ผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิวสำหรับการเตรียมอาหาร

EFFECT OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUND ON INHIBITION OF *Staphylococcus aureus* ON FOOD PREPARATION SURFACES

วรากรณ์ กูลสวัสดิ์
WARAKORN KULSAWAD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2564
KMITL-2021-FI-M-054-392

ผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิวสำหรับการเตรียมอาหาร

EFFECT OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUND ON INHIBITION OF *Staphylococcus aureus* ON FOOD PREPARATION SURFACES

วรากรณ์ กูลสวัสดิ์

WARAKORN KULSAWAD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2564
KMITL-2021-FI-M-054-392

EFFECT OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUND ON INHIBITION OF *Staphylococcus aureus* ON FOOD PREPARATION SURFACES

WARAKORN KULSAWAD

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF FOOD SAFETY MANAGEMENT
SCHOOL OF FOOD-INDUSTRY
KING MONGKUT’S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2021
KMITL-2021-FI-M-054-392

COPYRIGHT 2021

SCHOOL OF FOOD-INDUSTRY

KING MONGKUT’S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิวสำหรับการเตรียมอาหาร
นักศึกษา	นางสาววรากรณ์ กูลสวัสดิ์
รหัสประจำตัว	58608055
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาการศึกษา	ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร ทำการสำรวจเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารและสภาพแวดล้อมในการปฏิบัติงานจริง โดยเก็บตัวอย่างบนพื้นผิวการเตรียมอาหารในห้องครัวทั้งสามห้อง พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count: TPC) พบมากที่สุดในห้องครัวของ ห้องอาหาร (LK) จุดที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 1.7×10^2 และจุดที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 1.5×10^6 cfu/cm^2 รองลงมาคือห้องครัวทำขนมอบ (PT) และห้องจัดเตรียมเนื้อสัตว์ (BC) ตามลำดับ และยังพบเชื้อ *E.coli* บนพื้นผิวที่ห้องครัว PT เกินกว่าเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของภาชนะสัมผัสอาหารและพื้นผิวสัมผัสอาหาร แต่ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่น จากผลการเก็บตัวอย่างมือของพนักงานผู้สัมผัสอาหารของห้องครัวทั้งสามห้อง พบว่า มือก่อนล้างของพนักงานของห้อง BC และ พนักงานของห้อง PT มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่ามาตรฐาน และพบว่ามือก่อนล้างของพนักงานของห้อง BC มีการปนเปื้อนของ Coliforms เกินกว่าเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาบนผิวมือของผู้สัมผัสอาหาร เมื่อพนักงานล้างมือแล้ว พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง โดยเชื้อ *Staph. aureus*, *E. coli* และ Coliforms ไม่เกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นผิวการเตรียมอาหาร พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Staph. aureus* และ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 72.7 และ 35.7 cfu/cm^2 ตามลำดับ ที่ห้องครัว LK ซึ่งทั้งหมดนั้นไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของเชื้อจุลินทรีย์ที่ระบุไว้ สรุปได้ว่า *Staph. aureus* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลักในผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้เช็ดพื้นผิวการเตรียมอาหารของ LK จากนั้นนำเชื้อ *Staph. aureus* มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ชื่อทางการค้าคือ ซูม่า เจ 512 (Suma J-512) ในหลอดทดลอง ที่ความเข้มข้น 0 100 200 และ 400 ppm และระยะเวลาในการสัมผัสที่ 1 5 10 และ 15 นาที พบว่า ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log CFU/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้หมด ร้อยละ 100.0 ที่ความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อเริ่มต้นที่ 100 ppm ระยะเวลาสัมผัสเริ่มที่ 1 นาที และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7 log CFU/ml สามารถยับยั้งเชื้อได้มากที่สุด คือร้อยละ 46.90 ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 400 ppm

ระยะเวลาสัมผัสที่ 15 นาที จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 ที่ความเข้มข้น 200 ppm และระยะเวลาสัมผัสที่ 10 นาที ในการปฏิบัติงานจริง ด้วยวิธีการชุบเช็ดและสเปรย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัว LK พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวการเตรียมอาหารและผ้าไมโครไฟเบอร์หลังการทำความสะอาดโดยวิธีการชุบเช็ด ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารฆ่าเชื้อ Suma J-512 มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวการเตรียมอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการปนเปื้อนข้ามไปสู่อาหาร

Thesis	Effect of quaternary ammonium compound on inhibition of *Staphylococcus aureus* on food preparation surfaces
Student	Ms. Warakorn Kulsawad
Student ID.	58608055
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2021
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Aphacha Jindaprasert

ABSTRACT

To study the effect of quaternary ammonium compound on inhibition of *Staphylococcus aureus* on food preparation surfaces. Investigate microbial contamination in three kitchens of a hotel (butcher, pastry and dining kitchen). The preparation tables, staff's hands both (before and after hand washing) and microfiber cloths were all sampled and examined for total count and some food pathogens. The results showed that maximum total viable count at dining kitchen (LK) was detected at preparation tables in the range of 1.7×10^{2} (Area 1) and 1.5×10^{6} cfu/cm^{2}(Area 2), while total viable count were detected at pastry kitchen (PT) and butcher kitchen (BC), respectively. *Escherichia coli* at PT were exceeded the microbiological quality standards announced for food and food contact surfaces, but other pathogens were not detected. Prewashed hands of BC and PT's staff have a total viable count and prewashed hands of BC's staff were detected to have coliforms which exceeded the standard of announcement of the microbiological quality standard of hands of food handler. After staff washing, it was revealed that total viable count was found to be decreased. Furthermore, *Staph. aureus*, *E. coli* and Coliforms were not found, which it is taken into account below the standard. *Staph. aureus* and Coliforms were detected in LK microfiber cloth at an average concentration of 72.7 and 35.7 CFU/cm^{2}, respectively. No pathogens were not identified. It was concluded that *Staph. aureus* was the predominant pathogenic microorganism contained in the microfiber cloths used to wipe the preparation tables of LK. The disinfectant effect of Suma J-512, commercial every quaternary ammonium compound, at concentrations of 0, 100, 200 and 400 ppm to inhibit *Staph. aureus* and the exposure times 1, 5, 10 and 15 mins. The results indicated that the minimum concentrations of 100 ppm and the minimum exposure times 1 mins could completely eliminate the 100 percent of the initial *Staph. aureus* cell 3 log CFU/ ml while the maximum concentrations of 400 ppm and the exposure duration of 15 mins reduce the initial *Staph. aureus* cell 7 log CFU/ml by 46.9 percent. The spray and wipe approach were employed to clean the preparation table surface in the dinning kitchen with Suma J-512 disinfectant at 200 ppm and a 10 mins exposure time. The findings of this study show that Suma J-512 disinfectant has a high level of efficacy in disinfecting surfaces and preventing bacteria from spreading and contaminate to food.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางการวิจัย ตลอดจนการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อังคณา วิภาตนาวิน ประธานการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผศ.ดร.ภาวินี ดีแท้ และ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ประจำคณะอุสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบปกป้องวิทยานิพนธ์ และได้กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตลอดจนตรวจทานและแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับบนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน รวมถึงเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร คุณกัญญาวีร์ โกลากุล คุณวิไลลักษณ์ จั่นจำรูญ คุณธิติมา กุลธีระวัช คุณหิรัรัตน์ นิ่มประเสริฐ คุณปาณิสา เรืองไทย คุณฉฎาธร ชะเอม ที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดการศึกษา คอยให้กำลังใจและคอยให้คำแนะนำในการทำวิจัยนี้มาตลอด

ขอขอบคุณคุณนิอัลมาส สามีอลา และ คุณวิภาวี ใยโพธิ์ทอง ที่คอยให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคุณปราการ กูลสวัสดิ์ (บิดา) คุณทิพาพร กูลสวัสดิ์ (มารดา) คุณลักขณา กูลสวัสดิ์ (ป้า) ที่คอยช่วยเหลือสนับสนุนทั้งด้านกำลังใจ และทุนทรัพย์ ตลอดมาจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ คุณอรจิรา กูลสวัสดิ์ คุณนิรัติศัย กูลสวัสดิ์ และคุณทวีวัฒน์ พฤกษ์ศรีตระกูล ที่คอยให้กำลังใจ คอยช่วยเหลือ และคอยดูแลข้าพเจ้าเป็นอย่างดีมาตลอด

สำหรับประโยชน์อันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าวมาข้างต้น ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ โอกาสนี้

วรากรณ์ กูลสวัสดิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย……………………………………………………………………I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ………………………………………………………………III
กิตติกรรมประกาศ……………………………………………………………………...V
สารบัญ…………………………………………………………………………...VI
สารบัญตาราง……………………………………………………………………..IX
สารบัญภาพ………………………………………………………………………X

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ……………………………………………………...........1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย…………………………………………………...........2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย……………………………………………………………...3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ………………………………………………………….3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 *Staphylococcus aureus*……………………………………………………………...4
2.1.1 การปนเปื้อนของ *Staph. aureus*………………………………………………4
2.1.2 การเกิดโรคของ *Staph.* aureus………………………..5
2.1.3 การควบคุมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของ *Staph. aureus*……………………………5
2.2 การบริการอาหารของธุรกิจโรงแรม…………………………………………….......5
2.2.1 เส้นทางเดินอาหารภายในโรงแรม……………………………………………….8
2.2.2 ระบบการจัดการความปลอดภัยของอาหารภายในโรงแรม………………………...9
2.3 การทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อ………………………………………….........13
2.3.1 การทำความสะอาด……………………………………………………………...13
2.3.2 การฆ่าเชื้อ……………………………………………………………………….13
2.3.3 สารฆ่าเชื้อ……………………………………………………………………….15
2.3.4 มาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร…………………...................16
2.4 สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม……………………………………..17
2.4.1 ประเภทของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียม………………………………………..17
2.4.2 กลไกการยับยั้งเชื้อของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม…………......18
2.4.3 สารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512)……………………….................................20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……………………………………………………………………..22

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ……………………………………………………………………..27
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี…………………………………………………….............28
3.3 ขั้นตอนการทดลอง……………………………………………………………………..30
3.3.1 การสำรวจเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารสภาพแวดล้อม………………….30
3.3.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารี แอมโมเนียม ต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง………………………35
3.3.2.1 วิธีการเตรียมเชื้อ…………...35
3.3.2.2 การเตรียมสารเคมี………………………………………………………….36
3.3.2.3 การทดสอบผลของสารฆ่าเชื้อการเหลือรอดของเชื้อ *Staph. aureus*…………36
3.3.2.4 การตรวจวัดค่าความเป็นกรดด่างและความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ในหลอดทดลอง…………………………………………………………..37
3.3.2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ…………………………………………………………37
3.3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการ เตรียมอาหาร…………...38
3.3.3.1 การเตรียมผ้าไมโครไฟเบอร์………………………………………………..38
3.3.3.2 ขั้นตอนการศึกษาในพื้นผิวการเตรียมอาหารใน การปฏิบัติงานจริงเปรียบเทียบวิธีการเช็ดโดยการสเปรย์และการชุบเช็ด…….38
3.3.3.3 การตรวจหาจุลินทรีย์ที่เหลือรอดบนผ้า……………………………………..39
3.3.3.4 การทดสอบประสิทธิภาพบนผิวการเตรียมอาหาร ในการปฏิบัติงานจริงด้วยสารฆ่าเชื้อที่เหมาะสม………………………………39

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการสำรวจเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารและสภาพแวดล้อม…………………41
4.2 ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าประเภทควอเทอร์นารี แอมโมเนียม ต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง……………………………..48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารในการปฏิบัติงานจริง……………………………………….52

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง……………………………………………………………….56
5.2 ข้อเสนอแนะ……………………………………………………………..........57
บรรณานุกรม…………………………………………………………………………58

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Staph. aureus*……………………………………….66
ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา……………….67
ภาคผนวก ค การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี…………………………………………………74
ภาคผนวก ง เอกสารข้อมูลความปลอดภัย...75
ประวัติผู้เขียน………………………………………………………………………….82

