน	30	0	0
รวม	330	4	1.21%

จากการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งนี้ ผลพอสรุปได้ว่า พบแหล่งปนเปื้อนเชื้อที่ต้องควบคุม ดังนี้

1. ซากไก่หลังออกจากถัง Chiller (ถังล้างและปรับอุณหภูมิซาก)
2. น้ำในถัง Chiller จุดที่ไก่ลง
3. เนื้อไก่บนสายพานการผลิต
4. Roller ใต้สายพานการผลิต
5. รางระบายน้ำ

โดยการพบเชื้อ *L. monocytogenes* จากไก่ที่ออกจากถัง Chiller เพื่อปรับอุณหภูมิซาก สอดคล้องกับการศึกษาของ FDA (1992) ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3 °C ดังนั้นโอกาสของการตรวจพบเชื้อดังกล่าว ในถังปรับอุณหภูมิต่ำ จึงมีโอกาสค่อนข้างสูง สำหรับการตรวจพบเชื้อ *L. monocytogenes* จากน้ำในถัง Chiller ที่ใช้ล้างและปรับอุณหภูมิซาก สอดคล้องกับการศึกษาของ Ryser และ Marth (1991) ที่ได้ทำการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการผลิตในโรงงานชำแหละไก่งวงและโรงงานชำแหละไก่ พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างน้ำที่ไหลล้นออกจากถังแช่เย็นซากสัตว์

การพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่บนสายพาน สันนิษฐานได้ว่ามาจากไก่ที่ออกจากถัง Chiller ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* หรือจากการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* จาก Roller ใต้สายพานการผลิต ปนเปื้อนสู่สายพานที่ทำการผลิตเนื้อไก่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ryser และ Marth (1991) ที่พบว่าในสภาพแวดล้อมการผลิตไอศครีมในสหภาพยุโรป ที่มีการตรวจสอบสายพานการผลิต พบเชื้อ *Listeria* spp. จำนวน 10^2 *cfu*/g จึงมีความเป็นไปได้ในการพบเชื้อ *L. monocytogenes* บนสายพานการผลิตเนื้อไก่ ถ้าการทำความสะอาดไม่มีประสิทธิภาพ ส่วนการตรวจพบเชื้อ *L. monocytogenes* ที่รางระบายน้ำ ห้องตัดแต่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ryser และ Marth (1991) พบว่ารางระบายน้ำ ของโรงงานผลิตเนื้อในอังกฤษ 41 โรงงาน ปี ค.ศ. 1987 พบเชื้อ *Listeria* spp. ถึง 37 % นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ารางระบายน้ำของโรงงานผลิตอาหารที่ไม่มีฝาครอบจะเป็นแหล่งกระจายเชื้อต่าง ๆ ลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้ถ้าทำการสเปรย์น้ำลงพื้นอย่างแรง (Henning and cutter, 2001)

4.2 ผลการศึกษาสารเคมีในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารเคมี 3 ชนิดคือ โซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และเปอร์ซาเนีย 2505® และเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ในหลอดทดลอง ได้ผลการทดลองดังนี้

4.2.1 สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (Sodium Hypochlorite)

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารเคมี มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นที่สูง มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ (ตารางที่ 4.3) สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 200 ppm. และ 100 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับความเข้มข้น 50 ppm., 25 ppm., 10 ppm.,5 ppm.,และ 1 ppm. สามารถฆ่าเชื้อได้ลดลงตามลำดับของความเข้มข้น เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม ไม่มีการเติมสารเคมีโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (0 ppm.) นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของแต่ละความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้มีผลต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารเคมีที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้ายิ่งใช้เวลานานขึ้น จะยิ่งเพิ่มความสามารถในการฆ่าเชื้อได้ดี โดยจากการทดลองที่ความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ 200 ppm. และ 100 ppm. พบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไปได้ในเวลาเพียง 1 นาที สำหรับสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 50 ppm.และ 25 ppm. ต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนาน 5 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ ในการลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไป ส่วนสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm.และ 5 ppm. สามารถลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ในระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้ลดลงได้ประมาณ 4 log Cycle ในเวลา 5 นาที จากนั้นเชื้อจะมีปริมาณคงที่ที่ระดับ 86.67 cfu/ml และ 78.33 cfu/ml เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาทีและ 15 นาที ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในระดับ 1 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ในช่วงเวลา 1 นาที และ 5 นาที แต่มีผลในการฆ่าเชื้อเพียงเล็กน้อย ที่เวลา 10 นาทีและ 15 นาที

ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เนื่องจากว่า ไฮโปคลอไรท์ (OCl^-) เป็นเกลือโซเดียมหรือแคลเซียมของกรด hypochlorous (HOCl) เมื่ออยู่ในสารละลายเกลือนี้จะแตกตัวออกให้ OCl^- ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดี เกลือไฮโปคลอรัสที่ใช้กันมากได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ซึ่งมีคลอรีนอิสระอยู่ประมาณ 10-14 % และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ซึ่งอยู่ในรูปของผง มีคลอรีนอิสระอยู่ประมาณ 70% ประสิทธิภาพของสารเหล่านี้จะดีที่สุดที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4-5 และมีการกัดกร่อนเพิ่มมากขึ้นที่สุดที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 5 ดังนั้นเวลาใช้จึงต้องเตรียมสารนี้ให้มีความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 10-11 และควบคุมอุณหภูมิต่ำ เนื่องจากอุณหภูมิสูงจะเพิ่มการกัดกร่อน โดยทั่วไปจะใช้ที่ความเข้มข้นประมาณ 50-200 ppm (ศิวาพร, 2536)

ปฏิกิริยาคลอรีนในน้ำ คลอรีนที่ใส่ในน้ำจะเกิดปฏิกิริยาดังนี้ คือ

- Chlorine Demand คือจำนวนคลอรีนที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับสิ่งต่าง ๆ ในน้ำทั้งหมด เช่น แบคทีเรีย Organic & Inorganic matters เป็นต้น

- Residual chlorine คือคลอรีนที่เหลือจากการทำลายเชื้อโรคในน้ำมี 2 ชนิด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. Free available chlorine ได้แก่ HOCL และ OCl^- คลอรีนเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะได้ดังสมการ

$Cl_2 + HO_2 \longrightarrow HCl + HOCl$

HOCl จะสลายตัว ดังนี้ คือ

$HOCl \longrightarrow OCl^- + H^+$

HOCl จะสลายตัวมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ pH ของน้ำ จากการทดลองพบว่า

ที่ pH 7.00 จะเกิด H^+ และ OCl^- เท่านั้น

ที่ pH ต่ำกว่า 7.00 จะเกิด H^+ มากกว่า OCl^-

ที่ pH สูงกว่า 7.00 จะเกิด H^+ น้อยกว่า OCl^-

ที่ pH 9.5 จะเกิด OCl^- เกือบหมด

ข. Combined available chlorine หรือ Chloramine คือ คลอรีนที่ใส่ลงในน้ำแล้วไปรวมกับแอมโมเนีย หรือสารอินทรีย์ของสารประกอบไนโตรเจน เกิดเป็น Mono chloramine (NH_2Cl) Di chloramine ($NHCl_2$) หรือ Tri Chloramine ($NHCl_3$)

H^+ และ OCl^- มีคุณสมบัติในการทำลายแบคทีเรียในน้ำ แต่ H^+ ทำลายได้ดีกว่า OCl^-

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1×10^6 cfu/ml

ความเข้มข้นของสารเคมี (ppm.)	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)				
	0 นาที	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
0	$1x10^{6a}$	$1.13x10^{6b}$	$1.33x10^{6b}$	$1.53x10^{6b}$	$2.57x10^{6b}$
1	$1x10^{6a}$	$1.27x10^{6b}$	$1.17x10^{6b}$	$9.47x10^{5b}$	$8.33x10^{5b}$
5	$1x10^{6a}$	$8.1x10^{5b}$	97.67^{ab}	86.67^{ab}	78.33^{ab}
10	$1x10^{6a}$	$4.67x10^{5b}$	4.33^{ab}	3.33^{ab}	2.33^{ab}
25	$1x10^{6a}$	$2.3x10^{4ab}$	0.3^{a}	0^{a}	0^{a}
50	$1x10^{6a}$	231.67^{ab}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
100	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
200	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}

* ตัวอักษร ^{a,b} ที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอรีนและสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน มีกลไกการทำลายจุลินทรีย์ ดังนี้ (บุษกร ,2536; ปิยาณี ,2542)

1) ส่วนห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ได้แก่ ผนังเซลล์ (cell wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell menbrane) เยื่อหุ้มสปอร์ (spore coat)

Bryan และคณะ (1979) เสนอว่า คลอรีนจะมีผลต่อการทำลายผนังเซลล์ หรือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แบ่งตัวผิดปกติ

Baker (1926) ได้สรุปว่า คลอรีนสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยสร้างสารประกอบคลอรีน (N-chloro compounds) ซึ่งรบกวนเมตาบอลิสม (metabolism) ของเซลล์

Rudolph และ Levine (1941) กล่าวว่าคลอรีนมีความสามารถซึมเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อสร้างสารพิษในโปรโตพลาสม ได้แก่ สารประกอบไนโตรคลอโร (N-chloro compounds)

Cheremisinoff และ Trattner (1981) เสนอว่าคลอรีนจะทำให้ผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพจนไม่สามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของสารได้ ทำให้กรดไฮโปคลอรัสสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ และเข้าทำปฏิกิริยาต่อส่วนอื่นๆของเซลล์ได้

Campers และ McFerters (1979) รายงานว่าเมื่อใดที่เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ทำให้ไม่สามารถรับอาหารได้ เช่น คาร์โบไฮเดรท กรดอะมิโนที่จำเป็นในการดำรงชีพ เข้าไปในเซลล์ได้ ทำให้เซลล์ขาดอาหาร ตาย หรือชะงักการเจริญเติบโต และหากคลอรีนทำลายเยื่อหุ้มสปอร์ทำให้สปอร์ถูกทำลายได้โดยง่ายโดยความร้อนหรือสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ

2) ส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์หรือโปรโตพลาสม (protoplasm) พบว่าคลอรีนจะไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) กับโปรโตพลาสมของเซลล์ โดยจะตกตะกอนส่วนที่เป็นโปรตีนของเซลล์ และทำปฏิกิริยากับส่วนที่เป็นซัลไฮดริล (sulfhydryl radical) ของโปรตีนเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ (irreversible product) จึงรบกวนการทำงานของเซลล์ (Bryan และคณะ ,1979)

3) ส่วนที่เป็นเอนไซม์ และการทำงานของเอนไซม์

Bryan และคณะ (1979) พบว่าระบบการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อเมตาบอลิสมของเซลล์ จะถูกรบกวนทำให้ไม่สามารถทำงานได้อย่างปรกติ และคลอรีนยังสามารถทำลายเอนไซม์ได้โดยตรง

Knox และคณะ (1948) สนันสนุนการยับยั้งเอนไซม์เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของคลอรีนและกลุ่ม sulfhydry ของเอนไซม์ ต่อมา Green และ Stumpf (1946) ได้ยืนยันว่าคลอรีนมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทบาทในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดภายในเซลล์ โดยคลอรีนจะไปมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของกลูโคส ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำกลูโคสไปใช้ได้ เซลล์จุลินทรีย์จึงขาดอาหารและตายลงในที่สุด (Wei และคณะ ,1985 ; บุษกร, 2536 ; สุภัทราพร, 2536 ; รุ่งทิวา, 2541)

คลอรีนจะไปทำลายทั้งเอนไซม์และระบบการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน จึงถูกคลอรีนเข้าไปเปลี่ยนโครงสร้าง และทำให้การรวมตัว (coagulase) ของโปรตีนเสียไป (Bryan และคณะ,1979) มีเอนไซม์หลายชนิดที่ถูกทำลายด้วยคลอรีน ได้แก่ triosephosphate dehydrogenase, glucose oxidase, d-amino acid oxidase, transaminase, succinic oxidase เป็นต้น (Cheremisinoff และ Trattner, 1981) เอนไซม์ที่ไวต่อการทำลายของคลอรีนส่วนมากเป็นเอนไซม์กลุ่มซัลไฮดริล ส่วนเอนไซม์ที่ไม่ใช่กลุ่มนี้ เช่น คะตะเลส (catalase) แม้การทำงานของเอนไซม์จะไม่ถูกรบกวนโดยคลอรีน แต่การรบกวนเอนไซม์และระบบเอนไซม์ของคลอรีนนี้มีผลต่อการเกิดออกซิเดชั่นของกลูโคส (glucose oxidation) ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำกลูโคสมาใช้ทำให้เซลล์ขาดอาหารและทำให้เสียชีวิตลงได้

Wyatt และ Waites (1975) พบว่าคลอรีนมีผลต่อกลไกการงอกของสปอร์ ทำให้อัตราการงอกของสปอร์ลดลง คลอรีนอาจมีผลต่อรูปร่างลักษณะ (morphological) ของจุลินทรีย์ เนื่องจากคลอรีนเกิดปฏิกิริยากับกรดนิวคลีอิก (Campers และ McFeters, 1979) และสารพิวรีนไพริมิดีน เกิดการขัดขวางการใช้ออกซิเจน ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน และทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของโปรตีน

สารไฮโปคลอไรท์เป็นสารที่มีประจุลบ จึงไม่ควรใช้ร่วมกับสารชะล้างหรือสารทำความสะอาดที่มีประจุบวก นอกจากนี้ยังไม่ควรผสมไฮโปคลอไรท์ในสารทำความสะอาดที่มีฤทธิ์เป็นกรด เพราะจะทำให้เกิดก๊าซคลอรีน ซึ่งเป็นอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจของผู้ปฏิบัติงาน เมื่อสูดดมเข้าไป

จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Larson และคณะ (1999) ซึ่งได้ทำการศึกษาโดยเติมสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ 100 ppm. ลงในน้ำเกลือที่ใช้สำหรับจุ่ม Cheese ที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* อยู่ซึ่งพบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อนำตัวอย่าง Cheese ไปทำการบ่มและตรวจหาเชื้อ และจากการศึกษา Ukuku และคณะ (2004) ได้ทำการทดลองโดยจุ่มผลไม้จำพวกแตงและแคนตาลูป ลงในสารละลายที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* 10^7 cfu/ml โดยใช้เวลาในการจุ่มนาน 10 นาที แล้วทำให้แห้งใน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำผลไม้ดังกล่าว ไปจุ่มในสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 200 ppm. พบว่าสารเคมี