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ลักษณะของสิ่งสกปรก……………………………………………………………………...14

2.2 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของภาชนะสัมผัสอาหารและพื้นผิวสัมผัสอาหาร………………16

3.1 วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ก่อโรค………………………...32

3.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ…………………………...34

3.3 ปริมาตรสารในหลอดทดลองที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ
ต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* ………………………………………………36

4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในสภาพแวดล้อมของห้องครัว………………………………………41

4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนพื้นผิวการเตรียมอาหารและผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาด
พื้นผิว (CFU/cm^2)………………………………………………………………………43

4.3 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนพื้นผิวการเตรียมอาหารและผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาด
พื้นผิว (CFU/cm^2)………………………………………………………………………44

4.4 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนมือของพนักงาน (CFU/hand)……………………………………....46

4.5 ผลของความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) และระยะเวลาในการ
สัมผัสต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 3.43 log CFU/ml
ในหลอดทดลอง………………………………………………………………………….50

4.6 ผลของความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) และระยะเวลาในการ
สัมผัสต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7.97 log CFU/ml
ในหลอดทดลอง………………………………………………………………………..51

4.7 ผลการตรวจเชื้อ Coliforms จากการสวอปพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัวเปรียบเทียบ
วิธีการทำความสะอาดโดยการสเปรย์และการชุบเช็ดสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้ง
เชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิว………………………………………………………………….53

4.8 ผลการตรวจเชื้อ Coliform จากการสวอปพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัว
ในการปฏิบัติงานจริงโดยวิธีความสะอาดด้วยการชุบเช็ดสารฆ่าเชื้อ
ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิว……………………………………………………..54

ภาคผนวก ก.1 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นจากการเลี้ยงเชื้อ *Staph. aureus*……………………………......66

ภาคผนวก ข. 1 เกณฑ์การตัดสินความสะอาด………………………………………………73

ภาคผนวก ง. 1 ตารางแสดงองค์ประกอบของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512…………………………….75

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 เส้นทางการเดินอาหารของห้องอาหารภายในโรงแรม……………………………………...10

2.2 ความสัมพันธ์ของเส้นทางเดินอาหารจากฟาร์มสู่โต๊ะ…………………………………….12

2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มควอเทอร์นารีแอมโมเนียม…………………………………17

2.4 โครงสร้างของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 1……………………………..18

2.5 โครงสร้างของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 2……………………………..19

2.6 กลไกของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (QACs) ในการเข้าทำลายผนังเซลล์ของเชื้อ………...19

2.7 กลไลการเข้าทำปฏิกิริยาของสาร QACs บริเวณผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์……………………21

2.8 โครงสร้างทางเคมีของอัลคิลไดเมทิลเอทิลเบนซิลแอมโมเนียมคลอไรด์………………………22

3.1 ระดับการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบและการเกิดตะกอนสีดำ………………………………...40

4.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100X) ของเชื้อ *Staph. aureus* ที่ผ่านการตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA ที่แยกได้จากตัวอย่างผ้า……………………45

4.2 การเปรียบเทียบ Phylogenetic จาก Genbank ของเชื้อ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากผ้าเช็ดทำความสะอาดของห้อง LK……………………………………………………………....45

ภาคผนวกที่ ง. 1 ขวดสารฆ่าเชื้อ ซูม่า เจ 512…………………………………………………...76

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

โรคติดต่อทางเดินอาหารในกลุ่มประเทศที่อยู่ในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย มีความเสี่ยงที่จะมีการเจ็บป่วยของโรคทางเดินอาหารได้ง่ายกว่าประเทศในเขตหนาวเนื่องจากสภาพอุณหภูมินั้นเอื้อต่อการเจริญของเชื้อโรคต่าง ๆ โรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) เป็นอีกหนึ่งโรคที่ถูกจัดให้เป็นโรคเฝ้าระวังตามพระราชบัญญัติควบคุมโรคติดต่อพ.ศ. 2558 และยังถือเป็นโรค 1 ใน 10 อันดับแรกที่มีอัตราการป่วยมากที่สุด โดยการป่วยโรคนี้ในประเทศจะมีทั้งปี สาเหตุของการเกิดโรคนั้นมากจากการรับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ อาหารค้างคืน สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบอาหาร เชื้อแบคทีเรียที่พบว่าเป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ *Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus* spp. และ *Salmonella* spp. ตามลำดับ นอกจากนี้ในช่วงปีพ.ศ. 2560-2562 พบว่ายังมีเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นั่นคือ Rotavirus และ Norovirus ที่เป็นอีกหนึ่งสาเหตุของการเกิดโรค และพบว่าแหล่งปนเปื้อนของอาหารที่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมีโอกาสสูงที่จะพบไวรัสดังกล่าวด้วย และเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีแหล่งสะสมของเชื้อการเกิดโรคจะร้ายแรงกว่าปกติ จากสาเหตุข้างต้นกรมควบคุมโรค (2562) ได้วิเคราะห์ว่าสาเหตุหลัก ๆ ของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษคือมาจากสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบอาหาร วัตถุดิบที่นำมาประกอบอาหารไม่มีคุณภาพ รวมถึงสภาพแวดล้อมของบริเวณประกอบอาหารไม่มีความสะอาดและปลอดภัย (กรมควบคุมโรค, 2562) ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งที่ผู้ประกอบธุรกิจอาหารจะต้องตระหนักและมีส่วนร่วมรับผิดชอบต่อความปลอดภัยของอาหารที่ให้บริการ และเพื่อเป็นการป้องกันในระยะยาว รัฐบาลจึงกำหนดหนึ่งนโยบายสำคัญเกี่ยวข้องกับสุขภาพของคนไทย โดยนโยบายดังกล่าวได้เริ่มใช้กันมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 นั่นคือ นโยบายด้านความปลอดภัยด้านอาหารที่ทัดเทียมระดับสากลเพื่อนำไปสู่การเป็นครัวอาหารของโลก (ปวีณา, 2556) ทำให้ผู้ผลิตอาหารต้องนำระบบ Good Manufacturing Practice หรือ GMP และระบบ Hazard Analysis and Critical Control Points หรือ HACCP มาใช้ในการควบคุมกระบวนการการผลิต ทั้งในระบบโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร หรือแม้แต่ในห้องอาหารภายในโรงแรม เพื่อให้เกิดความทัดเทียม กับกฎระเบียบของนานาประเทศ เนื่องจากในปัจจุบัน โรงแรมไม่เพียงมีแค่ห้องพักสำหรับให้บริการเท่านั้น ยังมีห้องอาหารหลากหลายให้ใช้บริการ รวมทั้งการบริการการจัดงานเลี้ยง งานอีเว้นท์ต่าง ๆ มากมาย ทางโรงแรมจึงต้องพัฒนาคุณภาพและการดูแลระบบความปลอดภัยของอาหารให้ตอบโจทย์ผู้บริโภค ทางโรงแรมจึงต้องคำนึงถึงหลักความปลอดภัยของอาหารเป็นสำคัญ มุ่งเน้นในการรักษาสุขอนามัยส่วนบุคคล การบำรุงรักษา การให้

ความรู้ความเข้าใจแก่พนักงาน รวมถึงการเคร่งครัดเกี่ยวกับระบบการดูแลรักษาความสะอาดและการฆ่าเชื้อ เพื่อให้มั่นใจว่าอาหารที่ถูกเสิร์ฟไปให้แก่ผู้บริโภค มีคุณภาพที่ดี และปลอดภัย

ทางโรงแรมจึงได้มีการจัดทำระบบ HACCP ที่มีระบบ GMP เป็นหลักการทั่วไปว่าด้วยสุขลักษณะอาหารของ Codex Alimentarius หรืออาจเรียกว่า โปรแกรมพื้นฐาน (Pre-requisite program) ในการจัดการด้านความพร้อมของสภาวะแวดล้อมในกระบวนการผลิต เช่น การจัดการด้านอาคารสถานที่ผลิต สุขลักษณะส่วนบุคคล การควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค การทำความสะอาดสถานที่ผลิต เครื่องจักรรวมทั้งอุปกรณ์การผลิต การควบคุมน้ำใช้ในโรงงาน การระบุและการทวนสอบกลับผลิตภัณฑ์ และการเรียกผลิตภัณฑ์คืน เป็นต้น ในขณะที่ HACCP เป็นการจัดการด้านการควบคุมกระบวนการผลิต (Process Control) โดยเน้นการจัดการจุดที่ได้มีการวิเคราะห์แล้วว่าเป็นจุดที่สำคัญหรือจุดวิกฤตในการควบคุมอันตรายไม่ให้ไปสู่ผู้บริโภค (เศรษฐศิลป์, 2560)

หนึ่งในหลักการที่สำคัญของ GMP คือ การทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือที่มีการสัมผัสกับอาหาร ในขณะที่สุขลักษณะส่วนบุคคลของพนักงานที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตอาหาร อาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนโดยตรงและการปนเปื้อนข้าม ซึ่งการปนเปื้อนดังกล่าวเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และส่งผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

จากที่กล่าวมา ในการทำความสะอาดบริเวณพื้นที่การเตรียมอาหารภายในโรงแรม มีการตรวจพบ *Staphylococcus aureus* จากการ swab test บนพื้นผิวบริเวณที่ประกอบอาหาร ถึงแม้จะมีการทำความสะอาดด้วยผ้าที่มีการชุบสารฆ่าเชื้อแล้วก็ตาม เพื่อลดอันตรายหรือความเสี่ยงในการเกิดอาหารเป็นพิษของผู้รับบริการ งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาสภาวะและวิธีการทำความสะอาดที่เหมาะสม ในการยับยั้ง *Staph. aureus* ของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ชื่อทางการค้าคือสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) (Diversey, Thailand) บริเวณพื้นที่การเตรียมอาหารในการปฏิบัติงานจริง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวบริเวณพื้นที่การเตรียมอาหาร

1.2.2 ศึกษาเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง

1.2.3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ในสภาวะ และวิธีการทำความสะอาดที่เหมาะสม ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารในการปฏิบัติงานจริง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการสำรวจชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวบริเวณพื้นที่การเตรียมอาหารในโรงแรม ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 พร้อมทั้งทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลองที่ได้จากการสำรวจจากพื้นผิวพื้นที่การเตรียมอาหาร โดยจะทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ที่ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 3 log และ 7 log CFU/ml ส่วนความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ที่ใช้ในการทดสอบมีความเข้มข้น 0 100 200 400 ppm โดยมีระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อที่ 1 5 10 และ 15 นาที ตามลำดับ จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอด และคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อในหลอดทดลอง ก่อนนำสภาวะดังกล่าวมาทดสอบการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวที่มีการเตรียมอาหารจริง โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างการสเปรย์สารฆ่าเชื้อลงบนพื้นผิวกับชุบเช็ดด้วยสารฆ่าเชื้อเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการทำความสะอาด และตรวจเชื้อที่เหลือรอดบนพื้นผิวการเตรียมอาหารและบนผ้าหลังการเช็ด เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ในการยับยั้งเชื้อบนพื้นผิวการเตรียมอาหารในสภาวะจริง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวสำหรับการเตรียมอาหาร

1.4.2 ทราบความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ในการยับยั้งของเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง

1.4.3 ทราบวิธีที่เหมาะสมในการใช้สารฆ่าเชื้อระหว่างการฉีดพ่นกับการชุบเช็ด

1.4.4 นำไปใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อในพื้นที่การผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staph. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทีมีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองทอง แต่บางครั้งอาจพบเป็นสีครีมได้ สีเกิดจากสารประกอบพวกคาโรทีนอยด์ (carotenoid) เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่จะเจริญได้ดีในสภาพมีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า water activity (Aw) ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจนประมาณ 0.90 (Todar, 2005) ส่วนใหญ่จำแนกเชื้อ *Staph. aureus* จากเชื้อชนิดอื่น ๆ ของ *Staphylococcus* โดยใช้ความสามารถในการทำให้พลาสมา แข็งตัวเนื่องจากการสร้างเอนไซม์โคแอคกูเลส (coagulase) (Easmon and Goodfellow, 1990)