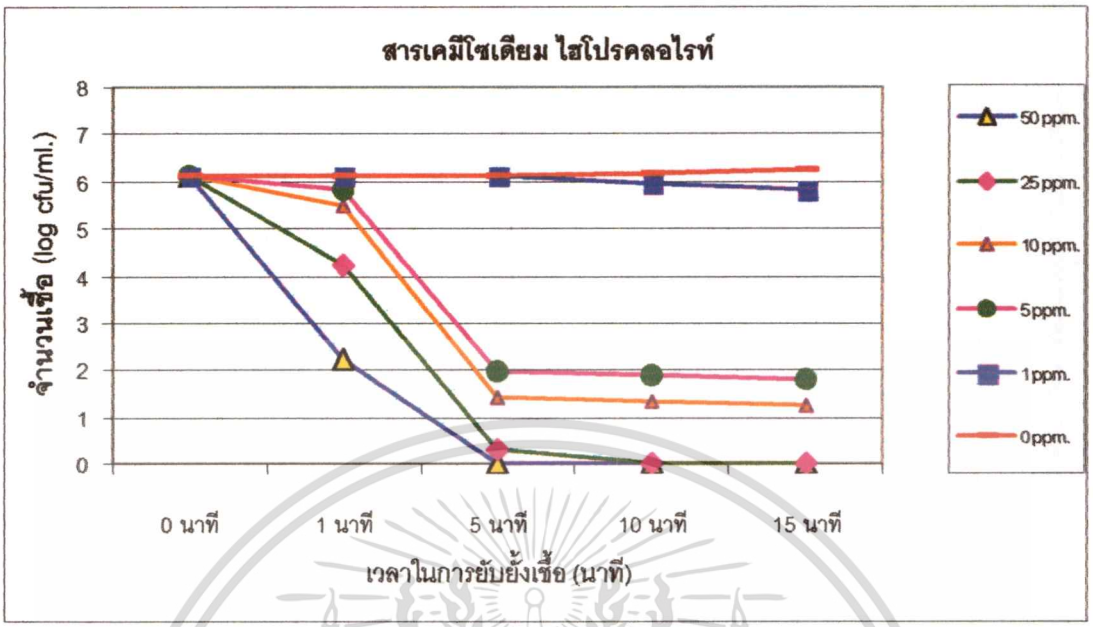
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ สามารถทำลายเชื้อ *L .monocytogenes* ที่พื้นผิวของผลไม้ได้ โดยเมื่อนำผลไม้ไปผ่า แล้วกรองเอาเฉพาะน้ำผลไม้ ไปตรวจ หาเชื้อ *L. monocytogenes* ปรากฏว่าไม่พบเชื้อดังกล่าว การศึกษาของ Gonzalez และคณะ (2004) พบว่าสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในโรงงาน ซึ่งมีคุณภาพและปลอดภัยต่อการผลิต สารเคมีจะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 200 ppm. จะลดเชื้อได้มากกว่า 5.25 log cfu ถ้าความเข้มข้นต่ำลง ประสิทธิภาพการลดเชื้อจะน้อยตามไปด้วย ดังนั้น FDA (1988) จึงได้ให้คำแนะนำในการควบคุมเชื้อ *L. monocytogenes* ในสภาพแวดล้อมของการผลิตในโรงงานผลิตนม ด้วยการใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อเครื่องมือและอุปกรณ์ โดยแนะนำให้ใช้ที่ความเข้มข้น 100 – 200 ppm. ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุด

จากภาพที่ 4.1 ผลการศึกษาพบว่าสารฆ่าเชื้อโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 ที่มีความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml. คือสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที มีความสามารถในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองได้ โดยไม่พบเชื้อ รองลงมาคือสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาที เป็นต้นไป

จากผลการศึกษาดังกล่าวจึงเลือกใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไปทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งที่ได้จากการศึกษาข้อ 4.1 โดยนำสารฆ่าเชื้อโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ไปใช้ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวภายในถัง Chiller หลังจากทำความสะอาดแล้ว เนื่องจากโดยปกติแล้ว ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง ถัง Chiller จะมีการเติมน้ำเย็นที่มีสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ผสมอยู่ 20 ppm.เพื่อล้างซากและปรับอุณหภูมิซาก การใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ จึงไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิต เมื่อนำไปใช้ที่พื้นผิวถัง Chiller ในการศึกษาเพื่อให้การเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้สารเคมีและหลังใช้สารเคมี เห็นผลชัดเจนขึ้น นอกจากเปรียบเทียบผลก่อนและหลังใช้สารเคมียับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* แล้ว ยังทำการตรวจเชื้อบ่งชี้เพิ่มเติมอีก 3 ชนิดคือ เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count), เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* spp. เพื่อจะได้นำผลจากการศึกษาไปประกอบการตัดสินใจ เลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการฆ่าเชื้อ ควบคุมเชื้อก่อโรคชนิดอื่นอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ประสิทธิภาพของสารเคมี โซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น และเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อ ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง

4.2.2 สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม (Quaternary Ammonium Compound)

การศึกษาสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารเคมีมีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นสูง มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ (ตารางที่ 4.4) สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ความเข้มข้น 400 ppm., 200 ppm., 100 ppm.และ 50 ppm. สามารถลดเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองที่ระดับ 1x10^6 cfu/ml ได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากใช้เวลา 1 นาที ในขณะที่ความเข้มข้น 25 ppm. ต้องใช้เวลาในการลดเชื้อ 10 นาที จึงไม่พบเชื้อ ความเข้มข้น 10 ppm., 5 ppm.,และ 1 ppm. สามารถฆ่าเชื้อได้ลดลงตามลำดับของความเข้มข้น เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (ความเข้มข้น 0 ppm. ไม่มีการเติมสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม) นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของแต่ละความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้มีผลต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารเคมีที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้ายิ่งใช้เวลานานขึ้น จะยิ่งเพิ่มความสามารถในการฆ่าเชื้อได้ดี โดยจากการศึกษาที่ความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม 400 ppm., 200 ppm., 100 ppm.และ 50 ppm. พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไปได้ในเวลาเพียง 1 นาที สำหรับสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้น 25 ppm. พบว่าสามารถลดเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ 10^7 cfu/ml ให้หมดไปได้ในเวลา 10 นาที และที่ความเข้มข้น 10 ppm., 5 ppm.และ 1 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไปได้ในเวลา 1 นาที, 5 นาที, 10 นาทีและ 15 นาที แต่พบว่าจำนวนของเชื้อลดลงเมื่อใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนานขึ้น เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (ความเข้มข้น 0 ppm.) ที่ไม่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ

คุณสมบัติและกลไกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม มีดังนี้

สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม หรือ เรียกว่า QUATS หรือ QACS มีสูตรทั่วไปดังนี้ คือ

R เป็นโมเลกุลของสารอินทรีย์ หรือ phenyl groups ส่วน X เป็นอิออน เช่น Cl, Br, acetate เป็นต้น

สารประกอบในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวกด้วย (Cationic Surfactant) ความสามารถในการลดแรงตึงผิวขึ้นอยู่กับปริมาณการทดแทนประจุไฮโดรเจน (Hydrogen ; H^+) ในกลุ่มแอมโมเนีย (Ammonium Group ; NH_4^-) สารประกอบกลุ่มนี้มีหลายตัวที่มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งประเภทแกรมบวกและแกรมลบได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบในกลุ่มนี้ ทั้งที่เป็นแบบฆ่าเชื้อ (Bacteriocidal) และหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อ (Bacteriostatic) ใช้ล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อบนพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติงาน เครื่องจักรและอุปกรณ์ต่างๆ ได้ดี สามารถแทรกซึมผ่านพื้นผิวที่มีรูพรุนได้ นอกจากนี้เมื่อใช้สารประเภทนี้แล้วยังจะมีการตกค้างเหลือเป็นฟิล์มของสารนี้บนพื้นผิว ทำให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนพื้นผิวได้นานด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของ QUATS จะน้อยกว่าสาร halogens แต่ก็มีการกัดกร่อนและเป็นพิษน้อยกว่า ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง ไม่มีกลิ่นและรสชาติใด ๆ นอกจากนี้ยังมีความคงตัวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง pH และมีสิ่งสกปรกตกค้าง สารนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอย่างช้า ไม่เป็นสารออกซิไดซ์(Oxidixing Agent) ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell Menbrane) และโปรตีนต่างๆ ในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้โปรตีนจับตัวเป็นก้อน รวมทั้งเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์รั่วและแตก จึงนิยมในการแช่อุปกรณ์ค้างคืน โดยมีผลกับแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ นิยมใช้ฆ่าเชื้อบนพื้น ผนัง เครื่องมือ รวมทั้งผิวที่มีรูพรุน (porous surface) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติของ wetting agent ด้วย แต่ไม่ควรใช้กับผิวของภาชนะที่สัมผัสกับอาหารเพราะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อน้อย คุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ถูกทำลายได้ด้วยสิ่งสกปรกที่เป็นสารอินทรีย์ (Organic Soils) และสารชะล้างที่มีประจุลบ (Anionic Detergent) QUATS ที่ประกอบไปด้วยสาร alkyldimethylbenzyl-ammonium chloride และ alkyldimethylethybenzyl-ammonium chloride สามารถออกฤทธิ์ได้ในน้ำกระด้างที่มีเกลือของแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่ 500-1000 ppm โดยไม่ต้องเติมสารลดความกระด้างแต่ถ้าเป็น diisobutylephenoxyethoxyethydimethylbenzyl-ammonium chloride กับ methyl-didecylbenzyl-trimethylammonium chloride จะต้องเติมสารลดความกระด้าง ได้แก่ sodium tripolyphosphate เพื่อลดความกระด้างของน้ำให้เหลือเพียง 500 ppm

สารละลาย QUATS เป็นสาร non-toxic ไม่ระเหย ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาต่อระบบการหายใจ โดยใช้ในระดับความเข้มข้นที่กำหนด กรณีที่ใช้ความเข้มข้นมากขึ้น จะพบปัญหาเรื่องการเกิดฟองและเป็นเมือก ส่วนเรื่องการกัดกร่อนพบว่าสารละลาย QUATS จะมีผลต่อการกัดกร่อนวัสดุประเภท เหล็ก เหล็กชุบ และสแตนเลส บ้างเล็กน้อย แต่จะมีผลต่อการกัดกร่อนน้อยมากเมื่อใช้ในระยะเวลาการสัมผัสที่เหมาะสม ไม่กัดกร่อนวัสดุประเภท พลาสติก ยาง ไม้ และสี หากจำเป็นต้องใช้สารละลาย QUATS ในการแช่อุปกรณ์ควรเติมโซเดียมคาร์โบเนตหรือโซเดียมไนไตรท์ 5 กรัมต่อลิตร เพื่อป้องกันการกัดกร่อนของสารละลาย QUATS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $1x10^6$ cfu/ml

ความเข้มข้นของสารเคมี (ppm.)	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)				
	0 นาที	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
0	$1x10^{6a}$	$1.13x10^{6b}$	$1.33x10^{6b}$	$1.53x10^{6b}$	$2.57x10^{6b}$
1	$1x10^{6a}$	$1.5x10^{5b}$	147^{ab}	137.67^{ab}	126^{ab}
5	$1x10^{6a}$	$1.7x10^{4ab}$	82.67^{ab}	76^{ab}	66.33^{ab}
10	$1x10^{6a}$	188^{ab}	41.33^{ab}	14.33^{ab}	10.67^{ab}
25	$1x10^{6a}$	11^{ab}	0.67^{a}	0^{a}	0^{a}
50	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
100	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
200	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
400	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}

* ตัวอักษร ^{a,b} ที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

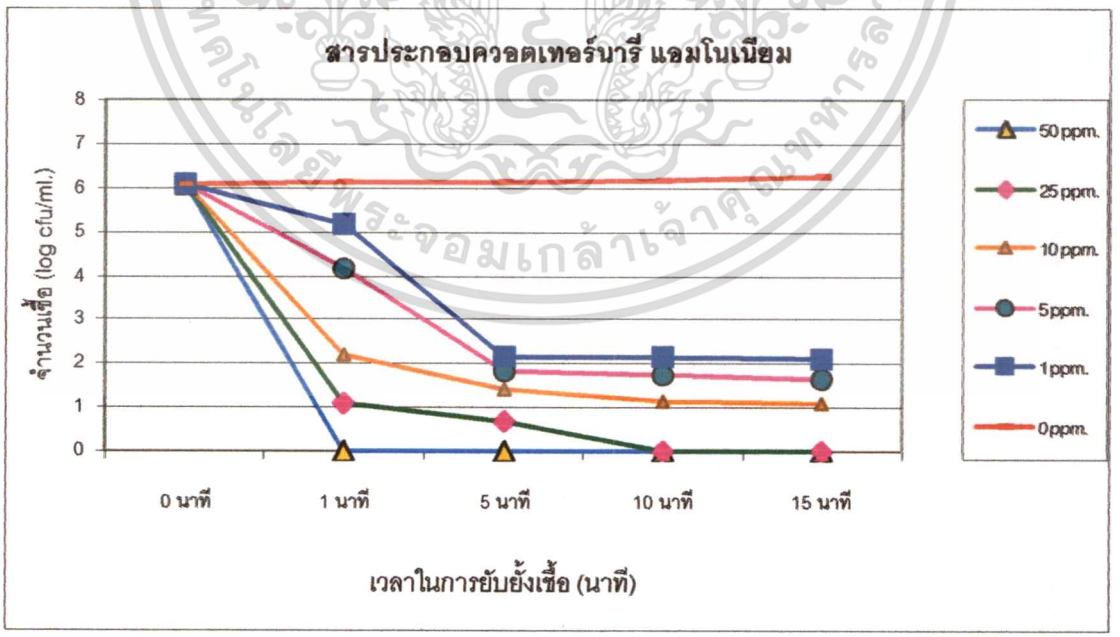
จากการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Fatemi และ Frank (1999) ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ผลการศึกษาพบว่าสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม มีประสิทธิภาพสูงสุด ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่พื้นผิวของตัวอย่าง ทำให้เชื้อ *L. monocytogenes* log 7 cfu/g ที่เคลือบบนผิวของตัวอย่าง ไม่สามารถเจริญได้ และการศึกษาของ Roy และคณะ (1993) พบว่าสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 20 ppm.สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ความเข้มข้น 3.8 x 10^2 cfu/ml ได้ ถ้าปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้น ควรใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50 ppm. ในการลดปริมาณของเชื้อ *L. monocytogenes*

จากภาพที่ 4.2 ผลการศึกษาพบว่าสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6744 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ รองลงมาคือสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 1 นาที เป็นต้นไป