2.1.1 การปนเปื้อนของ *Staph. aureus*

Staph. aureus มักพบอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ มนุษย์และสัตว์ จึงเป็นแหล่งของเชื้อชนิดนี้ (FDA, 2012) โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึงร้อยละ 50 หรือมากกว่านี้ในคนทีมีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ร้อยละ 60-80 ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหารรวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอก ซึ่งนับเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน อีกสาเหตุหนึ่ง คือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิทีไม่เหมาะสม ส่งผลให้อาหารทีมีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว มีการเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษได้อย่างรวดเร็ว (ศิวาพร, 2542)

มักพบเชื้อ *Staphylococcus* ในคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยเฉพาะในคนที่มีลักษณะการผิดปกติทางผิวหนัง เช่นเป็นฝี แผลอักเสบ แผลผ่าตัด เป็นต้น เชื้อนี้ยังพบได้ในสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข เป็ด ไก่ วัว ควาย หมู ห่าน และในอาหารสัตว์ *Staph. aureus* สามารถทำให้เกิดโรค mastitis ในสัตว์ *Staph. aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง Enterotoxin ที่พบในสัตว์จะมีน้อยกว่าสายพันธุ์ที่พบในคน (Alberton และคณะ 2001)

Staph. aureus เป็นเชื้อที่ก่อโรคที่สำคัญที่ผิวหนัง คนที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ไม่ได้พบเฉพาะคนที่กำลังเป็นโรคนี้เท่านั้น แต่พบในคนปกติด้วย นอกจากนี้เชื้อ *Staph. aureus* ยังพบตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้อีก เช่น ผิวหนังจมูก และผม บางครั้งพบในอุจจาระด้วย จมูกเป็นอวัยวะที่สามารถพบเชื้อ *Staph. aureus* มากที่สุด พบว่าในโพรงจมูกมีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^3 CFU/swab ทำให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารได้ง่าย (Varnam และ Evan, 1991)

Chokesajjawatee และคณะ (2009) กล่าวว่า *Staph. aureus* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่แพร่หลายมากที่สุดแห่งหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นอาหารทั่วโลก โดยอาการเป็นพิษเกิดจากการกินอาหารที่มีสารพิษ enterotoxins staphylococcal (SEs) ที่เชื้อสร้างขึ้นซึ่งเป็นสารพิษที่ทนความร้อน จึงเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคเมื่อรับประทานเข้าไป

การบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *Staph. aureu*s ที่สามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Staphylococcal food poisoning) ได้นั้น จะต้องมีปริมาณของแบคทีเรียดังกล่าวอยู่มากกว่าหรือเท่ากับ 10^6 CFU/g ของอาหาร (Bello และคณะ, 2013)

2.1.2 การเกิดโรคของเชื้อ *Staph. aureu*s

Foster และ Geoghengan (2015) รายงานว่า *Staph. aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปในมนุษย์ 20%สามารถก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ ส่วนใหญ่ที่ก่อโรคในมนุษย์นั้นสามารถทนต่อยาปฏิชีวนะชนิด Methicillin หรือ Methicilin-resistance *Staph. aureus* (MRSA) ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบบ่อยในการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยชนิดนี้มีความสามารถในการสร้างสารไบโอฟิล์ม (Biofilm) ออกมาปกป้องผนังเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายต่อสารฆ่าเชื้อหรือยาปฏิชีวนะได้ง่าย พบว่าการเกิดโรคจาก *Staph. aureus* ของมนุษย์นั้นมีสาเหตุหลักมาจากการปนเปื้อนของเชื้อที่มีการสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) แล้วขับออกมาสู่ภายนอกเซลล์ ปนเปื้อนอยู่กับอาหาร เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วอาหารสามารถห่อหุ้มสารพิษและเข้าสู่บริเวณทางเดินอาหารก่อความเป็นพิษได้

2.1.3 การควบคุมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของ *Staph. aureus*

Staph. aureus บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึง 143.3 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9 วินาที ได้ ดังนั้น อุณหภูมิในการหุงต้มธรรมดาหรืออุณหภูมิน้ำเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ (ศิวาพร, 2542)

2.2 การบริการอาหารของธุรกิจโรงแรม

ในปัจจุบันการเดินทางเพื่อการติดต่อธุรกิจ และการท่องเที่ยวขยายตัวขึ้น เพราะความเจริญก้าวหน้าทางด้านเศรษฐกิจ ซึ่งมีความจำเป็นต้องติดต่อธุรกิจเชื่อมโยงกันทั่วโลก และการพัฒนาด้านเทคโนโลยีเกี่ยวกับการขนส่ง จึงทำให้การเดินทางเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว ปลอดภัย สะดวกสบายมากขึ้นกว่าเดิม การเดินทางเพื่อการท่องเที่ยวก็ได้ขยายตัวขึ้นมาก เนื่องจากการพัฒนาของระบบการ ขนส่ง ระบบธุรกิจในปัจจุบัน มีวันหยุดมากขึ้น และความต้องการพักผ่อนหย่อนใจ เหตุผลดังกล่าว แล้วจึงได้เกิดการสร้างที่พักแรมหลายประเภทเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคซึ่งหลากหลาย ไปตามความสัมพันธ์ระหว่างที่ประเภทของที่พักแรมกับการเดินทาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเดินทาง เพื่อการท่องเที่ยว (ขวัญชนก, 2559)

ความหมายของโรงแรมตามพระราชบัญญัติโรงแรมพ.ศ.2478 มาตรา 3 ได้ให้ ความหมายว่า “โรงแรม หมายถึง บรรดาสถานที่ทุกชนิดที่จัดตั้งขึ้นเพื่อรับสินจ้างสาหรับคนเดินทาง หรือบุคคลที่จะหาที่อยู่หรือที่พักชั่วคราว” (พระราชบัญญัติโรงแรม พ.ศ. 2478 มาตรา 3) จาก ความหมายดังกล่าวแล้ว โรงแรมจึงหมายถึงสถานที่ทุกประเภทอาจเรียกชื่อว่า โรงแรม หรือไม่เรียกชื่อโรงแรม เช่น อาจเรียกว่า รีสอร์ท (Resorts) หรือบ้านพักตากอากาศ แต่จัดบริการเพื่อเรียก เก็บค่าเช่า และอาจจัดบริการอื่น ๆ ประกอบด้วย เช่น บริการด้านอาหารและเครื่องดื่ม การซักรีด การขายสินค้าที่ระลึก ฯลฯ ก็เป็นลักษณะของโรงแรมทั้งสิ้น และความหมายของโรงแรมในสากล ก็มีลักษณะคล้ายกับโรงแรมในความหมายของไทย แต่ได้ยกตัวอย่างการบริการประกอบความหมาย ชัดเจนกว่า เช่น ได้ให้ความหมายว่า โรงแรม คือ สถานประกอบการที่ผู้ให้บริการต้องจัดให้มีบริการ ด้านอาหาร เครื่องดื่ม และที่พักไว้บริการแก่นักเดินทางที่ต้องจ่ายค่าบริการ หรือโรงแรม คือ สถานที่ ซึ่งจัดบริการด้านที่พักอาศัย และสิ่งอำนวยความสะดวกให้แก่นักเดินทาง (ขวัญชนก, 2559) จะเห็นได้ว่าโรงแรมในเขตกรุงเทพมหานครมีการแข่งขันที่สูงมาก เนื่องจากเป็นเขตรวมแหล่งธุรกิจ และการท่องเที่ยวต่าง ๆ ไว้ด้วยกัน ทำให้ธุรกิจของโรงแรมไม่ได้มุ่งเน้นเพียงเพื่อบริการห้องพักแก่ผู้รับบริการเท่านั้น ยังให้บริการเกี่ยวกับห้องจัดเลี้ยง และห้องอาหาร เพื่อสร้างความโดดเด่นและเป็นเอกลักษณ์ให้แก่โรงแรมเพื่อดึงดูดผู้ใช้บริการ ไม่เพียงแค่ชาวต่างชาติแต่ยังสามารถดึงดูดผู้คนที่มีความหลงไหลเกี่ยวกับการบริการอาหารและเครื่องดื่ม ที่มองหาประสบการณ์ใหม่ ๆ ที่อาจหาไม่ได้ในร้านอาหารธรรมดาทั่วไป ปัจจุบันเห็นได้ชัดว่ามีโรงแรมที่ประกอบไปด้วยสถานบริการอาหารและเครื่องดื่มเกิดขึ้นเป็นอย่างมาก อยู่ในหลากหลายรูปแบบ หากต้องการแบ่งประเภทของสถานบริการอาหารและเครื่องดื่มภายในโรงแรมออกมาศึกษาในรายละเอียด สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท ดังนี้ (ชุติมา, 2554)

1. Classical restaurant หรือ Fine dining restaurant หรือ Full-service restaurant เป็นห้องอาหารที่เน้นหนักในระบบของ cuisine ซึ่งเป็นศัพท์ฝรั่งเศสที่มีความหมายว่า “ศิลปะของการปรุงอาหารชั้นยอด” (The art of preparing fine meals) ดังนั้น กลุ่มเป้าหมายของห้องอาหารนี้จึงอยู่ที่ลูกค้าที่มีกำลังซื้อสูงและต้องการลิ้มรสอาหารชั้นยอดจากฝีมือเชฟผู้มากด้วยประสบการณ์ อาหารที่มีบริการมักเป็นอาหารตามสั่ง ซึ่งใช้วัตถุดิบที่เลือกสรรมาแล้วเป็นอย่างดีจากทั้งในและต่างแระเทศ โดยมีกรรมวิธีการปรุงอาหารที่ซับซ้อนหลายขั้นตอน ละเมียดละไมในวิธีการทำ บางครั้งอาจมีการประกอบอาหาร หรือ ตัด หั่นแล่ อาหารให้แขกได้ชมที่โต๊ะอาหาร ในเรื่องของเครื่องดื่มที่มีบริการเช่นเดียวกับอาหารคือ มีเครื่องดื่มมากมายหลายประเภทไว้บริการ ไม่ว่าจะเป็นเหล้าก่อนอาหาร ไวน์ เหล้าหลังอาหาร ค็อกเทลต่าง ๆ โดยเฉพาะไวน์ซึ่งจะมีห้องเก็บที่เรียกว่า wine cellar เพื่อควบคุมคุณภาพไวน์ให้ได้มาตรฐาน ขนาดห้องอาหารประเภทนี้โดยทั่วไปจะไม่ใหญ่มาก เพราะต้องการให้พนักงานดูแลแขกได้อย่างทั่วถึง และมักจะตั้งอยู่ชั้นบนสุดของโรงแรมเพื่อให้แขกได้ชมทัศนียภาพเบื้องล่างยามราตรี หรืออาจตั้งอยู่ในจุดที่ทางโรงแรมพิจารณาแล้วว่าสวยที่สุด เพื่อให้แขกได้รับบรรยากาศที่รื่นรมย์ อุปกรณ์ตกแต่งภายในห้องจะ

เน้นที่ความหรูหราเป็นสำคัญไม่ว่าจะเป็นโคมไฟประดับเพดาน ภาพเขียนฝาผนัง อุปกรณ์เครื่องใช้บนโต๊ะอาหารมักจะเป็นเครื่องเงิน (Silver) หรือเครื่องแก้วเจียระไน (Crystal)

2. Specialty restaurant เป็นภัตตาคารอาหารเฉพาะอย่าง ซึ่งอาจจะหมายถึงอาหารประจำชาติ อาหารมังสวิรัติ อาหารทะเล โดยมักตั้งชื่อร้านในภาษาของชาตินั้น ๆ เพื่อให้รู้ว่าขายอาหารอะไร รวมไปถึงการตกแต่งร้านให้เข้ากับบรรยากาศด้วย เช่น ภัตตาคารจีนจะใช้โต๊ะกลมเป็นหลัก ตรงกลางโต๊ะจะมีกระจกวงกลมหมุนได้ที่เรียกว่า Lazy susan สำหรับวางจานอาหารเพื่อให้แขกที่นั่งรอบโต๊ะตักอาหารได้สะดวก เป็นต้น

3. Coffee shop เป็นห้องอาหารที่มักจะตั้งอยู่ในบริเวณชั้นล่างของโรงแรมหรือจุดที่แขกภายนอกโรงแรมสามารถเข้าไปใช้บริการได้สะดวก การตกแต่งห้องจะไม่หรูหรา เนื่องจากเป็นห้องอาหารที่เน้นความรวดเร็วเป็นสำคัญ อาหารที่มีบริการมักจะเป็นอาหารจานเดียวสำหรับลูกค้าที่ต้องการความเร่งรีบในช่วงพักกลางวัน ลักษณะของห้องอาหารประเภทนี้มักจะมีขนาดใหญ่และจัดวางโต๊ะ เก้าอี้เต็มเนื้อที่ อาจเปิดบริการตลอด 24 ชั่วโมง ในกรณีที่มีบริการอาหารให้แขกภายในโรงแรมบนห้องพักด้วย แต่หากโรงแรมมีแผนกบริการอาหารและเครื่องดื่มบนห้องพัก (Room service) แยกต่างหาก Coffee shop จะเปิดให้บริการถึงเวลาประมาณ 23.00 น.