จากผลการศึกษาดังกล่าวจึงเลือกใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียมที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไปทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งที่ได้จากการศึกษาข้อ4.1 โดยนำสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ไปใช้ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน เนื่องจากในการฆ่าเชื้อเครื่องมือและอุปกรณ์ การใช้สารฆ่าเชื้อที่มีลักษณะเป็นโฟม (สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม) ในการฆ่าเชื้อมีความสะดวก รวดเร็ว ต่อการปฏิบัติงาน มีประสิทธิภาพในการแผ่กระจายได้ดี ไม่กัดกร่อนโลหะ ไม่ระคายเคืองผิวหนังของผู้ใช้ ไม่มีกลิ่นและรสชาติใด ๆ ที่จะมีผลต่อสินค้า นอกจากนี้ยังเป็นสาร Wetting agent ที่ไปลดแรงตึงผิวของน้ำหรือสารทำความสะอาด ซึ่งทำให้สารทำความสะอาดสามารถสัมผัสกับผิวของอุปกรณ์และผ่านเข้าไปในสิ่งสกปรกที่เกาะติดอยู่ได้ ในการศึกษาเพื่อให้การเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้สารเคมีและหลังใช้สารเคมี เห็นผลชัดเจนขึ้น นอกจากเปรียบเทียบผลก่อนและหลังใช้สารเคมียับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* แล้ว ยังทำการตรวจเชื้อบ่งชี้เพิ่มเติมอีก 3 ชนิดคือ เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count), เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* spp. เพื่อจะได้นำผลจากการศึกษาไปประกอบการตัดสินใจ เลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการฆ่าเชื้อ ควบคุมเชื้อก่อโรคชนิดอื่นอีกด้วย



ภาพที่ 4.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นและเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อ ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® (Perxania 2505 ®)

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารเคมี มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นที่สูง มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ (ตารางที่ 4.5) สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ความเข้มข้น 200 ppm. และ 100 ppm. สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในหลอดทดลองได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้น 50 ppm., 25 ppm., 10 ppm.,5 ppm.,และ 1 ppm. สามารถยับยั้งเชื้อได้ลดลงตามลำดับของความเข้มข้น เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (ความเข้มข้น 0 ppm. ไม่มีการเติมสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ®) นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของแต่ละความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้มีผลต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อ *L. monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารเคมีที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้ายิ่งใช้เวลานานขึ้น จะยิ่งเพิ่มความสามารถในการฆ่าเชื้อได้ดี โดยจากการทดลองที่ความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® 200 ppm.และ 100 ppm. พบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไปได้ในเวลาเพียง 1 นาที สำหรับสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ที่ความเข้มข้น 50 ppm.และ 25 ppm. ต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนาน 5 นาที ในการลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* $1x10^6$ cfu/ml ให้หมดไป ส่วนสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm. ต้องใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนาน 10 นาที ในการลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* $1x10^6$cfu/ml ให้หมดไปที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm. สามารถลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ในระดับ $1x10^6$ cfu/ml ให้ลดลงได้ประมาณ 4 log Cycle ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที จากนั้นเชื้อจะมีปริมาณลดลงเหลือ 93 cfu/ml เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที ส่วนความเข้มข้นสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ในระดับ 1 ppm. มีผลในการฆ่าเชื้อเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (0 ppm.ที่ไม่มีการเติมสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505®)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 7644 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $1x10^6$ cfu/ml

ความเข้มข้นของสารเคมี (ppm.)	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)				
	0 นาที	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
0	$1x10^{6a}$	$1.13x10^{6b}$	$1.33x10^{6b}$	$1.57x10^{6b}$	$2.57x10^{6b}$
1	$1x10^{6a}$	$8.3x10^{5b}$	$7.77x10^{5b}$	$6.33x10^{5b}$	$5.4x10^{5b}$
5	$1x10^{6a}$	$5.87x10^{5b}$	156.67^{ab}	102.67^{ab}	93^{ab}
10	$1x10^{6a}$	$5.47x10^{4ab}$	0.67^{a}	0^{a}	0^{a}
25	$1x10^{6a}$	$4.27x10^{4ab}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}
50	$1x10^{6a}$	41.66^{ab}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
100	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
200	$1x10^{6a}$	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}

* ตัวอักษร ^{ab} ที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® เป็นสารฆ่าเชื้อที่ปลอดภัยและออกฤทธิ์ได้ดี มีส่วนผสมของกรดชนิดต่าง ๆ กรดที่นิยมใช้ได้แก่ Acetic acid, Propionic acid, Formic acid, Sulfamic acid และ Phosphoric acid และกรดเปอร์อะซิติค (Peracetic acid) รวมกับสารลดแรงตึงผิวประจุลบ (Anionic Surfactant) นิยมใช้ในขั้นตอนการล้างน้ำ (rinsing) และการฆ่าเชื้อ (sanitizing) กรดเหล่านี้จะไปทำให้ด่างที่ตกค้างจากการทำความสะอาดเกิดความเป็นกลาง ซึ่งป้องกันการเกิดคราบของด่างและสารฆ่าเชื้อ กลไกการทำลายเชื้อของสารดังกล่าวนี้เกิดจากกรดชนิดต่าง ๆ ที่มีอยู่ จะออกฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ทั้ง spoilage และ pathogens โดยกรดต่าง ๆ สามารถปลดปล่อยอนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วไปออกซิไดซ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจำพวกโปรตีน และไขมัน ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ จึงออกฤทธิ์อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง ทั้งต่อเชื้อ bacteria, virus และสปอร์ ทั้งยังออกฤทธิ์เร็วกว้างขวางแม้ในสภาวะปนเปื้อนของอินทรีย์วัตถุสูง มีประสิทธิภาพในการฆ่าทำลายเชื้อ *Salmonellae* และเชื้อ *Listeria* ได้ดี (Marriott, 1999)

สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ใช้ได้ดีกับพื้นผิวของอุปกรณ์ที่เป็นเหล็กปลอดสนิม หรือบนพื้นผิวที่ต้องใช้เวลาในการสัมผัสนาน โดยเฉพาะในการล้างแบบ CIP นิยมใช้ acid sanitizer ใน

เอกสารนี้ได้รับการคุ้มครองลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การล้างครั้งสุดท้าย และสามารถปล่อยให้สารละลายของการล้างครั้งสุดท้ายค้างคืนอยู่ในเครื่องเพื่อป้องกันการปนเปื้อนโดยไม่เกิดการกัดกร่อนโลหะและไม่ทำให้เกิดคราบตะกรัน

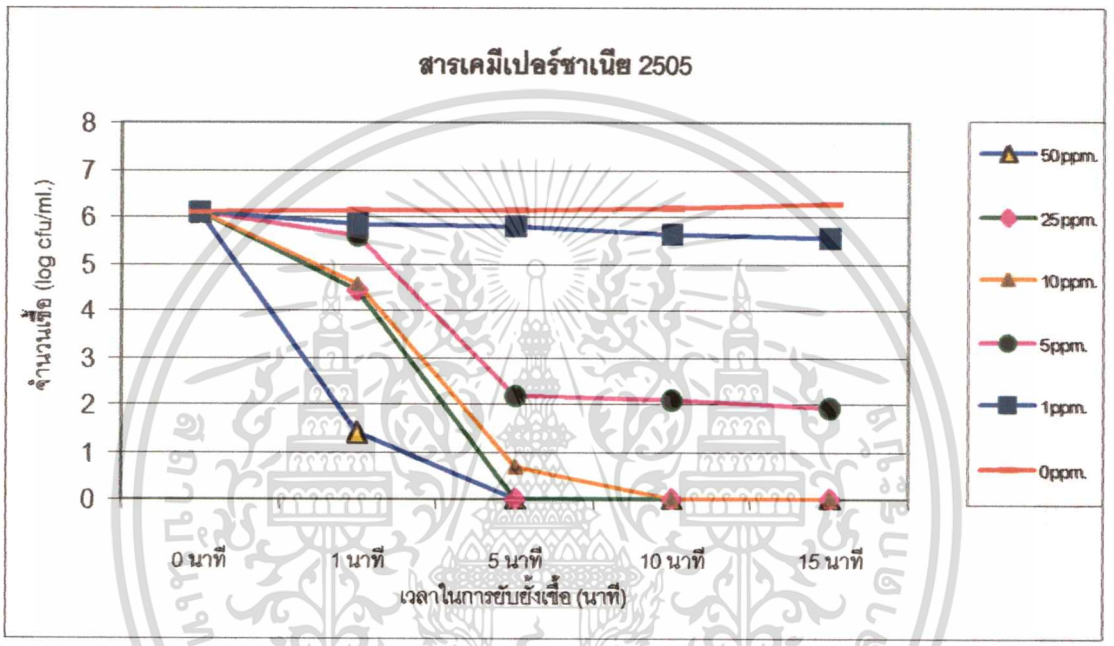
จากการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Krysinski และคณะ (1992) พบว่าสารออกฤทธิ์ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ มีประสิทธิภาพสูงในการลดเชื้อ *L. monocytogenes* ที่พื้นผิวของแสตนเลส หลังจากทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยสารออกฤทธิ์ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ และจากการศึกษาของ Chantarapanont และคณะ (2004) พบว่าสารละลายเปอร์อะซิติค แอสิค (Peracetic acid) ที่ความเข้มข้น 100 ppm. สามารถฆ่าเชื้อที่ผิวของหนังไก่ได้ เมื่อนำไก่ที่มีเชื้อจุ่มลงในสารละลายเปอร์อะซิติค แอสิค สารละลายเปอร์อะซิติค แอสิคจะฆ่าเชื้อที่ผิวหนังไก่ ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรีย ที่ผิวหนังไก่เลย และจากการศึกษาของ Nascimento และคณะ (2003) พบว่าการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายอะซิติค แอสิค (Acetic acid) ที่ 2 % จะทำให้เชื้อ aerobic mesophillic count ลดลงมากกว่า 0.20 – 2.32 log 10 cfu/g ถ้าความเข้มข้น 4 % ทำให้เชื้อลดลงมากกว่า 0.26 – 3.53 log 10 cfu/g และจากการศึกษาของ Schiff (1998) พบว่าสารละลายเปอร์ออกซีซิติค แอสิค (Peroxyacetic acid) ซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ Peracetic acid, Hydrogen peroxide และ Acetic acid มีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อใช้ความเข้มข้นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและสปอร์ของเชื้อบนเครื่องมือและอุปกรณ์ ที่ความเข้มข้น 150 - 200 ppm. ถ้าใช้ความเข้มข้นต่ำกว่านี้การยับยั้งเชื้อ จะมีประสิทธิภาพต่ำลง

จากภาพที่ 4.3 ผลการศึกษาพบว่าสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น $1x10^6$ cfu/ml. ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ คือที่ความเข้มข้น 10 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาทีเป็นต้นไป ต่อมาคือความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาที เป็นต้นไป และที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาที เป็นต้นไป

จากผลการศึกษาดังกล่าว เลือกใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวรางระบายน้ำ จึงไม่เลือกใช้ความเข้มข้นที่ 10 ppm. ไปใช้ในการฆ่าเชื้อเพราะจุดที่จะนำสารเคมีไปใช้ในการฆ่าเชื้อ เป็นรางระบายน้ำ ที่มีพื้นผิวสัมผัสไม่เรียบ และมีน้ำจากกระบวนการผลิตไหลผ่านตลอดเวลา ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของเชื้อ ปริมาณเชื้อควรจะมีมากกว่าจุดอื่น จึงเลือกใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไปทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในแหล่งที่พบการปนเปื้อนตามข้อ 4.1 เหตุผลที่เลือกใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® กับรางระบายน้ำเพราะสารเคมีดังกล่าวมีกลิ่นฉุน ซึ่งเป็นกลิ่นของกรด Acetic acid ถ้าสัมผัสกับสินค้ากลิ่นจะติดไปกับสินค้าได้ ในการศึกษาเพื่อให้การเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีและหลังใช้สารเคมี เห็นผลชัดเจนขึ้น นอกจากเปรียบเทียบผลก่อนและหลังใช้สารเคมียับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* แล้ว ยังทำการตรวจเชื้อบ่งชี้เพิ่มเติมอีก 3 ชนิดคือ เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count), เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* spp. เพื่อจะได้นำผลจากการศึกษาไปประกอบการตัดสินใจ เลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการฆ่าเชื้อควบคุมเชื้อก่อโรคชนิดอื่นควบคู่ไปด้วย



ภาพที่ 4.3 : แสดงประสิทธิภาพของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้นและเวลาที่สัมผัสที่สารฆ่าเชื้อ ที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ATCC 6744 1x10^6 cfu/ml. ในหลอดทดลอง

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ของสารเคมีทั้ง 3 ชนิดคือ โซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และเปอร์ซาเนีย 2505 ® ในหลอดทดลอง พบว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm. สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* 1x 10^6 cfu/ml ได้หมดโดยไม่พบเชื้อ ที่เวลา 10 นาที จึงเลือกที่จะใช้ความเข้มข้นดังกล่าว ไปทำการศึกษาการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งในจุดที่พบปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ ในข้อ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี แอมโมเนียม และเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง

4.3.1 ผลการศึกษาสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในถัง Chiller

จากการศึกษาเมื่อนำสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ไปใช้ในการฆ่าเชื้อในพื้นผิวถัง Chiller ที่มีปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ โดยใช้สารเคมีที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที เนื่องจากความเข้มข้นและเวลาดังกล่าว สามารถฆ่าเชื้อ *L.monocytogenes* ในการทดลองในห้องปฏิบัติการได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ ผลจากการศึกษาตามตารางที่ 4.6 พบว่า

ก่อนการใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวถัง Chiller จากตัวอย่างจำนวน 36 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย 2.9×10^7 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 5.9×10^5 , พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 1 ตัวอย่างคิดเป็น 2.78 % และพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็น 8.33 %

หลังจากใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 10 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller จุดเดิม จำนวน 36 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย 9.9×10^2 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 540, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

ผลจากการเก็บตัวอย่างซากไก่ หลังออกจากถัง Chiller เมื่อพื้นผิวถัง Chiller ได้รับการใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อแล้ว สุ่มเก็บจำนวน 36 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่าง และผลจากการเก็บตัวอย่างน้ำในถัง Chiller จุดที่ไก่ลงจำนวน 36 ตัวอย่างเพื่อศึกษาการฆ่าเชื้อ ผลปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในถัง Chiller

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	2.9×10^7	9.9×10^2
MPN/25cm^2 *E. coli*	5.9×10^5	540
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 3 ตัวอย่าง (คิดเป็น 8.33 %)	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 1 ตัวอย่าง (คิดเป็น 2.78 %)	0

จากความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 25 ppm. สามารถฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml ในเวลา 10 นาที ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ แต่เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวไปใช้ฆ่าเชื้อในถัง Chiller ที่ใช้ในกระบวนการผลิตโดยใช้เวลา 10 นาที พบว่าไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ ซึ่งเป็นมาตรฐานของอุปกรณ์ที่สัมผัสกับอาหารก่อนใช้งาน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ Total bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้ (ศศิธร, 2536) เนื่องจากพื้นผิวของถัง Chiller มีรอยต่อ และสภาพแวดล้อมไม่สามารถควบคุมได้เหมือนทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและในหลอดทดลอง

ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการคือ 50 ppm. ด้วยการใช้เวลา 5 นาที และ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวถัง Chiller (ตารางที่ 4.7) ผลจากการศึกษาพบว่า

ก่อนการใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวถัง Chiller จากตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย $2.0x10^6$ cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย $1.1x10^4$, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 1 ตัวอย่างคิดเป็น 20.0 %

หลังจากใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 5 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย $7.8x10^5$ cfu/cm^2, ไม่พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ในตัวอย่าง, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

หลังจากใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 10 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย 15 cfu/cm^2, ไม่พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ในตัวอย่าง, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

ตารางที่ 4.7 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวถัง Chiller

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 5 นาที	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 10 นาที
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	2.0×10^8	7.8×10^5	15
MPN/25cm^2 *E. coli*	1.1×10^4	< 3	< 3
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 1 ตัวอย่าง (คิดเป็น 20.0 %)	0	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	0	0	0

ดังนั้นในการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมี ควรใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 2 เท่าจากผลที่ได้จากการศึกษาในห้องทดลอง เพราะจากผลการศึกษาตามตารางที่ 4.6 พบว่าความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด แต่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ แต่จากการศึกษาตามตารางที่ 4.7 พบว่าความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด และสามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการศึกษาสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่พื้นผิว Roller ใต้สายพาน

จากการศึกษา เมื่อนำสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ไปใช้ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิว Roller ใต้สายพาน ที่มีปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ โดยใช้สารเคมีที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที เนื่องจากความเข้มข้นและเวลาดังกล่าว สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในการทดลองในห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ ผลจากการศึกษาตามตารางที่ 4.8 พบว่า

ก่อนใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ผลจากการ Swab พื้นผิว Roller ใต้สายพานตัดแต่ง จำนวน 72 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย $9.9x10^{7}$ *cfu/cm*^{2}, พบเชื้อ MPN/25cm^{2} *E. coli* จำนวนเฉลี่ย $1.9x10^{6}$, พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็น 4.17 % และพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 11 ตัวอย่างคิดเป็น 15.27 %

หลังจากใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อ โดยใช้เวลา 10 นาที จากผลการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิว Roller ใต้สายพานตัดแต่ง จุดเดิมจำนวน 72 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย $2.6x10^{3}$ *cfu/cm*^{2}, พบเชื้อ MPN/25cm^{2} *E. coli* จำนวนเฉลี่ย $1.5x10^{3}$, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

จากผลการเก็บตัวอย่างชิ้นส่วนไก่ ส่วนเนื้อขาจำนวน 36 ตัวอย่าง ส่วนเนื้อหน้าอกจำนวน 36 ตัวอย่าง หลังจากใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อบน Roller ใต้สายพานแล้ว ผลปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บน Roller ใต้สายพาน

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	9.9×10^7	2.6×10^3
MPN/25cm^2 *E. coli*	1.9×10^6	1.5×10^3
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 11 ตัวอย่าง (คิดเป็น 15.27 %)	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 3 ตัวอย่าง (คิดเป็น 4.17 %)	0

จากความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้น 25 ppm. สามารถฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml.ในเวลา 10 นาที ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ แต่เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวไปใช้ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน ที่ใช้ในกระบวนการผลิต โดยใช้เวลา 10 นาที พบว่าไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ ซึ่งเป็นมาตรฐานของอุปกรณ์ที่สัมผัสกับอาหารก่อนใช้งาน โดยใช้เชื้อ Total bacteria Plate Count และ *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้ มาตรฐานของกรมปศุสัตว์ อุปกรณ์ก่อนใช้งานพบเชื้อ Total bacteria Plate Count ไม่เกิน 50 cfu/cm^2 และต้องไม่พบเชื้อ *E. coli* (ศศิธร, 2536) เนื่องจากพื้นผิวของ Roller เป็นมุมอับอยู่ใต้สายพาน และสภาพแวดล้อมไม่สามารถควบคุมได้เหมือนที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและในหลอดทดลอง

ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการคือ 50 ppm. ด้วยการใช้เวลา 5 นาที และ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิว Roller ใต้สายพาน (ตารางที่ 4.9) ผลจากการศึกษาพบว่า

ก่อนการใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน จากตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย $4.6x10^7$ cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย $1.7x10^5$, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 5 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย $7.3x10^3$ cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 374, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

หลังจากใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 10 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย 39 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 7.2, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

ตารางที่ 4.9 ผลการเปรียบเทียบก่อนและหลังใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่ Roller ใต้สายพาน

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 5 นาที	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 10 นาที
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	4.6×10^7	7.3×10^3	39
MPN/25cm^2 *E. coli*	1.7×10^5	374	7.2
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	0	0	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	0	0	0

ดังนั้นในการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมี ควรใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 2 เท่าจากผลที่ได้จากการศึกษาในห้องทดลอง เพราะจากผลการศึกษาตามตารางที่ 4.8 พบว่าความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด แต่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ แต่จากการศึกษาตามตารางที่ 4.9 พบว่าความเข้มข้นของสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการฆ่าเชื้อ 10 นาทีสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด และสามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ

4.3.3 ผลการศึกษาสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ

จากการทดลอง เมื่อนำสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ไปใช้ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวรางระบายน้ำห้องตัดแต่งเนื้อไก่ ที่มีปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ โดยใช้สารเคมีที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที เนื่องจากความเข้มข้นและเวลาดังกล่าว สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ความเข้มข้น 1x10^6 cfu/ml ในการทดลองในห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ ผลจากการศึกษาตามตารางที่ 4.10 พบว่า

ก่อนใช้สารเปอร์ซาเนีย 2505® ผลจากการ Swab พื้นผิวรางระบายน้ำ จำนวน 36 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย 5.3x10^8 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 3.8x10^6, พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็น 8.33 % และพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 10 ตัวอย่างคิดเป็น 27.78 %

หลังจากใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อ โดยใช้เวลา 10 นาที จากผลการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวรางระบายน้ำ จุดเดิมจำนวน 36 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย 2.6x10^4 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 5.9x10^3, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างที่ตรวจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลการเปรียบเทียบก่อนใช้และหลังใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® เข้มข้น 25 ppm. ในเวลา 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	5.3×10^8	2.6×10^4
MPN/25cm^2 *E. coli*	3.8×10^6	5.9×10^3
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 10 ตัวอย่าง (คิดเป็น 27.78 %)	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 3 ตัวอย่าง (คิดเป็น 8.33 %)	0

จากความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้น 25 ppm. สามารถฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 1×10^6 cfu/ml.ในเวลา 10 นาที ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ แต่เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าวไปใช้ฆ่าเชื้อที่พื้นผิวรางระบายน้ำ ที่ใช้ในกระบวนการผลิตโดยใช้เวลา 10 นาที พบว่าไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ ซึ่งเป็นมาตรฐานของอุปกรณ์ที่สัมผัสกับอาหารก่อนใช้งาน โดยใช้เชื้อ Total bacteria Plate Count และ *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้ (ศศิธร, 2536) เนื่องจากพื้นผิวของรางระบายน้ำ ขรุขระ และสภาพแวดล้อมไม่สามารถควบคุมได้เหมือนที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและในหลอดทดลอง

ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการคือ 50 ppm. ด้วยการใช้เวลา 5 นาที และ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวรางระบายน้ำ (ตารางที่ 4.11) ผลจากการศึกษาพบว่า

ก่อนการใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อที่พื้นผิวของรางระบายน้ำ จากตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count จำนวนเฉลี่ย 1.9×10^9 cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 3.2×10^6, พบเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 1 ตัวอย่างคิดเป็น 20.0 % และพบเชื้อ *Salmonella* spp.จำนวน 2 ตัวอย่างคิดเป็น 40.0%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 5 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวของรางระบายน้ำ จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย $1.7x10^5$ cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย $5.6x10^3$, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ 25 cm^2 ในตัวอย่างที่ตรวจ

หลังจากใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อโดยใช้เวลา 10 นาที ผลจากการเก็บตัวอย่าง Swab พื้นผิวของรางระบายน้ำ จุดเดิม จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count ในตัวอย่างจำนวนเฉลี่ย $3.9x10^2$ cfu/cm^2, พบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* จำนวนเฉลี่ย 510, ไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* และเชื้อ *Salmonella* spp.ที่ 25 cm^2 ในตัวอย่างที่ตรวจ

ตารางที่ 4.11 ผลการเปรียบเทียบก่อนใช้และหลังใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® เข้มข้น 50 ppm. ในเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ

เชื้อที่ตรวจ	ปริมาณเชื้อที่พบ ก่อนใช้สารเคมี	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 5 นาที	ปริมาณเชื้อที่พบ หลังใช้สารเคมี 10 นาที
Total Bacteria Plate Count (cfu / cm^2)	1.9×10^9	1.7×10^5	3.9×10^2
MPN/25cm^2 *E. coli*	3.2×10^6	5.6×10^3	510
Salmonella spp. (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 2 ตัวอย่าง (คิดเป็น 40.0 %)	0	0
L. monocytogenes (พบ, ไม่พบ / 25 cm^2)	พบ 1 ตัวอย่าง (คิดเป็น 20.0 %)	0	0

ดังนั้นในการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมี ควรใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 2 เท่าจากผลที่ได้จากการศึกษาในห้องทดลอง เพราะจากผลการศึกษาตามตารางที่ 4.10 พบว่าความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด แต่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ และจากการศึกษาตามตารางที่ 4.11 พบว่าความเข้มข้นของสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด แต่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ

จากผลการศึกษาข้างต้น เมื่อใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง จุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ สรุปว่าสารเคมีที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไม่สามารถฆ่าเชื้อ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* ได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ สารเคมีที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาที ก็ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ แต่สารเคมีที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ ยกเว้นรางระบายน้ำ ซึ่งไม่สัมผัสกับอาหาร พบเชื้อสูงกว่ามาตรฐานกล่าวคือพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count 3.9 x 10^2 *cfu/ cm*^{2} และพบเชื้อ MPN/25cm^2 *E. coli* 510 จากการใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm. เวลา 10 นาที แต่จากการใช้ความเข้มข้นที่ระดับและเวลาดังกล่าวไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *L. monocytogenes*

จากการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Frank และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 100 ppm. ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อพื้นผิวแสตนเลส ที่เคลือบด้วยเชื้อ *L. monocytogenes* บนพื้นผิวซึ่งมีไขมันและโปรตีนผสมอยู่ จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้มากกว่า 5 log ใน 1 นาทีถ้าทิ้งไว้ 30 นาที จะลดเชื้อ *L. monocytogenes* ได้มากกว่า 7 log ซึ่งขึ้นกับสภาพพื้นผิวและอุณหภูมิที่ใช้ในการลดเชื้อ การศึกษาของ Romanova และคณะ (2002) พบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* ไวต่อสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ซึ่งสามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดี การศึกษาของ Roy และคณะ (1993) พบว่าสารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 20 ppm. สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ความเข้มข้น 3.5x10^8 cfu/ml ได้ แต่ถ้าใช้ สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ในการฆ่าเชื้อมากกว่า 3 ครั้ง ให้ใช้ความเข้มข้นที่ 50 ppm. และให้ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 4 ชั่วโมงดีที่สุด และการศึกษาของ Rodgers และคณะ (2004) ทำการศึกษาเปรียบเทียบสารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อ *E.coli* และ *L. monocytogenes* ในสารละลายที่ใช้จุ่มผักและผลไม้ โดยพบว่าสารเคมี Peroxyacetic acid ที่ความเข้มข้น 80 ppm. สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* และ *L. monocytogenes* ได้ > 4.4 log ในเวลา 5 นาที ถ้าความเข้มข้นน้อยลง ประสิทธิภาพการลดเชื้อจะต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมี และเวลาในการฆ่าเชื้อ แนะนำให้เลือกใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นกว่าเดิม 2 เท่าคือ 50 ppm. **เพราะจากผลการศึกษาสามารถพิสูจน์ได้ว่า ถ้าเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น** 2 เท่าสารเคมีสามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กำหนด **นอกจากนี้ในการนำไปใช้ควรพิจารณาสภาพพื้นผิวของอุปกรณ์ที่ใช้ และเชื้อเริ่มต้นด้วย ถ้าแหล่งที่พบเชื้อเริ่มต้นสูงและพื้นผิวสัมผัสขรุขระ มีซอกมีมุม ควรใช้ความเข้มข้นสูงขึ้น เพื่อให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อดียิ่งขึ้นและใช้เวลาฆ่าเชื้อไม่ต่ำกว่า** 10 นาที**เพื่อให้ปลอดภัยจากเชื้อก่อโรค**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 จากการศึกษาแหล่งปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง สรุปว่าพบเชื้อ *L. monocytogenes* 5 แหล่งคือ

5.1.1 ซากไก่หลังออกจากถัง Chiller (ถังล้างและปรับอุณหภูมิซาก) พบเชื้อจำนวน 4.0 %

5.1.2 น้ำในถัง Chiller จุดที่ไก่ลง พบเชื้อจำนวน 3.33 %

5.1.3 เนื้อไก่บนสายพานการผลิต พบเชื้อจำนวน 4.0 %

5.1.4 Roller ใต้สายพานการผลิต พบเชื้อจำนวน 10.0 %

5.1.5 รางระบายน้ำ พบเชื้อ 3.33 %

5.2. จากการศึกษาสารเคมีฆ่าเชื้อในการฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง พอสรุปได้เป็นข้อ ๆ ดังนี้

5.2.1 ความเข้มข้นของสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่แอมโมเนียม และสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้นสูงมีผลต่อการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าสารที่มีความเข้มข้นต่ำ

5.2.2 สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ให้เวลาสัมผัสพื้นผิวในการฆ่าเชื้อนาน สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าที่ให้เวลาสัมผัสพื้นผิวในการฆ่าเชื้อสั้น

5.2.3 สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm.และ 100 ppm.มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ได้ดีที่สุด ไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เวลา 1 นาที, 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาที ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm. ฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 5 นาที เป็นต้นไป ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm. ฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 10 นาที เป็นต้นไป

5.2.4 สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่ความเข้มข้น 400 ppm., 200 ppm., 100 ppm.,และ 50 ppm.มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ได้ดีที่สุด ไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เวลา 1 นาที, 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาที ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm. ฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 10 นาที เป็นต้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.5 สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่ความเข้มข้น 200 ppm.,และ 100 ppm.มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ได้ดีที่สุด ไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เวลา 1 นาที, 5 นาที, 10 นาที และ 15 นาที ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm.และ 50 ppm. ยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ที่เวลา 5 นาที เป็นต้นไป ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm. ฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 10 นาที เป็นต้นไป

5.3. ผลการศึกษาสารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม และสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505 ® ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* จุดที่พบการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง สรุปว่า