4. Lounge เป็นสถานที่สำหรับแขกนั่งพักผ่อนในช่วงเย็นหรือค่ำก่อนหรือหลังรับประทานอาหาร โดยมีลักษณะเป็นห้องใหญ่โล่งอยู่ในบริเวณที่แขกเดินผ่านไปมา เช่น บริเวณล็อบบี้ เรียกว่าล็อบบี้เลาจน์ (Lobby lounge) หรือบริเวณชั้นบนสุดใกล้กับห้องอาหารประเภท Full service restaurant เพื่อให้แขกที่มารับประทานอาหารค่ำได้แวะดื่มเครื่องดื่มก่อนอาหารหรือรอเวลานัดหมาย อาจเปรียบได้กับบริเวณที่เป็นห้องรับแขกของบ้าน เก้าอี้มีลักษณะเป็นโซฟาหรือเก้าอี้เท้าแขน (Arm chair) ส่วนโต๊ะจะมีขนาดเล็กและไม่สูงมากนักสำหรับวางจานอาหารและเครื่องดื่ม บางแห่งอาจมีเก้าอี้สูงอยู่บริเวณเคาน์เตอร์สำหรับแขกที่ชอบความเป็นกันเอง หรือแขกที่มานั่งคนเดียวเพราะสามารถสนทนากับบาร์เทนเดอร์ (Bartender) หรือชมกรรมวิธีการผสมเครื่องดื่มเพื่อความเพลิดเพลิน อาหารที่มีบริการมักเป็นของขบเคี้ยวมากกว่าอาหารหนัก เพราะส่วนใหญ่แขกมักจะมาดื่มเพื่อรอเวลา รอเพื่อน หรือพูดคุยทางธุรกิจ อาจมีการเล่นดนตรีประเภท เปียโน ไวโอลิน หรืออิเลคโทนเพื่อช่วยให้เกิดบรรยากาศที่น่ารื่นรมย์

5. Banquet room หมายถึงห้องจัดเลี้ยงภายในโรงแรมที่เปิดบริการให้กับแขกจำนวนหนึ่งที่ติดต่อมายังแผนกจัดเลี้ยงโดยตรง จำนวนแขกอาจมีได้ตั้งแต่ 30 คนขึ้นไปจนถึงจำนวนพัน โดยทางโรงแรมจะดำเนินการจัดหาห้องให้เหมาะสมกับจำนวนแขกตามวัน-เวลาที่แขกต้องการ ทั้งนี้หมายถึงความรับผิดชอบในเรื่องกาสรจัดหาอาหารและเครื่องดื่มบริการให้กับแขกด้วยลักษณะโต๊ะเก้าอี้มักจะขึ้นอยู่กับลักษณะของงานและรูปแบบการบริการอาหาร เป็นต้นว่า การประชุมจะนิยมนำโต๊ะสี่เหลี่ยมมาเรียงต่อกันเป็นรูปตัว U, T หรือ E งานเลี้ยงแต่งงานมักนิยมใช้โต๊ะกลมสำหรับแขกเพราะจุคนได้มาก การบริการจัดเลี้ยงอาหารและเครื่องดื่มดังกล่าวนอกจากจะจัดในห้องจัดเลี้ยงของโรงแรมแล้วยังสามารถจัด

ในพื้นที่อื่นก็ได้แล้วแต่ลักษณะของงานและความประสงค์ของเจ้าภาพ อิเช่น การจัดเลี้ยงน้ำชาบริเวณริมสระน้ำ ทั้งนี้รวมถึงการให้บริการจัดเลี้ยงนอกสถานที่ (Catering) สำหรับแขกที่ต้องการให้ทางโรงแรมจัดอาหารและเครื่องดื่มไปบริการให้ที่บ้านหรือสถานที่ต่าง ๆ ภายนอกโรงแรม จึงอาจกล่าวได้ว่าการบริการจัดเลี้ยง (Banquet) เป็นหน่วยงานหนึ่งที่สามารถให้บริการอาหารและเครื่องดื่มได้ทุกประเภทตามความต้องการของแขกไม่ว่าจะเป็นการบริการภายในห้องสำหรับงานจัดเลี้ยงโดยเฉพาะหรือภายในพื้นที่อื่นใดทั้งภายในและภายนอกโรงแรมแต่ทั้งนี้จะต้องมีการติดต่อมาล่วงหน้า

นอกจากนี้โรงแรมยังจัดให้มี การบริการอาหารและเครื่องดื่มบนห้องพัก (Room service) โดยแขกที่พักในโรงแรมสามารถโทรศัพท์มาสั่งอาหารและเครื่องดื่มที่ต้องการได้ตลอด 24 ชั่วโมง รายการอาหารและราคาอาหารจะปรากฏอยู่ใน Room Service Menu บนห้องพัก โดยปกติราคาอาหารจะสูงกว่าในห้องอาหารประมาณ 20-30%

2.2.1 เส้นทางเดินอาหารภายในโรงแรม

ในการผลิตอาหารในโรงแรมเริ่มจากการจัดซื้อวัตถุดิบต่าง ๆ การกำหนดมาตรฐานของคุณภาพ ขนาด ปริมาณของอาหารและเครื่องดื่ม (F&B specification) ที่ต้องการเป็นลายลักษณ์อักษร เพื่อเป็นข้อกำหนดในการจัดซื้อ นอกจากนี้ยังต้องมีการกำหนดมาตรฐานคุณภาพ ขนาด ปริมาณ (Food specification) อาหารทุกชนิดควรต้องมีการกำหนดคุณภาพ ขนาด ปริมาณ และรายละเอียดอื่น ๆ เป็นมาตรฐาน ให้เป็นลายลักษณ์อักษรดังต่อไปนี้ (สริตา, 2563)

1) ชื่อของอาหาร (Name of Product)
2) ระดับคุณภาพของอาหารที่ต้องการซื้อ (Grade of quality)
    - มาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถพบได้ในอาหาร
    - มาตรฐานสารเคมีที่สามารถพบได้ในอาหาร
3) ราคาต่อหน่วย (น้ำหนัก ขนาด จำนวน ฯลฯ)
4) ขั้นตอนการเตรียมการมาแล้ว (Degree of preparation)
5) รายละเอียดเพิ่มเติมต่าง ๆ เพื่อให้รัดกุม เช่น อายุ สี รูปร่าง ฯลฯ
6) วิธีการนำส่ง ระยะเวลาการนำส่ง ฯลฯ

จุดมุ่งหมายของการทำ Food specification คือ เพื่อเปรียบเทียบ ราคาจากผู้ขายหลาย ๆ รายในมาตรฐาน คุณภาพ และเงื่อนไขที่กำหนดไว้เพื่อเป็นการควบคุม มาตรฐานในการจัดซื้อ การตรวจนับ และการเก็บรักษาอาหาร เพื่อเป็นมาตรฐานในการควบคุม ต้นทุน และคุณภาพของอาหารที่บริการแขก หลังจากที่มีการจัดซื้อเมื่อผู้ขายนำสินค้ามาส่งที่โรงแรมต้องมีการตรวจรับสินค้าให้เป็นไปตาม Food specification การควบคุมทางด้านการจัดซื้อจะไม่มีผล ถ้าการตรวจรับเป็นไปโดยไม่มีการควบคุม หรือมีระบบที่ดีพอ เพราะจะไม่มีอะไรมาประกันได้ว่าของที่ส่งมาจากผู้ขายส่งมาอย่างถูกต้องตาม คุณภาพหรือปริมาณที่สั่งซื้อ เมื่อตรวจรับอาหารแล้วอาหารจะถูกนำไปเก็บตามสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับ

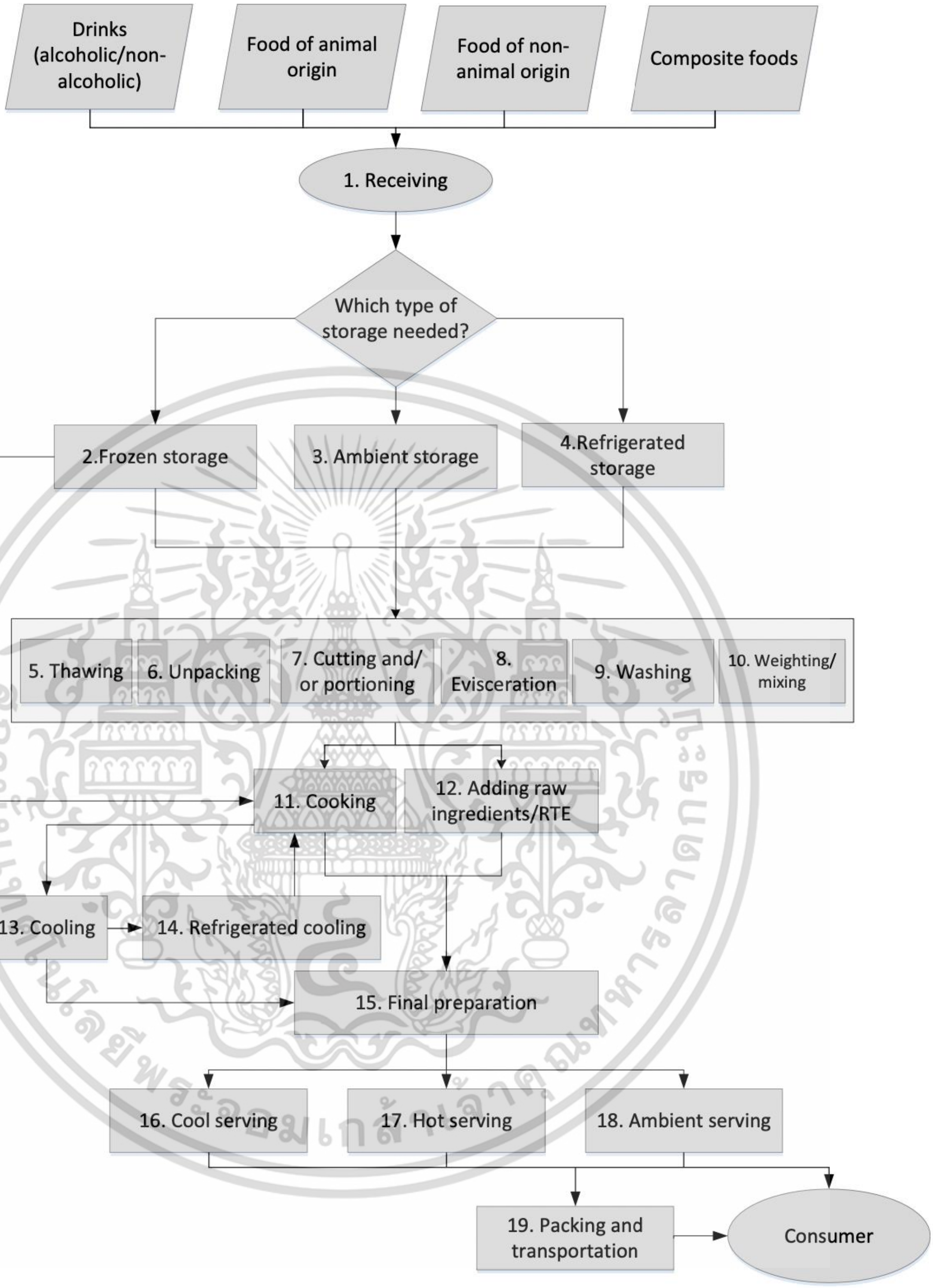
อาหารแต่ละประเภท เช่น อาหารแช่เย็นจะถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส อาหารแช่แข็งจะถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส เป็นต้น การจัดเก็บต้องถูกจัดทำตามระบบการมาก่อนใช้ก่อนมาหลังใช้หลัง (First In First Out, FIFO) อาหารที่ถูกจัดเก็บจะถูกนำไปทำตามขั้นตอนต่าง ๆ ที่เหมาะสมตามแต่ละเมนูที่ถูกสั่งจากแขก อาหารแช่แข็งจะถูกนำไปทำละลายก่อนที่จะถูกนำไปปรุงจะถูกควบคุมด้วยเวลาและอุณหภูมิเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ การตัดแต่งอาหาร อย่างอาหารที่มีความเสี่ยงสูงจะถูกจัดเตรียมในห้องที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 19 องศาเซลเซียส แต่ถ้าไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ตามที่กำหนด อาหารที่มีความเสี่ยงสูงจะถูกจัดเตรียม ตัดแต่ง ภายใน 30 นาที หลังจากที่อาหารถูกเตรียมอย่างเหมาะสมแล้ว ก็จะถูกนำไปปรุงในวิธีต่าง ๆ เช่น การอบ การทอด การนึ่ง เป็นต้น ซึ่งในกรรมวิธีต่าง ๆ อาหารจะต้องถูกให้ความร้อนในอุณหภูมิขั้นต่ำที่จะยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ในอาหารแต่ละประเภท เมื่อถูกปรุงสุก อาหารจะถูกเสิร์ฟด้วยวิธีต่าง ๆ เช่นการเสิร์ฟร้อน หรือเสิร์ฟเย็น ที่ควรมีการลดอุณหภูมิอาหารอย่างถูกต้องในช่วงอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม หากเสิร์ฟบนไลน์บุฟเฟ่ต์จะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาอย่างเหมาะสม

การรักษาความร้อนเป็นมาตรการชั่วคราวที่มักใช้ในการจัดเลี้ยงหรืออาหารบนไลน์บุฟเฟ่ต์ ตัวอย่างเช่น ควรวางอาหารใน Bain-marie หรืออุปกรณ์ให้ความร้อนอื่น ๆ และเพื่อให้อุณหภูมิอาหารไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตหรือการผลิตสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Staph. aureus, Clostridium perfringens* และ *Bacillus cereus*

อุณหภูมิในทุก ๆ กระบวนการต่าง ๆ ดังภาพที่ 2.1 ควรถูกควบคุมและตรวจสอบเพื่อจะช่วยในการควบคุมอุณหภูมิเป็นไปได้อย่างเหมาะสม การเสิร์ฟอาหารเย็น อาหารปรุงสุก หรืออาหารที่ถูกอุ่นซ้ำซึ่งอยู่ในช่วงอุณหภูมิไม่เหมาะสม (โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 5 ถึง 60 องศาเซลเซียส) ควรปฏิบัติตามคำแนะนำด้านความปลอดภัยอาหารของประเทศ (หรือเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง) หากอาหารอยู่ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเกินระยะเวลาที่ยอมรับได้ ผลิตภัณฑ์ควรถูกนำไปแช่เย็นหรือกำจัดทันที (เช่น หากอุ่นซ้ำแล้ว 1 ครั้ง หรือระยะเวลาการใช้อุณหภูมิไม่เหมาะสมหรือไม่มากกว่าสูงสุดที่อนุญาต) (EFSA BIOHAZ Panel และคณะ, 2017)

2.2.2 ระบบการจัดการความปลอดภัยของอาหารภายในโรงแรม

กว่าอาหารจะเดินทางมาถึงโต๊ะอาหารเพื่อเสิร์ฟให้ผู้บริโภคภายในโรงแรม ต้องผ่านกระบวนการต่าง ๆ มากมาย ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีได้ โดยถ้าไม่มีการตรวจสอบ การควบคุม รวมถึงการป้องกันที่ดี อาหารสามารถก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยกับผู้บริโภคได้ ดังนั้นเพื่อให้ได้อาหารอาหารที่มีมาตรฐานและปลอดภัยจากมือผู้ผลิตส่งถึงมือผู้บริโภค แต่ละขั้นตอนจึงต้องมีการตรวจสอบและป้องกันการปนเปื้อนของอาหาร โดยใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์


Drinks (alcoholic/non-alcoholic)
Food of animal origin
Food of non-animal origin
Composite foods
1. Receiving
Which type of storage needed?
2.Frozen storage
3. Ambient storage
4.Refrigerated storage
5. Thawing
6. Unpacking
7. Cutting and/ or portioning
8. Evisceration
9. Washing
10. Weighting/ mixing
11. Cooking
12. Adding raw ingredients/RTE
13. Cooling
14. Refrigerated cooling
15. Final preparation
16. Cool serving
17. Hot serving
18. Ambient serving
19. Packing and transportation
Consumer

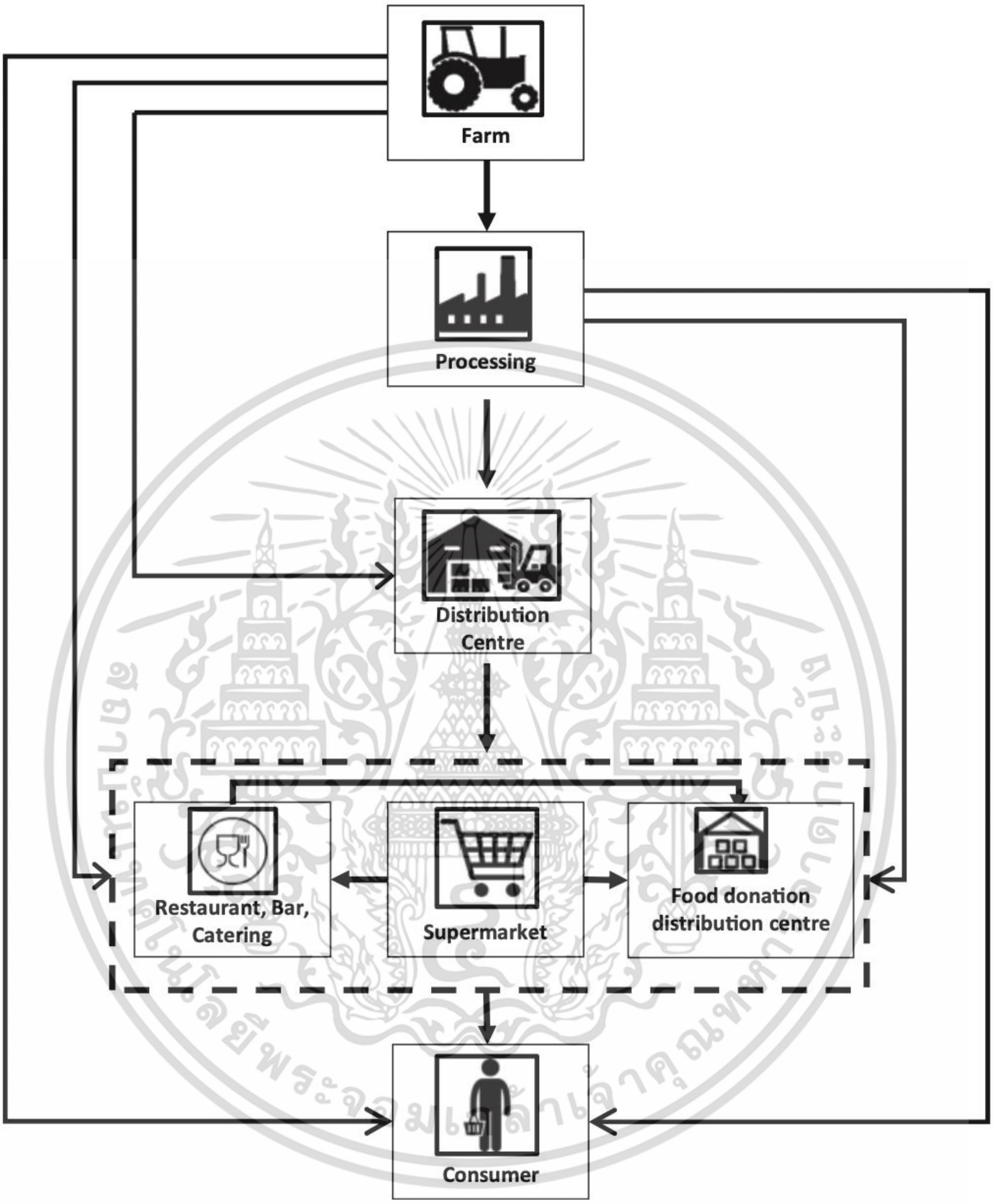
ภาพที่ 2.1 เส้นทางเดินอาหารของห้องอาหารภายในโรงแรม

ที่มา: EFSA BIOHAZ Panel และคณะ (2017)

และเทคโนโลยี เพื่อตรวจวิเคราะห์หาสาเหตุและปัจจัยต่าง ๆ ที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนทางอาหารได้ การควบคุมความปลอดภัยของอาหารจึงต้องเริ่มตั้งแต่การผลิตขั้นต้น ไปจนถึงมือผู้บริโภค ดังรูปภาพที่ 2.2

ฟาร์มคือจุดเริ่มต้นของอาหาร ผู้ผลิตจึงต้องให้ความสำคัญในเรื่องความสะอาดของวัตถุดิบ และลดการปนเปื้อนของอาหารให้น้อยที่สุด ระบบความปลอดภัยอาหารที่ใช้ควบคุมการเกษตรคือ Good Agricultural Practices (GAP) และ Good Farming Practices (GFP) วัตถุดิบจากฟาร์มเหล่านี้จะถูกส่งต่อมาถึงโรงงานที่ต้องนำวัตถุดิบมาแปรรูป เพื่อยืดเวลาการเก็บรักษาและเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การแปรรูปนมต้องนำมาฆ่าเชื้อ (พาสเจอไรซ์) เพื่อให้เก็บได้นานขึ้น หรือการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ชีส โยเกิร์ต เนย เป็นต้น เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ โดยกระบวนการแปรรูปนี้ ต้องมีการตรวจสอบและควบคุมให้ได้มาตรฐานและควบคุมความสะอาด ตั้งแต่สถานที่ผลิต เครื่องมือ และอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูป เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนในระหว่างการแปรรูปอาหาร ซึ่งระบบที่ใช้ในการควบคุมความปลอดภัยของอาหารในกระบวนการผลิตและการแปรรูปต่าง ๆ มีมาตรฐานมากมาย เริ่มจากการจัดทำระบบ Food Safety Management System (FSMS) ที่ถูกออกแบบมาเพื่อป้องกัน ขจัด หรือลดอันตรายในระบบห่วงโซ่อาหาร โดยมีพื้นฐานคือ Prerequisite programmes (PRP), Good Hygiene Practices (GHP), Good Manufacturing Practices (GMP) และ Good Distribution Practices (GDP) รวมไปถึงการจัดทำระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อควบคุมอันตรายที่ไม่สามารถควบคุมได้ภายใต้ PRP และมีความเสี่ยงอย่างมากต่อผู้บริโภค เช่น การให้ความร้อนเนื้อวัวเพื่อกำจัดแบคทีเรียก่อโรค แม้ว่าจะไม่ครอบคลุมอยู่ในกรอบกฎหมายใด ๆ แต่ผู้บริโภคก็มีบทบาทในความปลอดภัยของอาหาร และควรตรวจสอบให้แน่ใจว่าอาหารได้รับการจัดเก็บ จัดการ และจัดเตรียมในลักษณะที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค (EFSA BIOHAZ Panel และคณะ, 2017) แต่ระบบ FSMS ไม่คงที่ ต้องมีการตรวจสอบและปรับปรุงอย่างต่อเนื่องให้เหมาะสมกับกระบวนการที่การเปลี่ยนแปลงไป เช่น อันตรายเฉพาะอาจเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลาหรือด้วยการประกอบอาหารด้วยวิธีใหม่ กระบวนการใหม่ ส่วนผสม หรือผู้ซื้อขายเปลี่ยนไป การนำไปปฏิบัติยังต้องมีการเฝ้าติดตามเพื่อตรวจสอบว่ามีการดำเนินการที่จำเป็นและกำลังดำเนินการอยู่และให้ผลลัพธ์ที่ต้องการในแง่ของความปลอดภัยของอาหาร ยิ่งไปกว่านั้น แม้ว่าจะมีแผน PRP และ HACCP แล้ว การดำเนินการที่ประสบความสำเร็จก็ขึ้นอยู่กับทัศนคติ ค่านิยม ความเชื่อ และพฤติกรรมด้านสุขอนามัยร่วมกันของพนักงาน (Griffith และคณะ, 2010) ดังนั้น ประสิทธิผลของแผน PRP และ HACCP จึงขึ้นอยู่กับวัฒนธรรมความปลอดภัยด้านอาหารของธุรกิจที่แข็งแกร่งด้วย (Wallace และคณะ, 2014)