ผลการศึกษา การใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ในพื้นผิวถัง Chiller, สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ที่พื้นผิว Roller ใต้สายพานและสารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ที่พื้นผิวรางระบายน้ำ ในการฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes*, *E.coli*, *Salmonella* spp.และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด สรุปว่าสารเคมีที่ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ไม่สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count) และเชื้อ MPN *E.coli* ได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ แต่เมื่อใช้สารเคมีโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ฆ่าเชื้อในถัง Chiller และใช้สารประกอบควอตเทอร์นารี่ แอมโมเนียม ฆ่าเชื้อที่พื้นผิว Roller ใต้สายพาน ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาที ยังไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ แต่สารเคมีทั้งสองที่ความเข้มข้น 50 ppm. เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count) และเชื้อ MPN/25 cm^2 *E.coli* ได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์แนะนำ รวมทั้งสามารถฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *L. monocytogenes* ได้แต่จากการใช้สารเคมีเปอร์ซาเนีย 2505® ฆ่าเชื้อที่รางระบายน้ำ ซึ่งไม่สัมผัสกับอาหาร ถึงแม้จะใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 5 นาทีและ10 นาที ยังคงพบเชื้อ Total Bacteria Plate Count และเชื้อ MPN/25 cm^2 *E. coli* สูงกว่ามาตรฐาน แต่สามารถฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *L. monocytogenes* ได้โดยตรวจไม่พบเชื้อ

ในการเลือกใช้ความเข้มข้นของสารเคมี และเวลาในการฆ่าเชื้อ ควรเลือกใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นกว่าเดิม 2 เท่าและใช้เวลานานขึ้นกว่าที่ได้จากการทดลอง กล่าวคือจากผลการศึกษาความเข้มข้นที่ 25 ppm. ใช้ฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการได้ แต่ไม่สามารถลดเชื้อลงได้ตามมาตรฐานเมื่อนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาใช้ในจุดปนเปื้อนในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นสารเคมีเป็น 2 เท่า คือ 50 ppm. สามารถลดเชื้อลงได้ตามมาตรฐานของกรมปศุสัตว์ เมื่อนำมาใช้ในจุดปนเปื้อนในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง แต่บริเวณพื้นผิวที่ไม่เรียบ และมีปริมาณเชื้อสูงกว่าปกติ พบว่าไม่สามารถลดเชื้อลงได้ตามมาตรฐาน ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อเครื่องมือและอุปกรณ์ ให้ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคในบริเวณพื้นผิวที่ไม่เรียบและมีการปนเปื้อนเชื้อสูง ควรใช้สารเคมีความเข้มข้นสูงกว่า 2 เท่า (100 - 200 ppm.) หรือปริมาณความเข้มข้นที่สูงตามที่ผู้จำหน่ายสารเคมีนั้น ๆ แนะนำในฉลาก ทั้งนี้เพื่อป้องกันความผิดพลาดจากการทำความสะอาดของพนักงานและเพิ่มความมั่นใจในประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในบริเวณพื้นผิวดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

บุษกร ปาละกูล., 2536, "ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์ในการลดปริมาณ *S. typhimurium* ในกุ้งก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง", วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ปิยาณี จันท์ปัญญาศิลป์., 2542, "ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลดปริมาณ *E.coli* ในผักสด", วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ปรีชา จึงสมานุกูล., 2537, Morphology, Ecology, Epidemiology, Pathogenicity and Detection of *Listeria monocytogenes*, กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

รุ่งทิวา อิศรางพร., 2541, "การเพิ่มประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella typhimurium*", วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ศิวพร ศิวเวช., 2536, การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร, พิมพ์ครั้งที่ 4 ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะอุสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, New Touch Media Coporation, กรุงเทพฯ, หน้า 367.

ศศิธร คณะรัตน์., 2536, "การตรวจวิเคราะห์คุณภาพเนื้อสัตว์ปีกในห้องปฏิบัติการ", เอกสารประกอบการฝึกอบรมพนักงานตรวจเนื้อสัตว์ปีก, กองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์, หน้า 364.

สุภาวดี ตั้งจิตร., 2543, "ผลของสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีนต่อการบาดเจ็บของ S.typhimurium", วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

สุมาลี เหลืองสกุล., 2535, จุลชีววิทยาทางอาหาร, ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สุภัทราพร มหาแก้ว, 2536, "ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์ในการลดปริมาณ *Salmonella typhimurium* ในกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง", วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

สุวิมล กีรติพิบูล., 2543, ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย, เล่ม 1 จัดทำโดยศูนย์โทรศึกษาและการฝึกอบรม สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น), หน้า 133.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baker, J.C., 1926, Chlorine in sewage and waste disposal, p.17, *cited by* Wei, C.I., Cook, D.L., and Kirk, J.R., Use of chlorine compounds in the food industry, Food Technology, Vol.39, No.1, pp.107-115.

Bryan, F.L., Fanelli, M.J., and Riemann, H., 1979, Salmonella infection, pp.74-130, In Riemann, H., and Bryan, F.L., (eds.), Food-born infections and Intoxications, Academic Press, Inc., London.

Campers, A.K., and McFeters, G.A., 1979., Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliform bacteria, Appl. Environ. Microbial, Vol.37, pp.633-641.

Cords, B.R., and Dychdala, G.R., 1993, Sanitizers : Halogens, Surface-active Agent, and Peroxide, pp.467-537.

Chantarapanont, W., Berrang, M.E. and Frank, J.F.,2004, Direct microscopic observation of viability of campylobacter jejuni on chicken skin treated with selected chemical sanitizing agents, Journal of Food Protection, Vol.67, No.6, pp.1146-1152.

Cheremisinoff, N.P., and Trattner, R.B., 1981, Chemical and Nonchemical Disinfection, Ann Arbor Science Publishers, Inc., Michigan, p.172.

El-Kest, S.E., and Marth,E.H., 1988, Inactivation of *Listeria monocytogenes* by Chlorine, Journal of Food Protection, Vol.51, pp.520-524.

Fatemi, P., and Frank, J.F., 1999, Inactivation of Listeria monocytogenes/Pseudomonas Biofilms by Peracid Sanitation, Journal of Food Protection, Vol.62, No.7, pp.761-765.

FDA.,1988, Recommended guidelines for controlling environmental contamination in dairy plants, Dairy food Sanitation, 8(2) : 52-56.

FDA.,1992, *Listeria monocytogenes*, (online), available World Wide Web ,:http:// vm.cfsan.fda.gov/-mow/chap6.html. (Accessed 10 January 2004)

Frank, J.F., Ehlers, J., and Wicker, L., 2003, Removal of Listeria monocytogenes and Poultry Soil-Containing Biofilms Using Chemical Cleaning and Sanitatizing Agents Under Static Conditions, Food Science and Technology, Center for Food Safety, University of Georgia, USA.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gelinas, P., Goulet, J., Tastayre, G.M., and Picard,G.A., 1984, **Effect of Temperature and Contact Time on the Activity of Eight Disinfectants a Classification,** Journal of Food Protection, Vol.47, No.11, pp.841-847.

Gonzalez, R.J., Luo, Y., Ruiz-Cruz, S., and McEvoy, J.L., 2004, **Efficacy of Sanitizers to Inactivate E.coli 0157:H7 on Fresh-Cut Carrot Shreds Under Simulated Process Water Conditions,** Journal of Food Protection, Vol.67, No.11, pp.2375-2380.

Green, D.E., and Stumpf, P.K., 1946, The mode of action of chlorine, p.107, *Cited by* Wei, C.I., Cook, D.L., and Kirk, J.R., **Use of chlorine compounds in the food industry,** Food Technology, Vol.39, No.1, pp.107-115.

Gursel, B., and Gurakan, G.C., 1997, **Effect of Gamma Irradiation on the Survival of Listeria monocytogenese and on its Growth at Refrigeration Temperature in Poultry and red Meat,** Poultry Science, Vol.76, No.6, June, pp.1661-1664.

Guthrie, R.K.,1983, **Food Sanitation,** 2d, ed., The AVI Pubishing Company Inc., Connecticut, p.326.

Henning, W.R., and Cutter, C., 2001, **Controlling Listeria monocytogenes in small Meat and Poultry Plants,** (Online), available World Wide Web ,:http://www.fsis.usda.Gor/OPPDE/NIS/outreach/Listeria.html. (Accessed 10 January 2004)

Hocking, A.D.,1997, Foodborn Microorganisms of Public Health Significance, (online),available Word Wide Web,:http://www.safefood.net.au/content.cfm ? sid=469 (Accessed 5 February 2004)

ISO 11290-1:1996(E), **Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*,** Part 1 : Detection Method, pp.1-13.

ISO 4833:2003(E), **Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the enumeration of microorganisms-Colony-count technique at 30 °C,** pp.1-9.

ISO 6579:2002(E), **Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp.,** pp.1-23.

ISO 7251:1993(E), **Microbiology – General guidance for the enumeration of Presumptive *Escherichia coli*-Most Probable Number technique,** pp.1-11.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ito, K.A., and Seeger, M.L., 1980, **Effect of Genmicide on Microorganisms in Can Cooling Water**, Journal of Food Protection, Vol.43, pp.484-487.

Janes, M.E., Kooshesh, S., and Johnson, M.G., 2002, **Control of *Listeria monocytogenes* on the Surface of Refrigerated Ready-to-eat Chicken Coated with Edible Zein Film Coatings Containing Nisin and/or Calcium Propionate** , Journal of Food Science,Vol.67,September,p.2754.

Jay, J.M., 2000, **Modern Food Microbiology, Foodborne Listeriosis**, Aspen Publisher, Inc., A Wolters Kluwer Company, Gaitherburg, Maryland.

Knox, W.E., Stumpf, P.K., Green, D.E., and Anerbach, U.H., 1948, The Inhibition of sulfhydral enzymes as the basis of the bactericidal action of chlorine, Journal of Bacteriology, Vol.55, p.451.

Krysinski, E.P., Brown, L.J., and Marchisello, T.J., 1992, **Effect of Cleaners and Sanitatizers on *Listeria monocytogenes* Attached to Product Contact Surfaces**, Journal of food Protection, Vol.55, No.4, pp.246-251.

Larson, A.E., Johnson, E.A., and Nelson, J.H., 1999, **Survival of *Listeria monocytogenes* in commercial cheese brines**, Journal of Dairy science, Vol.82, No 9, September, pp. 1860-1868.

Maciorowski, K.G., Ricke, S.C., and Birkhold, S.G., 1999, **Consumer Poultry Meat Handling and Safety Education in Three Texas Cities**, Poultry Science Vol.78, pp. 833-840.

Manual Microbact, 12L, Listeria , Identification System, Technical Product, Insert, Medvet Science PTY LTD.

Marriott, N.G.,1999, **Principles of Food Sanitation**, Fourth ed, An Aspen Publishers, Inc, Maryland USA.

Mereghetti, L., Quentin, R., Marquet-Van Der Mee, N., and Audurier, A., 2000, **Low Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to Quaternary Ammonium Compounds**, Applied and Environmental Microbiology, Vol.66, No.11.

Nascimento, M.S., Silva, N., Catanozi, M.P.L.M., and Silva, K.C., 2003, **Effects of Different Disinfection Treatments on the Natural Microbiota of Lettuce**, Journal of Food Protection, Vol.66, No.9, pp.1697-1700.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Novak, J.S., Sapers, G.M., and Juneja, V.K., 2003, **Microbial Safety of Minimally Processed Food**, The United States, American.

Park, D.L., Rua, S.M., and Acker, A., 1991, **Direct Application of New Hypochlorite Sanitizer for Reducing Bacterial Contamination on Food**, Journal of Food Protection, Vol.54, pp. 960-965.

Roberts, D., Hooper, W., and Greenwood, M., 1983, **Practical Food Microbiology, Surface Swabs**, pp.109-110.

Robinson, R.K., Batt, C.A., and Patel, P.D., 2000, **Encyclopedia of Food Microbiology**, A Harcourt Science and Technology Company, London.

Rodgers, S.L., Cash, J.N., Siddiq, M., and Ryser, E.T., 2004, **A Comparison of Different Chemical Sanitizers for Inactivating *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* in Solution and on Apples, Lettuce, Strawberries, and Cantaloupe**, Journal of Food Protection, Vol.67, No.4, pp. 721 – 731.

Romanova, N., Favrin, S., and Griffiths, M.W., 2002, **Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to Sanitizers Used in the Meat Processing Industry 'Applied and Environmental Microbiological**, Vol.68, No.12, December, p. 6405.

Roy, B., Ackermann, H.W., Pandian, S., Picard, G., and Goulet, J., 1993, **Biological inactivation of adhering *Listeria monocytogenes* by Listeriaphages and a quatemary ammonium compound**, Apply Environment Microbiological, 59(9), pp. 2914-2917.

Rudolph, D.S., and Levine, M., 1941., **Factors affecting the efficiency of hypochlorite solution**, p.107, *Cited by* Wei, C.I., Cook, D.L., and Kirk, J.R., **Use of chlorine compounds in the food industry**, Food Technology, Vol.39, No.1, pp.107-115.

Ryser, E.T., and Marth, E.H., 1991, **Listeria, Listeriasis and Food Safety**, Marcel Dekker, inc., New York.

Schiff, N., 1998, **Choosing the Proper Sanitizer or Disinfectant**, (online),available Word Wide Web,:http://www.schiff.consulting.com/choosing.html (Accessed 14 March 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Soriano, J.M., Rico, H., Molto, J.C., and Manes, J., 2000, **Listeria Species in Raw and Ready to Eat Foods From Restaurants**, Journal of Protection, Vol.64, No.4,15 November, pp. 551-552.

Tunnicliffe, H., 1995, **Basic Food Hygiene Certificate**, Hatfields, London.

Ukuku, D.O., Fett, W.F., and Sapers, G.M., 2004, **Inhibittion of *Listeria monocytogenes* by Native Micro Flora of Whole Cantaloupe**, Journal of Food Safety, Vol.24, No 2, July, p.129.

USDA, **FSIS Method for the Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Processed Meat and Poultry Products.**

Wei, C.I., Cook, D.L., and Kirk, J.R., 1985, **Use of Chlorine Compounds in the Food Industry**, Food Technology, Vol.39, No.1, pp.107-115.