อาหารที่ถูกแปรรูปแล้วจะถูกขนส่งออกจากโรงงานเพื่อส่งให้ผู้บริโภค โดยขั้นตอนการขนส่งถ้าควบคุมอุณหภูมิไม่เหมาะสมจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ และหากควบคุมความสะอาดไม่ดีอาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามได้เช่นกัน เมื่ออาหารต่าง ๆ ได้ถูกจัดส่งมายังโรงแรม จะถูก


Farm
Processing
Distribution
Centre
Restaurant, Bar,
Catering
Supermarket
Food donation
distribution centre
Consumer

ภาพที่ 2.2 ความสัมพันธ์ของเส้นทางเดินอาหารจากฟาร์มสู่โต๊ะอาหาร
ที่มา: EFSA BIOHAZ Panel และคณะ (2017)

แยกจัดเก็บตามประเภทของอาหาร อาหารแช่เย็น แช่แข็ง อาหารแห้ง เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสม การจัดทำระบบความปลอดภัยของอาหารภายในโรงแรม ไม่ได้ถูกบังคับโดยกฎหมายเช่นเดียวกัน แต่เพื่อให้เป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภคหรือทัดเทียมกับมาตรฐานนานาชาติ โรงแรมส่วนใหญ่จึงมีการจัดทำระบบ FSMS ในเบื้องต้น ตามข้อกำหนดของแบรนด์และมากไปกว่านั้น ปัจจุบันโรงแรมในระดับห้าดาว

ขึ้นไปจะมีการจัดทำระบบ HACCP เพื่อให้มั่นใจว่าอาหารถูกควบคุมอันตรายที่สามารถทำให้อาหารไม่ปลอดภัยได้ในทุก ๆ ขั้นตอน ตั้งแต่ การรับวัตถุดิบ การจัดเก็บ การเตรียม การปรุงรวมถึงการเสิร์ฟให้แก่ผู้บริโภค ซึ่งการควบคุมอันตรายในจุดดังกล่าวเราเรียกว่า Critical Control Point (CCP) ซึ่งจุด CCP หลัก ๆ ในโรงแรม ได้แก่ จุดการรับอาหารแช่เย็น การจัดเก็บอาหารแช่เย็น การปรุงอาหาร การทำอาหารให้เย็นลง การอุ่นอาหาร การทำละลายอาหาร การวางอาหารร้อนหรือเย็นบนไลน์บุฟเฟต์ ส่วนใหญ่เป็นการควบคุมอุณหภูมิอาหารเพื่อไม่ให้อาหารอยู่ในช่วงอุณหภูมิอันตราย และการใช้ความร้อนเพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อแบคทีเรียจะอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภค

จะเห็นได้ว่าทุกขั้นตอนของอาหารตั้งแต่ฟาร์มถึงโต๊ะอาหาร สามารถที่จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมีต่าง ๆ ลงไปในอาหารได้ ดังนั้นทุกขั้นตอนจึงต้องมีการตรวจสอบ ป้องกัน และควบคุมมาตรฐานและความสะอาดของอาหาร เพื่อให้มั่นใจว่าอาหารที่ผู้บริโภคจะนำเข้าสู่ร่างกาย มีความปลอดภัยไม่ก่อให้เกิดโรคที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย

2.3 การทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อ

สิ่งสกปรกที่สะสมบนพื้นผิวการจัดเตรียมหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ เป็นสิ่งสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ที่สามารถปนเปื้อนลงสู่อาหาร ทำให้ผู้บริโภคอาจเกิดอันตรายได้ ดังนั้นพื้นผิวที่สัมผัสอาหารจะต้องถูกทำความสะอาดและฆ่าเชื้อเป็นประจำ เพื่อลดโอกาสการที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนสู่อาหาร

2.3.1 การทำความสะอาด

เป็นการกำจัดคราบสิ่งสกปรก (soils) ออกจากพื้นผิว สิ่งสกปรกที่อยู่บนพื้นผิวและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร มีหลายประเภทขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและกระบวนการปรุงอาหารนั้น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 การปล่อยให้สิ่งสกปรกติดอยู่บนพื้นผิวนาน ๆ จะมีผลต่อความยากง่ายในการทำความสะอาด

ตารางที่ 2.1 แสดงถึงความยากง่ายในการกำจัดสิ่งสกปรกเมื่อสิ่งสกปรกเกิดความร้อนและเกิดการเปลี่ยนแปลง (สุวิมล, 2544) นอกจากชนิดของสิ่งสกปรกแล้วยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำความสะอาด ดังนี้ ระยะเวลาในการทำความสะอาด แรงขัดที่ใช้ในการทำความสะอาด ความเข้มข้นของน้ำยาทำความสะอาด อุณหภูมิ ประเภทของน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารทำความสะอาด และความชำนาญในการทำความสะอาดของผู้ปฏิบัติงาน (Marriott และ Gravani, 2006)

2.3.2 การฆ่าเชื้อ (Sanitizing) (สุวิมล, 2543; Marriott, 1997)

เป็นการทำลายหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ซึ่งต่างจากการฆ่าเชื้อแบบ sterilization ซึ่งเป็นการกำจัดหรือทำลายจุลินทรีย์อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งสปอร์ของจุลินทรีย์ด้วย การฆ่าเชื้อแบบ sanitizing มีหลายวิธีดังนี้ คือ

2.3.2.1 การใช้ความร้อน (Thermal sanitizing) เป็นวิธีการที่นิยมใช้ ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนี้ขึ้นอยู่กับความชื้น อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสัมผัสกับผิวอุปกรณ์ สิ่งสกปรกบนพื้นผิว ที่ใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ การใช้ความร้อนชื้น (Moist heat) เช่น ไอน้ำ และน้ำร้อน ในการฆ่าเชื้อจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการให้ความร้อนแห้ง (Dry heat) เช่น ลมร้อน เพราะความร้อนชื้นจะสามารถทำลายโปรตีนในจุลินทรีย์ให้เสียสภาพได้ ทำให้ไม่สามารถดำรงชีพอยู่ได้ ส่วนการใช้ความร้อนแห้งจะต้องใช้อุณหภูมิสูงและเวลาที่นานจึงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูง ดังนั้นการใช้ไอน้ำ หรือน้ำร้อนในการฆ่าเชื้อเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และบริเวณผลิตจึงเป็นที่นิยม ซึ่งข้อดีของวิธีนี้คือ ไม่เกิดกัดกร่อน ไม่มีสารตกค้าง และสามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้เป็นจำนวนมาก ในการทำลายจุลินทรีย์ด้วยไอน้ำนั้นจะต้องทำการฆ่าจุลินทรีย์ทั้งภายในและภายนอกที่อุณหภูมิและเวลาที่เพียงพอ คือ ประมาณ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 นาที สำหรับการฆ่าเชื้อด้วยน้ำร้อน ควรใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส แช่อุปกรณ์ภาชนะที่ต้องการฆ่าเชื้อและให้ความร้อนน้ำจนเป็น 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

ตารางที่ 2.1 ลักษณะของสิ่งสกปรก (Soil characteristics)

สิ่งสกปรกบนพื้นผิว	การละลาย	ความยากง่ายในการกำจัด	การเปลี่ยนแปลงเมื่อถูกความร้อน
น้ำตาล	ละลายในน้ำ	ง่าย	เปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลไหม้ (Caramelization) ทำความสะอาดได้ยาก
ไขมัน	ละลายในด่าง ไม่ละลายในน้ำ	ยาก	เกิดเป็นโพลิเมอร์ ทำให้ทำความสะอาดยากขึ้น
โปรตีน	ละลายในด่างและสารละลายที่มีความเป็นกรดเล็กน้อย ไม่ละลายในน้ำ	ยากมาก	เกิดการสูญเสียลักษณะเดิม (Denaturation) ทำให้ทำความสะอาดยากขึ้น
เกลือแร่	ละลายในน้ำได้ระดับต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเกลือแร่ ส่วนใหญ่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด	ง่าย➔ ยาก	โดยปกติไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ

ที่มา: Marriott (1997)

2.3.2.2 การฉายรังสี (Radiation sanitizing) โดยการใช้รังสีจากแสง UV หรือจาก High energy cathode หรือ Gramma rays ที่มีคลื่นความยาวประมาณ 2,500 Angstrom จะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้

2.3.2.3 การฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี (Disinfection chemicals) สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ (Sanitizers หรือ Disinfectants) ที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมีหลายชนิด เช่น คลอรีน ควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ไอโอโดฟอร์ เป็นต้น ซึ่งการจะเลือกใช้สารเคมีขึ้นอยู่กับการออกฤทธิ์ของสารนั้น และขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพื้นผิวที่จะทำการฆ่าเชื้อ สารฆ่าเชื้อที่ดีต้องมีสมบัติที่ไม่เป็นพิษเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นสูงและไม่ทำให้เกิดการสึกกร่อนของพื้นผิวที่ใช้ ไม่ส่งผลต่อกลิ่น รส และสีของอาหาร และสามารถฆ่าเชื้อได้หลายชนิด

2.3.3 สารฆ่าเชื้อ

สารฆ่าเชื้อแต่ละประเภทจะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้ (สุวิมล, 2543)

- ปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้น เมื่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นมีปริมาณสูง ความเข้มข้นของสารเคมีและเวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อก็จะเพิ่มสูงขึ้น (ปิยาณี, 2542)
- ระยะการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น เซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว (Mature cell) กับเซลล์ที่ยังอายุน้อย (Younger cell) หรือเซลล์ปกติ (Vegetative cell) กับสปอร์ (Spore) และชนิดของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน จะมีความทนทานต่อสารเคมีชนิดหนึ่งๆ ได้แตกต่างกัน
- ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ สารเคมีบางชนิด เมื่อความเข้มข้นมากขึ้นจะมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์มากขึ้น
- ระยะเวลาที่สารเคมีสัมผัสกับจุลินทรีย์ (Duration of exposure) จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความไวต่อสารเคมีไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับช่วงการเจริญ การสร้างสปอร์ และปัจจัยอื่น ๆ จึงทำให้เวลาที่ใช้ในการสัมผัสสารแต่ละชนิดไม่เท่ากัน Gelinas และคณะ (1984) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อระยะเวลาและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น
- อุณหภูมิ (Temperature) การเพิ่มอุณหภูมิจะเพิ่มอัตราการทำลายจุลินทรีย์ จากการทดลองของ Ito และ Seeger (1980) กล่าวว่าประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของคลอรีนและสารประกอบคลอรีนจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ในการลดแรงตึงผิว ความข้นหนืด เพิ่ม pH และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่มีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์
- ความเป็นกรด ด่าง (pH) ความเป็นกรดด่าง เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ สารฆ่าเชื้อจะมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของสารฆ่าเชื้อนั้น