Wyatt, L.R., and Waites, W.M., 1975, **The effect of chlorine on spores of *Clostridium bifementans*, *Bacillus* and *Bacillus cereus***, Journal of General Microbial, Vol.89, pp.337-340.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การตรวจวิเคราะห์เชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การตรวจวิเคราะห์เชื้อ

1. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Listeria monocytogenes*

1.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

สุ่มเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งโดย

1.1.1 ตัวอย่างขนไก่, ลำไส้ไก่ และเนื้อไก่ ใช้ตัวอย่างน้ำหนัก 25 กรัมต่อ 1 ตัวอย่าง

1.1.2 ตัวอย่าง น้ำและน้ำแข็ง ใช้ตัวอย่างปริมาตร 25 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่าง

1.1.3 ตัวอย่างผิวหนังไก่,มือ–เอี๊ยมพนักงาน และเครื่องมือ–อุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องตัดแต่ง ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

1.1.4 ตัวอย่าง อุจจาระไก่ (Faeces) เก็บโดยใช้ไม้พันสำลี เสียบเข้าไปในช่องทวารไก่ ใช้ตัวอย่าง 60 ไม้ Swab (1 ไม้ต่อไก่ 1 ตัว สุ่มจากไก่ 60 ตัว) ใช้กรรไกรตัดเฉพาะส่วนที่เป็นสำลี ได้น้ำหนักประมาณ 25 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง

1.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1:1996)

1.2.1 จากตัวอย่างตามข้อ 1 เติม Half fraser broth 225 ml ที่เติม supplement แล้วนำเข้า Incubator 30±1 °C เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

1.2.2 ถ่ายเชื้อจากสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.1 ลงใน fraser broth ที่เติม supplement แล้วนำเข้า Incubator 37±1 °C เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง

1.2.2.1 นำสารละลายตัวอย่างจาก fraser broth (ข้อ 2.2) streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Oxford agar และ Palcum agar อย่างละ 1 plate นำเข้า Incubator 37±1 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

1.2.3 ถ่ายเชื้อจากสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.1 ลงใน selective agar โดย Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Oxford agar และ Palcum agar อย่างละ 1 plate นำเข้า Incubator 30±1 °C เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 อ่านผลลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Listeria* บน Plate Selective Agar

ลักษณะโคโลนีบน Oxford agar plate

24 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีสีเทา มีวงแหวนสีดำล้อมรอบ

48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีสีดำออกเขียววาว มีวงแหวนสีดำล้อมรอบ ตรงกลางโคโลนีมีรอยบุ๋มสีดำ

ลักษณะโคโลนีบน Palcum agar plate

1 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อ เปลี่ยนเป็นสีชมพู หรือ สีม่วง

24 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีสีเขียวเทา ขนาดเล็ก หรือ สีเขียวมะกอก อาจมีสีดำตรงกลางโคโลนี แต่จะต้องมีวงแหวนสีดำล้อมรอบเสมอ

1.2.5 การรายงานผลลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Listeria* บน Selective Agar plate

1.2.5.1 ถ้าไม่พบลักษณะโคโลนีดังข้างต้น ให้รายงานผลว่า ไม่พบเชื้อ *Listeria* spp.

1.2.5.2 ถ้าพบลักษณะโคโลนีดังข้างต้น ให้ทำการตรวจยืนยันการตรวจพบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ตามปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเชื้อในข้อ 2.6

1.2.6 การตรวจยืนยันเชื้อ *Listeria monocytogenes*

1.2.6.1 นำโคโลนีที่สงสัยว่าพบเชื้อ Streak ลงบน Trytone soya yeast extract agar (TSA) นำเข้า Incubator ที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

1.2.6.2 จากนั้นนำ pure colony ไปทำการทดสอบต่อดังนี้

- ทดสอบ Catalase reaction
- ย้อม Gram Staining

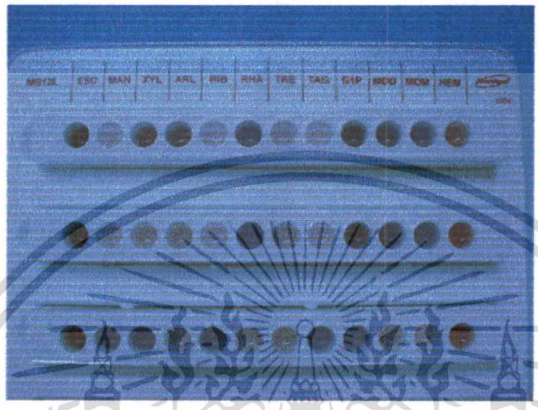
ลักษณะของ *Listeria monocytogenes* เกิดปฏิกิริยาต่อไปนี้

- Catalase reaction ⟶ + มีฟองแก๊สเกิดขึ้น หลังจากหยด 3 % hydrogen peroxide
- Gram Staining ⟶ + Gram Positive ติดสีน้ำเงิน

1.2.6.3 ถ้าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ให้นำ pure colony จาก TSA Plate มาทดสอบทาง Biochemical อีกครั้ง โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่บริสุทธิ์มา 4-5 โคโลนี ลงในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อที่มากับ Test kit ให้เป็นเนื้อเดียวกัน บ่มนาน 4 ชั่วโมง ให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 MacFarland จากนั้นนำสารละลายเชื้อมาหยดลงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลุมโดยใช้ Pasteur pipette 4 หยดต่อหลุม หรือประมาณ 100 µl และใช้ 1 หยดในหลุมที่ 12 ของTest Kit Microbact 12 L. (Listeria) จากนั้นปิดฝาแล้วนำเข้าตู้บ่ม 37±1 °C นาน 18-24 ชั่วโมงเมื่อครบกำหนดนำออกมาเช็คปฏิกิริยาของเชื้อ *Listeria monocytogenes* จะเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลแต่ละตัวใน Test Kit ดังนี้



ภาพที่ ก.1 แสดงปฏิกิริยาของเชื้อ *L.monocytogenes* ที่เกิดขึ้นบน Test Kit Microbact 12 L. (Listeria)

หลุมที่	ชื่อ	ปฏิกิริยา		ลักษณะของ *L. monocytogenes*
		Negative (-)	Positive (+)	
1	Esculin	สีเหลือง	สีดำ	+
2	Mannitol	สีม่วง	สีเหลือง	-
3	Xylose	สีม่วง	สีเหลือง	-
4	Arabitol	สีม่วง	สีเหลือง	+
5	Ribose	สีม่วง	สีเหลือง	-
6	Rhamnose	สีม่วง	สีเหลือง	+
7	Trehalose	สีม่วง	สีเหลือง	+
8	Tagatose	สีม่วง	สีเหลือง	-
9	Glucose-1-Phosphate	สีม่วง	สีเหลือง	-
10	Methyl-D-Glucose	สีม่วง	สีเหลือง	+
11	Methyl-D-Mannose	สีม่วง	สีเหลือง	+
12	Haemolysis	สีแดงของเลือด	สีน้ำตาล	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *L. monocytogenes* ย่อยสลาย Esculin ทำให้เกิดสีดำ ในหลุมที่ 1 ของ Test kit เชื้อ *L. monocytogenes* จะย่อยน้ำตาลเมื่อน้ำตาลถูกนำไปใช้ประโยชน์ จะเกิดเป็นกรดและเปลี่ยนสีของ Bromocresol Purple ซึ่งเป็น Indicator สีม่วงในน้ำตาล ให้เป็นสีเหลือง แต่ไม่สร้างแก๊ส ถ้าเชื้อ *L. monocytogenes* ไม่ย่อยน้ำตาลจะทำให้เกิดสีม่วงในหลุมของ Test kit

เชื้อ *L. monocytogenes* ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ในหลุมที่ 12 เปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล เกิดลักษณะตกตะกอน

1.2.6.4 นำค่าที่อ่านได้ในปฏิกิริยาของ Test Kit ไปแปรผลการทดสอบโดยใช้ software ของ Microbact computer โดยใส่เป็นเครื่องหมาย + , -

1.2.6.5 ผลที่ได้จากการแปรผล เครื่องจะแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นเชื้อ *Listeria* spp. ใด โดยจะแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ ของเชื้อ *Listeria* ถ้าเป็นเชื้อ *Listeria* spp. ใด จะต้องแสดงเปอร์เซ็นต์ไม่ต่ำกว่า 85 จึงถือว่าเป็น spice นั้น

2. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ Total Bacteria Plate Count (ISO 4833:2003)

2.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

สุ่มเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งจุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิต ที่ต้องการเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้สารเคมีและจากใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ

2.1.1 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

2.1.2 ตัวอย่าง Swab พื้นผิว Roller ใต้สายพาน ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

2.1.3 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวรางระบายน้ำ ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

2.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ Total Bacteria Plate Count

2.2.1 เครื่องมือ และอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

1. Peptone Salt Dilution Fluid (DF) (Oxiod)
2. Plate Count Agar (PCA) (Oxiod)

เครื่องมือที่ใช้

1. เครื่องตีตัวอย่าง (Stomacher) ยี่ห้อ Volex Serial No.19242
2. Water Bath อุณหภูมิ 44-47 °C ยี่ห้อ HAAKE ขนาดบรรจุ 20 ลิตร Model SWB 20 Serial No.870024
3. Incubator อุณหภูมิ 30 ± 1 °C ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 400 ลิตร Model B30 Serial No.880-922

2.2.1 วิธีการปฏิบัติ

2.2.1.1 นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างข้อ 2.1 เติมสารละลาย DF 225 มิลลิลิตร นำไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เพื่อย่อยตัวอย่าง จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 10^{-1} แล้วนำไปทำให้เจือจาง (Dilution) ต่อไปเรื่อยๆ จนได้ Dilution ที่ต้องการ คือ 10^{-2},10^{-3},10^{-4} ...10^{n}

2.2.1.2 นำ Dilution ที่เตรียมได้คือ 10^{-1},10^{-2},10^{-3},10^{-4} ...10^{n} ใส่ลงใน Petri - dish ทุก Dilution โดยใส่ Dilution ละ 1 ml / 1 Petri – dish (ให้ทำ Dilution ละ 2 ซ้ำ)

2.2.1.3 Pour Plate ด้วย PCA ที่หลอมละลายแล้ว และมีอุณหภูมิประมาณ 44-47 °C ให้หนา 10 - 15 ml / Plate ผสมให้เข้ากันกับ Suspension ของ Sample

2.2.1.4 เมื่อ PCA แข็งตัวแล้ว นำเข้าตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 30°C ± 1 °C นาน 72 ± 3 ชั่วโมง

2.2.1.5 การรายงานผล

เลือก Plate ที่มี Colonies ระหว่าง 15 - 300 Colonies เพื่อคำนวณเป็น โคโลนี ต่อ cm^2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ MPN *E.coli* (ISO 7251:1993)

3.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

สุ่มเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งจุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิต ที่ต้องการเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้สารเคมีและจากใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ

3.1.1 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.2 ตัวอย่าง Swab พื้นผิว Roller ใต้สายพาน ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.1.3 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวรางระบายน้ำ ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ MPN *E.coli*

3.2.1 เครื่องมือ-อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

1. Lauryl sulphate broth (LST) (Oxiod)
2. EC *medium* (EC) (Oxiod)
3. Peptone water (PW) (Oxiod)

สารเคมีที่ใช้

1. Kovac's reagent (Merck)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือที่ใช้

1. Incubator อุณหภูมิ 37±1 °C ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 700 ลิตร Model BM 700 Serial No.890037

2. Water bath อุณหภูมิ 45±0.5 °C ยี่ห้อ Memmert ขนาดบรรจุ 20 ลิตร Model WU 600 Serial No.LG 93 0270

3.2.2 วิธีการปฏิบัติ

3.2.2.1 นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างข้อ 3.1 เติมสารละลาย DF 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 10^{-1} แล้วนำไปทำให้เจือจาง (Dilution) ต่อไปเรื่อยๆ จนได้ สารละลาย ที่ต้องการ คือ 10^{-2},10^{-3} ,10^{-4} ...10^{n}

3.2.2.2 ใช้ Pipette 5 ml. ดูดสารละลายตัวอย่าง 10^{-1} ,10^{-2} ,10^{-3},10^{-4} ...10^{n} จากข้างต้นใส่ลงใน Single – Strength LST 10 ml / tube ใส่ Dilution ละ 3 Tube Tube ละ 1 ml. แต่ละ Dilution ควรใช้ Pipette แยกกัน จัดเรียงหลอดแต่ละ Dilution และลงรหัสตัวอย่าง เพื่อไม่ให้เกิดความสับสน

3.2.2.3 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ LST เข้าตู้ Incubator อุณหภูมิ 37°C ± 1 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.2.4 เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการอ่านผลปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ LST

3.2.2.5 ลักษณะที่ Positive ของอาหารเลี้ยงเชื้อ LST คือ LST จะมีสีเหลืองขุ่น, มีฟองอากาศเกิดขึ้นใน Durham tube ≥ 1 ใน 3 ของ Durham tube เนื่องจากเชื้อ *E.coli* สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสแล้วให้กาซ จึงเกิดเป็นฟองอากาศใน Durham tube

3.2.2.6 นำ tube ที่มีลักษณะ Positive ถ่ายเชื้อ 1 Loop full ลงใน EC medium ที่บรรจุใน Tube 10 ml. แล้วนำไป Incubate ที่อุณหภูมิ 45±0.5 °C ใน water bath นาน 24 ชั่วโมง

3.2.2.7 เมื่อครบกำหนดนำออกมาอ่านผล โดยจดผลเฉพาะ tube ที่ อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นและมี Gas เกิดขึ้นใน Durham tube อ่านผลเป็น Positive เชื้อ *E.coli* จะย่อยน้ำตาลแลคโตสแล้วให้กาซ เกิดเป็นฟองอากาศใน Durham tube

3.2.2.8 หลอดที่ให้ผล Negative นำไปบ่มต่อ ที่อุณหภูมิ 45 ± 0.5 °C จนครบ 48 ชั่วโมงแล้วอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.9 ถ่ายเชื้อจาก tube ที่ Positive ของ EC medium ลงใน PW บ่มไว้ที่อุณหภูมิ $45^{\circ} \pm 0.5$ °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- ทดสอบ Indole โดยหยด Kovac's reagent 2-3 หยด ลงใน PW เขย่าเบา ๆ ให้ผสมกัน ทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้ Kovac's reagent ลอยขึ้นมาส่วนบนของอาหาร แล้วสังเกตสีที่เกิดขึ้น

1. ถ้าเกิด ring สีแดง อ่านผลเป็น Positive Test (Indole เป็นสารที่ได้จากการย่อย Tryptophane ของเชื้อ *E.coli* ที่มีใน Peptone Water เมื่อหยดสารทดสอบ Kovac จึงเกิดเป็นสีแดง)

2. ถ้าไม่เกิด ring สีแดง อ่านผลเป็น Negative Test

3.2.2.10 คำนวณค่า MPN. ของ *E.coli* จาก tube EC medium ที่ให้ผล Positive กับ PW ข้างต้น เป็นปริมาณ MPN/25 cm^2 *E.coli* โดยนำไปเปิดตาราง MPN อ่านค่า MPN จากตัวอย่าง แล้วนำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาปริมาณเชื้อต่อ 25 cm^2

4. การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002)

4.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

สุ่มเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็งจุดที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในกระบวนการผลิต ที่ต้องการเปรียบเทียบผลระหว่างก่อนใช้สารเคมีและจากใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ

4.1.1 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวถัง Chiller ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

4.1.2 ตัวอย่าง Swab พื้นผิว Roller ใต้สายพาน ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

4.1.3 ตัวอย่าง Swab พื้นผิวรางระบายน้ำ ใช้ไม้ Swab Swab ในพื้นที่ 25 cm^2 ในการเก็บตัวอย่าง Swab ต่อ 1 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp.