ๆ เช่น สารละลายไฮโปคลอไรท์ มีค่าความเป็นกรดด่าง ช่วง 7-11 สารนี้จะสูญเสียประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออย่างรวดเร็วที่ความเป็นกรดด่างสูงกว่า 10 (Guthrie, 1988)

- ความกระด้างของน้ำ สารในกลุ่มควอเทอร์นารีแอมโมเนียม จะไม่ออกฤทธิ์ในน้ำที่มีเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่เกินกว่า 200 ppm ถ้าน้ำกระด้างมากประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อจะลดลง
- การสร้างฟิล์มชีวภาพ (biofilm) บนพื้นผิว ฟิล์มชีวภาพจะช่วยป้องกันตัวจุลินทรีย์ทำให้สารฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง การป้องกันการสร้างฟิล์มชีวภาพบนพื้นผิวสามารถทำได้โดยการออกแบบเครื่องจักร อุปกรณ์ให้ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

2.3.4 มาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร

เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์มากยิ่งขึ้น องค์กรอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) ได้กำหนดหลักการทั่วไปเกี่ยวกับข้อกำหนดวิธีปฏิบัติด้านสุขลักษณะสำหรับอาหารกึ่งสุกและอาหารสุกในการจัดอาหารบริการคนจำนวนมาก ซึ่งประเทศไทยได้นำข้อกำหนดดังกล่าวมาใช้ ในรูปแบบของมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติหรือ มกอช.9023-2550 เพื่อให้สถานประกอบการที่บริการจัดอาหารเพื่อผู้บริโภคจำนวนมากยึดปฏิบัติ เพื่อให้แน่ใจว่าอาหารปลอดภัยสำหรับการบริโภคตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมจนถึงการจัดส่งถึงมือผู้บริโภค (อุกฤษฏ์, 2556) ซึ่งสาเหตุที่สำคัญประการหนึ่งที่ทำให้อาหารไม่ปลอดภัยคือ เกิดการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์จากสุขอนามัยของอุปกรณ์เครื่องมือที่ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ทำให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภค ทางกระทรวงสาธารณสุขจึงได้ออกมาตรฐานตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารเพื่อควบคุมให้กระบวนการผลิตอาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งแสดงในตารางที่ 2.2

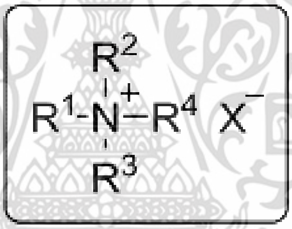
ตารางที่ 2.2 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของภาชนะสัมผัสอาหารและพื้นผิวสัมผัสอาหาร

ภาชนะสัมผัสอาหารและพื้นผิวสัมผัสอาหาร	
จำนวนจุลินทรีย์ CFU/ตารางเซนติเมตร	น้อยกว่า 100
Escherichia coli CFU/ 50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
Staphylococcus aureus CFU/ 50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
Salmonella spp. CFU/50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
Clostridium perfringens CFU/50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ
Bacillus cereus CFU/50 ตารางเซนติเมตร	ไม่พบ

ที่มา: ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) ประกาศเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3

2.4 สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม

สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (Quaternary ammonium compound; QACs, QUAT) เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Disinfectant) ส่วนมากใช้เป็นสารทำความสะอาดบนอุปกรณ์ หรือ พื้นที่ผิวสัมผัสในอุตสาหกรรมอาหารหรืออุปกรณ์ทางการแพทย์ ในโครงสร้างของสารจะประกอบไปด้วยธาตุไนโตรเจนจับกับหมู่อิสระอื่น ๆ (R-group) มีประจุรวมของสารเป็นประจุบวก (Positive charge surface) เข้ามีความสามารถเข้าทำลายบริเวณผนังของเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายและตายในที่สุด เมื่อเพิ่มเวลาในการสัมผัสของสารจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีขึ้นตามไปด้วย โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งของสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมอยู่ประมาณ 200-400 ppm ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการใช้อยู่ที่ช่วง 3-10 จะสามารถยับยั้งเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่ากลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สามารถทำละลายสปอร์ที่เชื้อสร้างขึ้นได้ และยับยั้งการเจริญของไวรัสได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Fisher และคณะ, 2003) ดังแสดงในภาพที่ 2.3



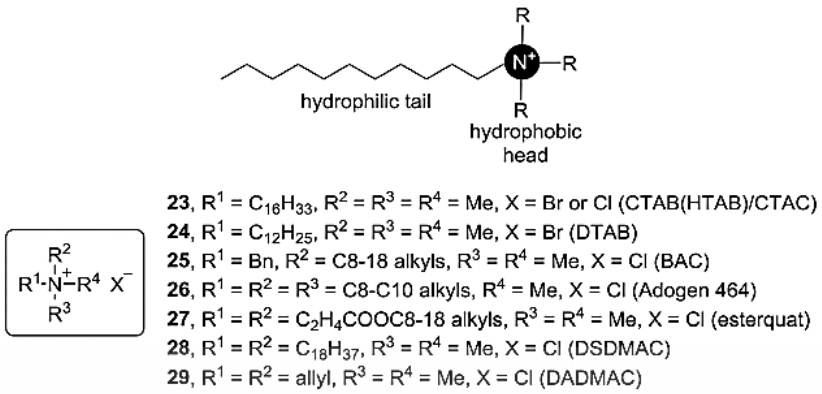
$$R^1\text{-}\overset{\overset{R^2}{|}}{\underset{\underset{R^3}{|}}{N^+}}\text{-}R^4\ X^-$$

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มควอเทอร์นารีแอมโมเนียม

ที่มา: Bures (2019)

2.4.1 ประเภทของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียม

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 1 เป็นสารประกอบอย่างอย่างที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงสารยาวของคาร์บอน 14 คาร์บอนอะตอมเรียงตัวต่อกัน สามารถสังเคราะห์ทางเคมีจากสารประเภทแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่ใหญ่แล้วตรงบริเวณของหมู่อิสระ (R-group) จะเป็นสารประเภทอัลคาไลน์ (Alkali group) เกาะอยู่ QACs ในเจอเนอเรชั่นนี้จะไม่ทนต่อสภาวะที่น้ำมีความกระด้างสูง (Tripathi, 2008) ดังแสดงในภาพที่ 2.4


R
N+
R
R
hydrophilic tail
hydrophobic head
R^2
R^1-N^+-R^4 X^-
R^3
23, $R^1 = C_{16}H_{33}$, $R^2 = R^3 = R^4$ = Me, X = Br or Cl (CTAB(HTAB)/CTAC)
24, $R^1 = C_{12}H_{25}$, $R^2 = R^3 = R^4$ = Me, X = Br (DTAB)
25, R^1 = Bn, R^2 = C8-18 alkyls, $R^3 = R^4$ = Me, X = Cl (BAC)
26, $R^1 = R^2 = R^3$ = C8-C10 alkyls, R^4 = Me, X = Cl (Adogen 464)
27, $R^1 = R^2 = C_2H_4COOC8$-18 alkyls, $R^3 = R^4$ = Me, X = Cl (esterquat)
28, $R^1 = R^2 = C_{18}H_{37}$, $R^3 = R^4$ = Me, X = Cl (DSDMAC)
29, $R^1 = R^2$ = allyl, $R^3 = R^4$ = Me, X = Cl (DADMAC)

ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 1

ที่มา: Bures (2019)

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 2 เป็นสารจากเจอเนอเรชั่นที่ 1 ที่ถูกเพิ่มประสิทธิภาพให้สามารถทนต่อสภาวะที่น้ำมีความกระด้าง ที่หมู่อิสระจะมีกลุ่มของไฮโดรเจนอะตอมจากวงแหวนของ อะโรมาติก (Aromatic group) มาแทนที่ ทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูง ตัวอย่างของสารในเจอเนอเรชั่นนี้คือ Alkyl-dimetyl-ethyl-benzyl-ammonium chloride (Tripathi, 2008) ดังแสดงในภาพที่ 2.5

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 3 เป็นสารที่เกิดจากการผสมกันระหว่างสารควอเทนารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน หรือเรียกว่า Dual Quat มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง ประสิทธิภาพในการชะล้างสูงและมีความเป็นพิษต่ำมาก (Tripathi, 2008)

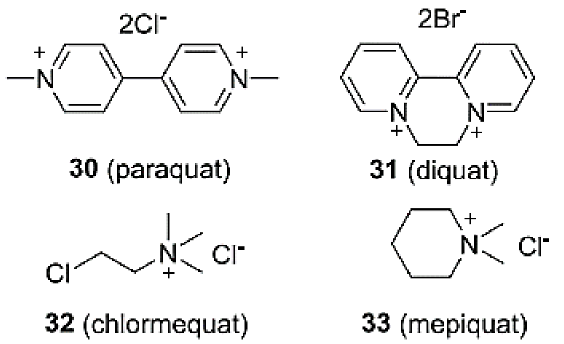
สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 4 เป็นสารที่รู้จักกันในนาม Twin Quat มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโรคสูง สามารถฆ่าเชื้อได้ทุกชนิดและทนต่อสภาพน้ำกระด้างได้ดีมาก (Tripathi, 2008)

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 5 เกิดจากการผสมสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 2 และ 4 เข้าด้วยกัน มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโรคได้ทุกสภาวะ (Tripathi, 2008)

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 6 และ 7 เกิดจากการปรับปรุงประสิทธิภาพของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมโดยการนำสารประเภทพอลิเมอร์มาเกาะบริเวณหมู่อิสระ รู้จักกันในนาม Polymeric type quat และ Blends of polymeric quats (Tripathi, 2008)

2.4.2 กลไกการยับยั้งเชื้อของสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม

เมื่อสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมสัมผัสกับผนังเซลล์ของเชื้อ หมู่ในโตรเจนที่อยู่ใน QACs (ภาพที่ 2.6 a) จะทำการการจับกับส่วนหัวของฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) (ภาพที่ 2.6 b) ซึ่งมีคุณสมบัติ


2Cl⁻
2Br⁻
Cl⁻
Cl⁻

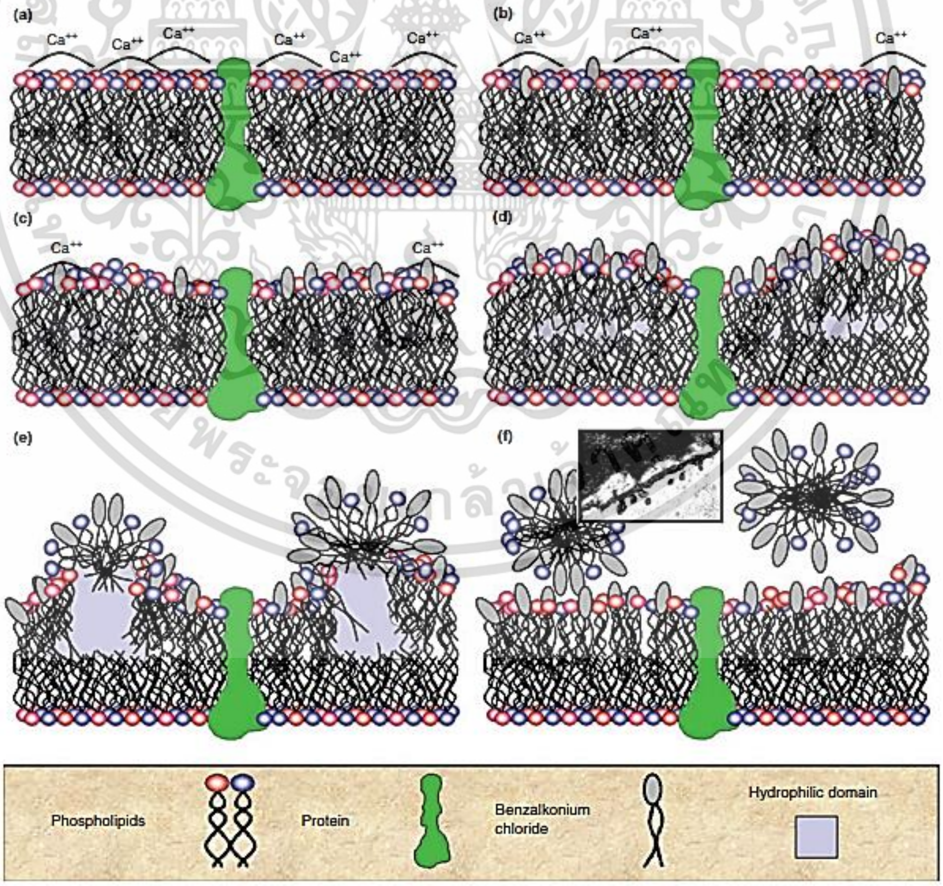
30 (paraquat) **31** (diquat)