4.2.1 เครื่องมือ – อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

1. Buffered Peptone Water (BPW) (Oxiod)
2. Rappaport – Vasilliadis medium with soya (RVS – broth) (Merck)
3. Brilliant Green Agar (Modified) (BGM) (Oxiod)
4. Xylose Lysine Agar Base to which Sodium Deoxycholate (XLD) (Oxiod)
5. Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Oxiod)
6. Lysine Iron Agar (LIA) (Oxiod)
7. Muller – Kauffmann tetrathionate broth (MKTTn broth) (Oxiod)
8. Urea Agar Base (Oxiod)
9. Voges-Proskauer (VP) Medium (Oxiod)
10. Nutrient Agar (Oxiod)
11. Nutrient broth (Oxiod)
12. Semisolid Nutrient Agar (Oxiod)

สารเคมีที่ใช้

1. antiserum O polyvalent A-I, A-67, group A, B, C, D และ E (Oxiod)
2. Vi Antiserum (Oxiod)
3. H Antiserum (Oxiod)
4. Iodine solution (Merck)
5. 0.1 % Brilliant green Solution (Merck)
6. Kovac Reagent (Merck)
7. 5 % α Naphthol (Merck)
8. 40 % Potassium hydroxide (Merck)
9. Saline solution 0.85 % (Merck)
10. Reagent for detection of β – galactosidase (ONPG disc) (Oxiod)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือที่ใช้

1. **เครื่องผสมตัวอย่าง** (Mixer) **ยี่ห้อ** Vortex Model G560 Serial No.241713

2. Incubator 41.5±1 °C **ยี่ห้อ** Memmert **ขนาดบรรจุ** 22 **ลิตร** Model WB 22 Serial No.15020315

3. Incubator 37±1 °C **ยี่ห้อ** Memmert **ขนาดบรรจุ** 700 **ลิตร** Model BM 700 Serial No.890037

4. Water bath 44-47 °C **ยี่ห้อ** HAAKE **ขนาดบรรจุ** 20 **ลิตร** Model SWB 20 Serial No.870024

4.2.2 **วิธีปฏิบัติงาน**

4.2.2.1 Pre-enrichment **โดยนำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างข้อ** 4.1 **เติม** BPW **ปริมาตร** 225 ml (±2%) **แล้วนำไป** Incubate **ใน** Incubator **ที่** 37±1 °C **เป็นเวลา** 18 ± 2 **ชั่วโมง**

4.2.2.2 Enrichment **ใช้** pipette **ดูด** Culture **จากข้อ** 4.2.2.1 **มา** 0.1 ml **ใส่ใน** RVS 10 ml (±2%) **แล้วนำไปบ่มใน** water bath **อุณหภูมิ** 41.5 ±1 °C **เป็นเวลา** 24 ± 3 **ชั่วโมง และดูด** Culture **จากข้อ** 4.2.2.1 **มา** 1 ml. **ใส่ใน** MKTTn 10 ml. (±2%) **แล้วนำไปบ่มใน** Incubator **ที่อุณหภูมิ** 37 ± 1°C **เป็นเวลา** 24 ± 3 **ชั่วโมง**

4.2.2.3 Selective **ใช้** Loop **แตะเชื้อจาก** RVS 1 Loop **แล้ว** Streak **ลงบน** BGM, XLD **และแตะเชื้อจาก** MKTTn 1 Loop **แล้ว** Streak **ลงบน** XLD, BGM **นำไป** incubate **ที่อุณหภูมิ** 37 ± 1 °C **เป็นเวลา** 24 ± 3 **ชั่วโมง หลังจากนั้น นำออกมาอ่านผล**

อ่านผล Positive

BGM - Colony **สีชมพูใสหรือสีขาวขุ่น**

XLD - Colony **สีดำล้อมรอบด้วย สีแดงหรือสีชมพู**

1. **จากอาหารเลี้ยงเชื้อ** XLD **และ** BGM **ที่** Negative **ให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิ** 37±1 °C **เป็นเวลา** 24±3 **ชั่วโมงอีกครั้งหนึ่ง ถ้าผลยัง** Negative **อยู่ให้รายงานผลเป็น ตรวจไม่พบเชื้อ** *Salmonella sp.* **ในตัวอย่าง**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ถ้ามี Colony ของเชื้อขึ้นบน Plate ให้เลือกมา 1 Colony ที่แน่ใจว่าเป็น Colony ของเชื้อ แต่ถ้าใน 1 plate มี typical colony > 5 colony ให้นำมาทั้งหมด 5 colony จากนั้น Streak ลงบน Nutrient agar Plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง จากนั้นนำ pure culture ที่ได้ ทำ Biochemical Test และ Serological Test แล้วนำเชื้อจาก 1 colony Stab ลง Butt และ Streak ลงบน Slant ของ TSI และ LIA agar นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง ถ้าผลเป็น Negative ให้เลือกอีก 4 Colony ลง TSI, LIA agar และ Nutrient agar Plate อีกครั้งหนึ่งนำเข้าบ่มที่ อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง จากนั้นนำ Colony ที่ Positive ใน Plate Nutrient Agar ไปทำ Biochemical test ต่อไปนี้

- Tube Urea Slant ใช้ Needle แตะเชื้อ แล้ว Streak ลงไป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็น เวลา 24±3 ชั่วโมง ลักษณะที่ Positive ของ Urea agar จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดงถึงแดงเข้ม แต่ถ้าเป็นเชื้อ *Salmonella* Urea agar จะให้ผล Negative โดย Urea Agar จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

- ทดสอบ ONPG DISC แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate Nutrient Agar Stab ลงใน Tube ที่มี NS 0.85 % ประมาณ 1 ml. 1 Tube และนำเชื้อ *E.coli* Stab ลงใน Tube NS 0.85 % อีก 1 Tube (เชื้อ *E.coli* เป็น Negative control) นำทั้ง 2 Tube ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 °C ประมาณ 5 นาที แล้วนำ ONPG DISC ใส่ลงใน Tube ทั้ง 2 ที่มีเชื้ออยู่ นำเข้าตู้บ่ม อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาอ่านผล

  Tube NS ที่เติมเชื้อ *Salmonella* ONPG DISC จะไม่เปลี่ยนสี

  Tube NS ที่เติมเชื้อ *E.coli* ONPG DISC จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

- ทดสอบ VP reaction แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate Nutrient Agar Stab ลงใน Tube ที่บรรจุ VP Medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง ทดสอบ VP โดยหยด 5 % α Naphthol Solution 3 หยดและหยด 40 % KOH Solution 1 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ลักษณะที่ Positive ของเชื้อ *Salmonella* ผล VP ต้องไม่เปลี่ยนสี ปฏิกิริยา VP เป็นการตรวจ acetylmethyl carbinol ที่ได้จากการที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคส

- ทดสอบ Indole reaction โดยใช้ Loop แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate Nutrient Agar Stab ลงไปใน Tube อาหารเลี้ยงเชื้อ Trytone 5 ml. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 °C เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบ โดยหยด Kovac's Reagent 1 ml. สังเกตุผล Indole ลักษณะที่พบเชื้อ *Salmonella* จะไม่เกิด Ring สีแดง (negative reaction) เนื่องจากเชื้อ Salmonella ไม่ย่อยน้ำตาล Trytone ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ก็ต่อเมื่อผล Biochemical Test เกิดลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้

การทดสอบคุณสมบัติทาง Serological Test (Slide agglutination test)

การทดสอบ Serological Test เชื้อที่จะนำมาทดสอบ ต้องผ่านการทดสอบทาง Biochemical Test มาแล้วและทำการทดสอบต่อไปนี้

- หยด Normal saline solution (NS 0.85 %) 1หยดลงบน slide ที่สะอาด ปราศจากเชื้อ ใช้ loop เขี่ยเชื้อจาก plate NA agar ลงบนแผ่น Slide ผสมให้เข้ากัน เอียง Slide ไปมา สังเกตปฏิกิริยาการจับกลุ่ม ซึ่งจะเกิดขึ้นภายใน 30-60 วินาที โดยใช้กระดาษสีดำเป็นพื้นหลัง เพื่อให้สังเกตตะกอนได้ง่าย การทดสอบนี้ ลักษณะของเชื้อ *Salmonella* spp. ต้องไม่ตกตะกอน ถ้าเกิดตะกอนแสดงว่าเชื้อ Strains นั้นเกิด Auto-agglutination ไม่สามารถทดสอบทาง serotype ได้

- จากนั้นนำเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ให้ผลข้างต้น (ไม่ตกตะกอนกับ NS) ไปทำการทดสอบทางซีรัมวิทยากับ *Salmonella* Antiserum O Polyvalent A-I และ A-67 โดยใช้ Needle เขี่ยเชื้อจาก NA ที่ Positive จำนวนเล็กน้อยนำมาผสมกับ Antiserum บน Slide แล้ว Smear เอียง Slide กลับไปมาประมาณ 1 นาทีดูผลการเกิด Agglutination ถ้าตกตะกอนถือว่า Positive ถ้าผล Positive กับ Polyvalent A-67antiserum แสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง Group A ถึง Group 67

ถ้า Positive กับ Polyvalent A-I antiserum แสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง Group A ถึง Group I ถ้าต้องการทราบ Group นำไปทดสอบหา Group ต่อไปโดยใช้ Antigen O Group A, B, C, D และ E ถ้าพบ Positive กับ Group ใดก็แสดงว่าเป็น *Salmonella* Group นั้น

ในการทดสอบ Agglutination Test ให้ทำการทดสอบกับเชื้อ Positive control โดยใช้เชื้อ *Salmonella* และทดสอบกับเชื้อ Negative Control โดยใช้เชื้อ *E.coli* เพื่อทำการเปรียบเทียบผลกับตัวอย่างด้วย

ผลการทดสอบ Agglutination test

	A-I	A-67	A	B	C	D	E	NS
Positive control (เชื้อ *Salmonella*)	+	+	+	+	+	+	+	-
Negative control (เชื้อ *E.coli*)	-	-	-	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การอ่านผล Positive ของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ Salmonella

	TSI S / B / H_2S	LIA S / B / H_2S	Urea slant	ONPG Dise	VP	Indole
1.	R / Y / +-	1. P / P / +-	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
2.	Y / Y / +	2. P / P / +	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
3.	R / R / -	3. P / Y / -	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve

S = Slant, B = Butt, H_2S = Hydrogen sulfide, - = Negative
R = Red, Y = yellow, P = Purple, + = Positive

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. **ก็ต่อเมื่อผล** Biochemical Test **เกิดดังลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมสารฆ่าเชื้อและการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

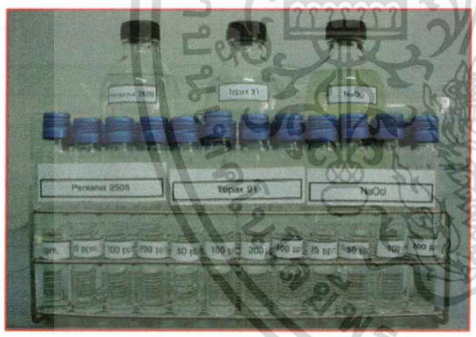
ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมสารฆ่าเชื้อและการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง

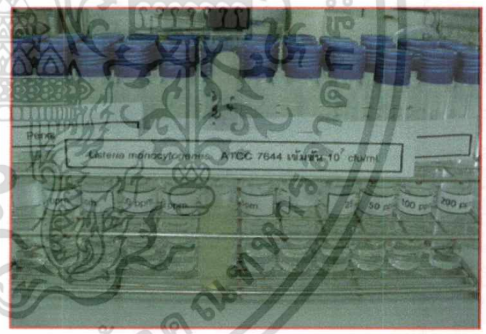
1. เตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อและอุปกรณ์

2. ผสมน้ำยาฆ่าเชื้อกับน้ำกลั่นที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

3. บรรจุน้ำยาฆ่าเชื้อลงในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 9 ml.ต่อหลอด



4. ดูดสารละลายเชื้อ *L.monocytogenes* ความเข้มข้น1x10^{7} cfu/ml ลงในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ 1 นาที, 5 นาที, 10 นาทีและ15 นาที



5. ดูดน้ำยาฆ่าเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 ml.แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อผสมให้เข้ากัน

6. นำจานเพาะเชื้อเข้าตู้บ่ม 37±1 ^{o}C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงก่อนนำออกมานับจำนวนโคโลนีของเชื้อ

ภาพที่ ข.1 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารฆ่าเชื้อและการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในหลอดทดลอง

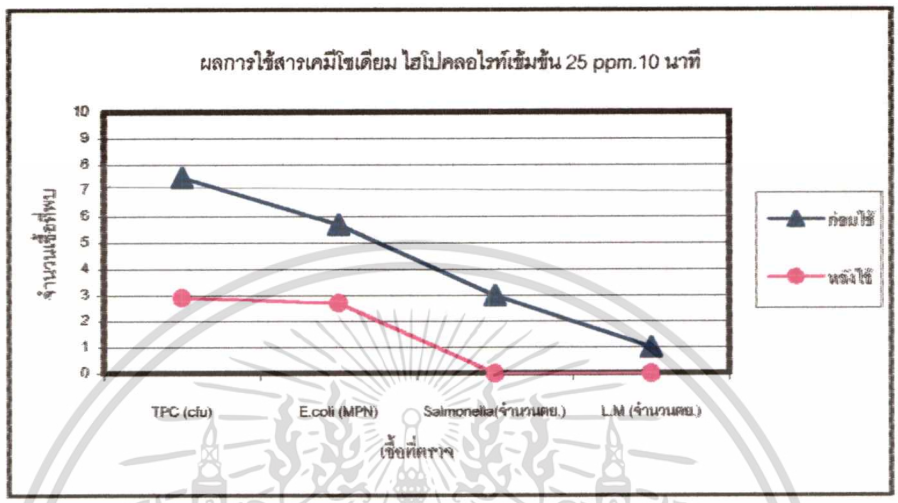
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ผลการทดลอง

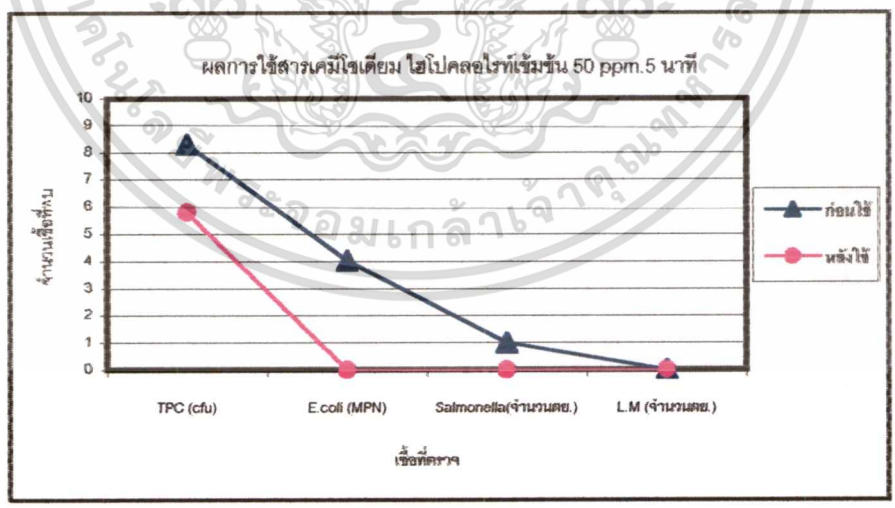
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการทดลอง

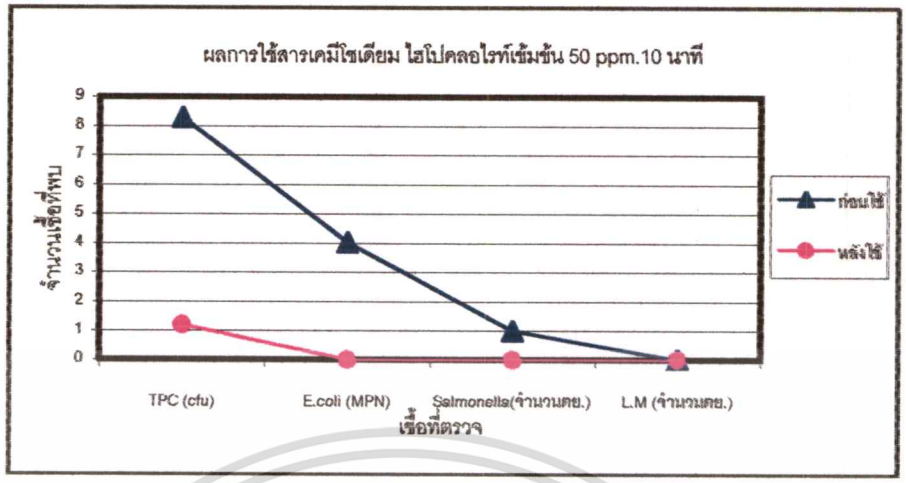


ภาพที่ ค.1 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที

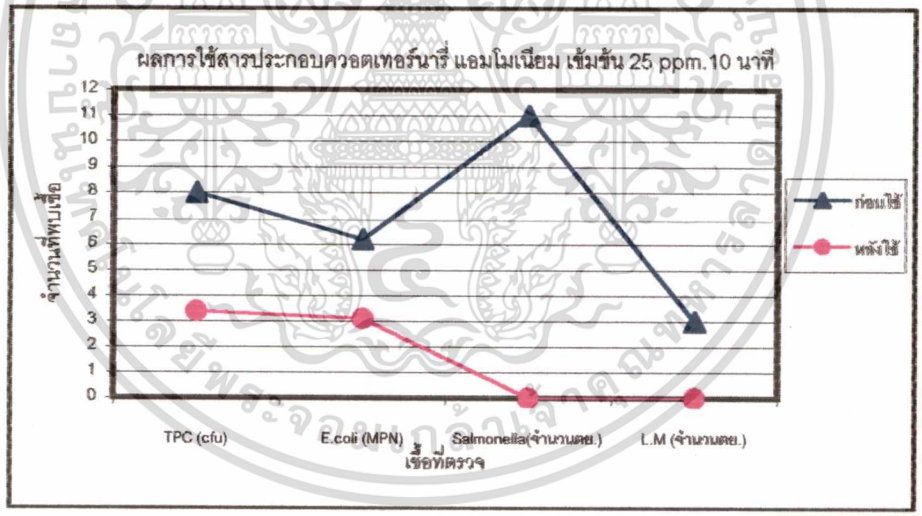


ภาพที่ ค.2 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

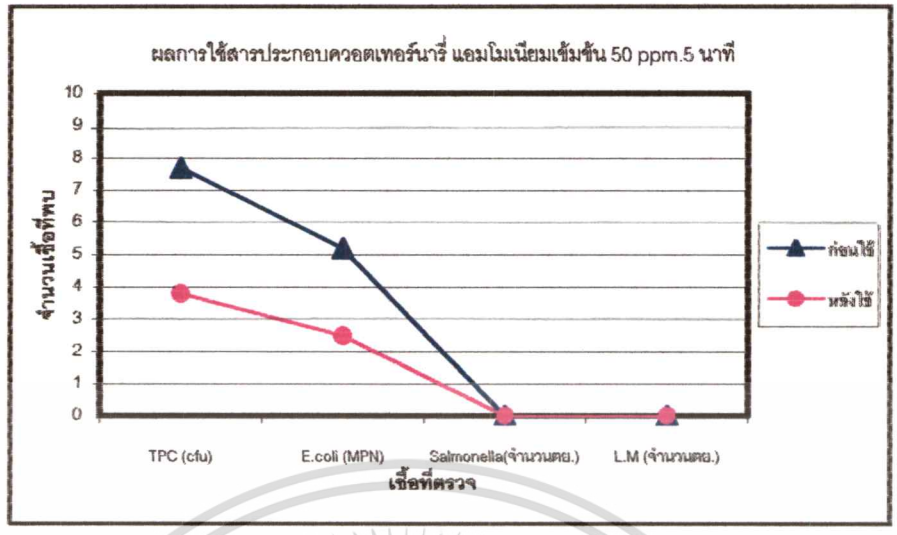


ภาพที่ ค.3 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Sodium Hypochlorite ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของถัง Chiller โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที

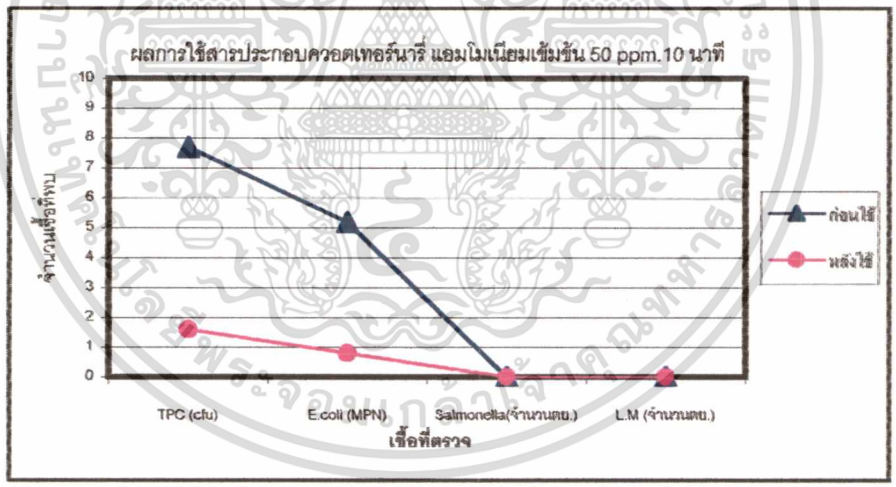


ภาพที่ ค.4 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้ Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

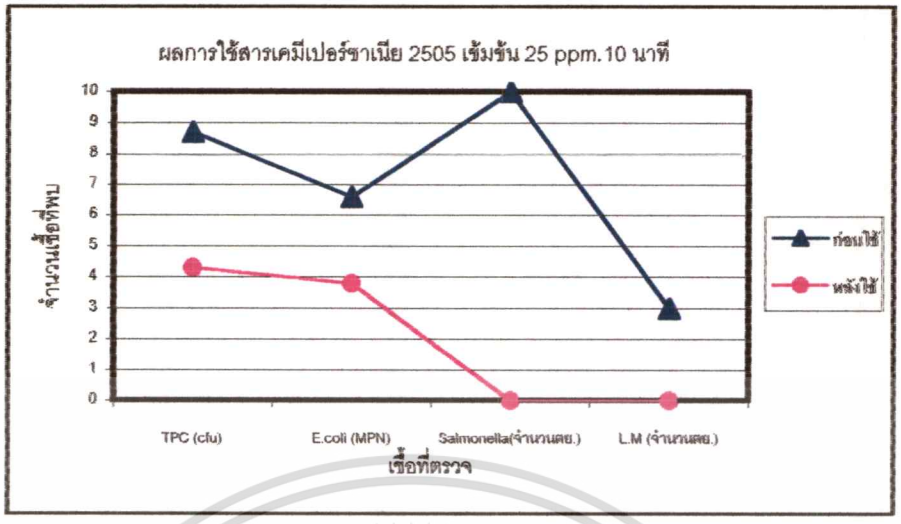


ภาพที่ ค.5 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้ Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที

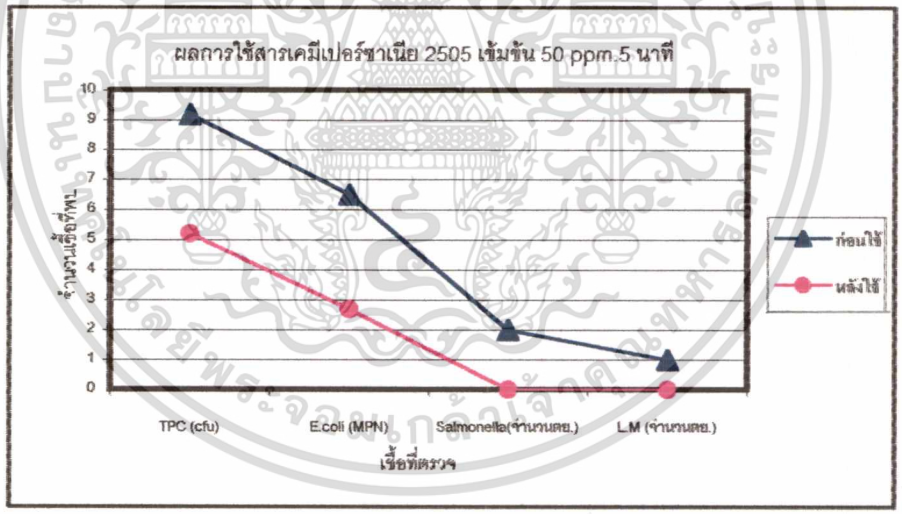


ภาพที่ ค.6 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้ Quaternary Ammonium Compound ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ Roller ใต้สายพาน โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

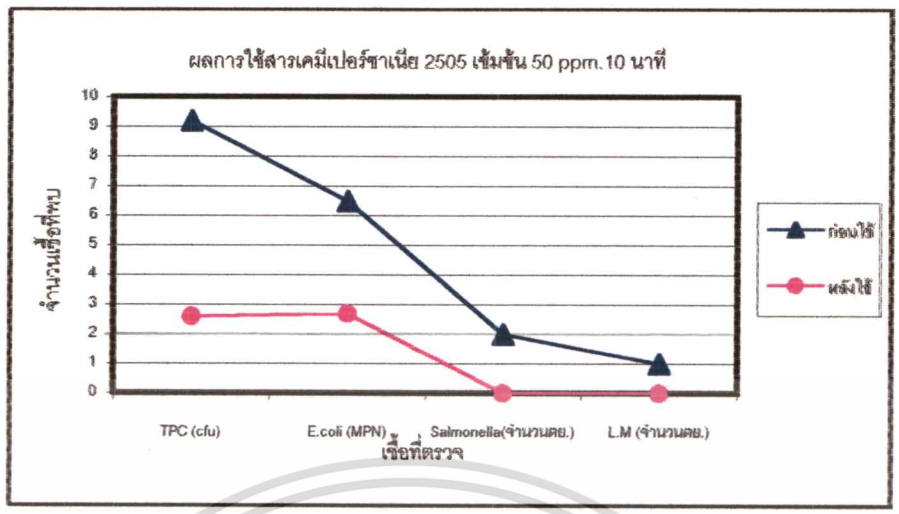


ภาพที่ ค.7 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505 ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ รางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 25 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที



ภาพที่ ค.8 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505 ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ รางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.9 การเปรียบเทียบผลการพบเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนการใช้สารเคมีและหลังการใช้สารเคมี Perxania 2505 ยับยั้งเชื้อที่พื้นผิวของ รางระบายน้ำ โดยใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

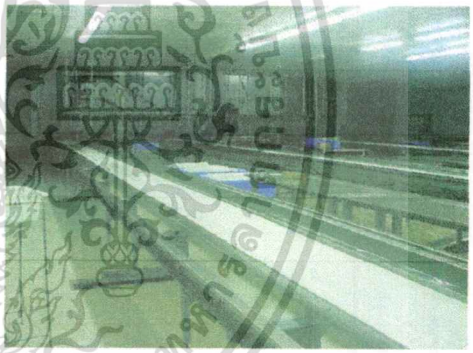
ภาคผนวก ง
สถานที่ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
สถานที่ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อ

1. พื้นผิวภายในถัง Screw Chiller

2. Roller ใต้สายพานลำเลียงชิ้นส่วนไก่



3. รางระบายน้ำ

ภาพที่ ง.1 แสดงสถานที่ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตารางแสดงมาตรฐานจำนวนเชื้อโดยวิธีการ Swab

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
ตารางแสดงมาตรฐานจำนวนเชื้อโดยวิธีการ Swab

ตารางที่ จ.1 แสดงมาตรฐานจำนวนเชื้อที่พบได้ในเครื่องมือและอุปกรณ์ ในโรงงานผลิตสัตว์ปีก โดยวิธีการ Swab

ชนิดของเชื้อ	จำนวนเชื้อ (cfu,org / ตารางเซนติเมตร)		
	ก่อนใช้งาน	ใช้งานชั่วโมงที่ 1	ใช้งานชั่วโมงที่ 2
Total Bacteria Plate Count	50	100	10,000
E.coli	0	0	10

ที่มา : ศศิธร (2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อนางสาวกิตติกานต์ บุญประสิทธิ์ เกิดวันที่ 31 กรกฎาคม พ.ศ. 2506 ที่จังหวัดนครสวรรค์ ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาส่งเสริมและสื่อสารการเกษตร จากมหาวิทยาลัยราชภัฏฉะเชิงเทรา ในปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาสุขาภิบาลอาหาร ที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีพ.ศ.2546 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) ในปีการศึกษา 2548

ประวัติการทำงาน

ปีพ.ศ. 2532 ปฏิบัติงานในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ ที่กองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์

ปีพ.ศ. 2534 ปฏิบัติงานในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ ที่บริษัทศรีไทยฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน)

ปีพ.ศ. 2541 ปฏิบัติงานในตำแหน่งผู้จัดการฝ่ายห้องปฏิบัติการ, ผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพและผู้จัดการฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ ที่บริษัทศรีไทยฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน)

ปัจจุบัน (ปีพ.ศ.2548) ปฏิบัติงานในตำแหน่งผู้จัดการฝ่ายควบคุมคุณภาพ ที่บริษัท ซี เอฟ พี จำกัดและผู้จัดการฝ่ายห้องปฏิบัติการ ที่บริษัทไทยโพลทรีย์ กรุ๊ป จำกัด ซึ่งเป็นบริษัทในเครือของบริษัท ฉวีวรรณ กรุ๊ป จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้