32 (chlormequat) **33** (mepiquat)

ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจอเนอเรชั่นที่ 2

ที่มา: Bures (2019)

ไม่ชอบน้ำ จากนั้นจะทำให้ความสามารถของผนังเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการเข้าออกของสารต่าง ๆ สูญเสียสมดุลไป (ภาพที่ 2.6 c) เมื่อคุณสมบัติดังกล่าวสูญเสียสมดุลโปรตีนและฟอสโฟลิปิดจะถูกละลายด้วยสาร QACs ทำให้การไหลเวียนของสารต่าง ๆ ระหว่างภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ถูกทำลาย และเซลล์จะตายในที่สุด (ภาพที่ 2.6 f และ e)


(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
Ca⁺⁺
Phospholipids
Protein
Benzalkonium chloride
Hydrophilic domain

ภาพที่ 2.6 กลไกของสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (QACs) ในการเข้าทำลายผนังเซลล์ของเชื้อ

ที่มา: Gilbert และ Moore (2005)

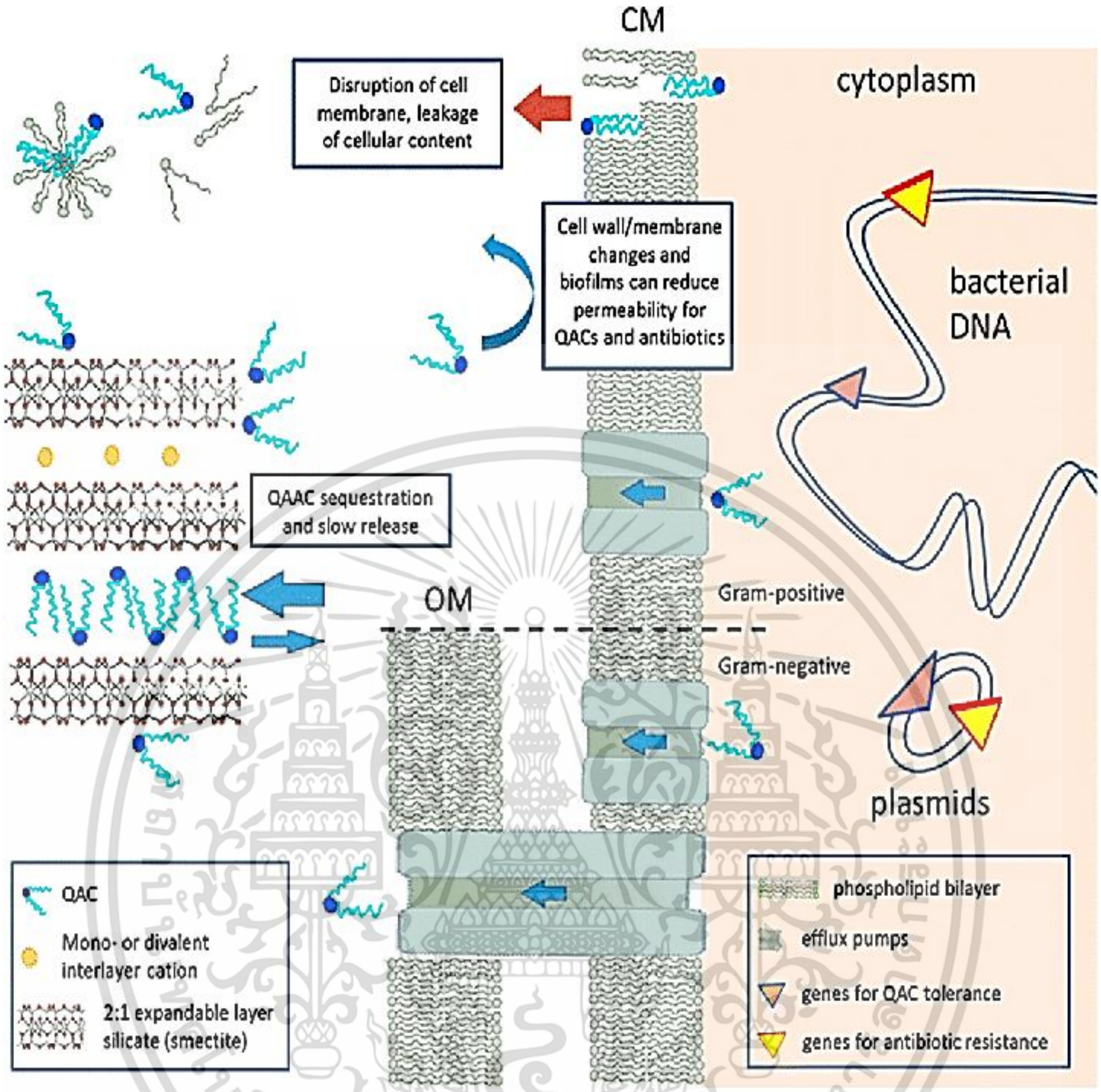
Ioannou และคณะ (2007) กล่าวว่า ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการมีปฏิสัมพันธ์กับเยื่อหุ้มเซลล์ การหยุดชะงักของความสมบูรณ์ของเมมเบรน และการรั่วไหลของของเหลวภายในเซลล์

Buffet-Bataillon และคณะ (2012) กล่าวว่า สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมเป็นสารลดแรงตึงผิวแบบประจุบวก (detergents) และสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (เช่น แบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อรา) ปฏิกิริยาในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมเป็นหน้าที่ของความยาวของสาย N-alkyl ซึ่งทำให้เกิด lipophilicity ปฏิกิริยาที่เหมาะสมที่สุดในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและยีสต์ทำได้ด้วยความยาวของสายโซ่ที่ 12–14 alkyls ในขณะที่กิจกรรมที่เหมาะสมที่สุดในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมลบนั้นทำได้ด้วยความยาวของสายโซ่ที่ 14-16 alkyls

สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียม มีส่วนประกอบของหมู่ไนโตรเจนซึ่งมีประจุบวก จะเข้าจับกับบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะประกอบไปด้วยส่วนของลิโพพอลิแซคคาร์ไรด์ (Lipopolysaccharide) เป็นโปรตีนไขมันซึ่งหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำและมีประจุลบออกสู่ภายนอก เมื่อประจุบวกของหมู่ไนโตรเจนเข้าจับบริเวณประจุลบของลิโพพอลิแซคคาร์ไรด์จะทำให้บริเวณผนังเซลล์แบคทีเรียเกิดความเสียหาย สามารถสามารถในการควบคุมความสมดุลของสารที่ผ่านเข้าออกลดลง แบคทีเรียที่มีการสร้างสารไบโอฟิล์มก็จะสร้างได้น้อยลง ทำให้ความสามารถในการทนต่อสารต่าง ๆ ของเชื้อก็ลดลง เมื่อเวลาผ่านไปเชื้อก็จะถูกทำลายและตายในที่สุด โดยสาร QACs จะสามารถเข้าจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียแกรมบวกนั้นมีส่วนของชั้นลิโพพอลิแซคคาร์ไรด์บางกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทำให้สารเข้าทำปฏิกิริยาง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบที่มีชั้นของลิโพพอลิแซคคาร์ไรด์หนากว่า (Nagandran และคณะ, 2020) ดังแสดงในภาพที่ 2.7

2.4.3 สารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512)

สารซูม่าเจ 512 เป็นสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่มีองค์ประกอบทางเคมีของสาร คือ อัลคิลไดเมทิลเอทิลเบนซิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Alkyl dimethyl ethyl benzyl ammonium chloride) มีโครงสร้างของสาร ดังภาพที่ 2.8 ตามรายละเอียดในภาคผนวก ง สารมีความเข้มข้นที่ 140,000 ppm จากจัดอยู่ในสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในเจเนอเรชั่นที่ 2 ไม่ติดไฟ เป็นสารกัดกร่อนผิวหนัง จึงต้องใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม สามารถทำให้ผิวหนังไหม้อย่างรุนแรง ควรสวมถุงมือ เสื้อป้องกัน แว่นตา และหน้ากาก ขณะใช้งาน แต่สามารถระเหยหมดไปที่อุณหภูมิห้อง สามารถใช้ทำความสะอาดอุปกรณ์ต่าง ๆ พื้นผิวที่ใช้ประกอบอาหาร เป็นต้น


CM
cytoplasm
Disruption of cell membrane, leakage of cellular content
Cell wall/membrane changes and biofilms can reduce permeability for QACs and antibiotics
bacterial DNA
QAAC sequestration and slow release
OM
Gram-positive
Gram-negative
plasmids
QAC
Mono- or divalent interlayer cation
2:1 expandable layer silicate (smectite)
phospholipid bilayer
efflux pumps
genes for QAC tolerance
genes for antibiotic resistance

ภาพที่ 2.7 กลไกการเข้าทำปฏิกิริยาของสาร QACs บริเวณผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: Nagandran และคณะ (2020)

สารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 สามารถใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร สำหรับในการฆ่าเชื้อ อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้สัมผัสอาหาร และบริเวณพื้นที่การเตรียมอาหาร นอกจากนี้ยังสามาใช้ฆ่าเชื้อ สำหรับภาชนะบรรจุอาหารและเครื่องดื่มได้อีกด้วย โดยมีวิธีการใช้งาน ดังนี้

1.สำหรับอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้เตรียมอาหาร และบริเวณเตรียมอาหาร

– ทำความสะอาดพื้นผิวให้ทั่ว

– ผสม Suma J-512 1 ส่วน : น้ำ 512 ส่วน

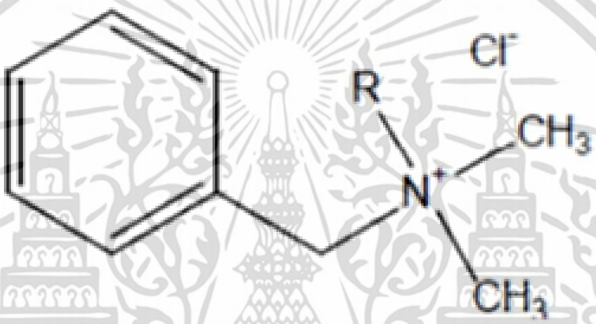
– ใช้ผ้าจุ่มเช็ดให้ทั่ว หรือฉีดพ่นให้ทั่วพื้นที่ที่ต้องการ

– ทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด

2. สำหรับภาชนะบรรจุอาหารและเครื่องดื่ม

– ล้างภาชนะให้สะอาดในเบื้องต้น
– ผสม Suma J-512 1 ส่วน : น้ำ 512 ส่วน ในอ่างล้าง
– จุ่มภาชนะลงในอ่างล้างแช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที
– ล้างด้วยน้ำสะอาด

ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อคือ 200 ppm และไม่มีการตกค้างบริเวณที่ใช้ทำความสะอาด (Diversy, Thailand) เช่นเดียวกันกับ FDA (2002) ที่ระบุใน 21CFR178.1010 ว่า สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมความเข้มข้น 200 ppm สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยปล่อยไว้ให้แห้งโดยไม่ต้องล้างออก



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของอัลคิลไดเมทิลเอทิลเบนซิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Alkyl dimethyl ethyl benzyl ammonium chloride)

ที่มา: Luz และคณะ (2020)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคที่พบบนพื้นผิวสัมผัสอาหารทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่เตรียมการประกอบอาหาร บริเวณการปรุง หรือแม้กระทั่งบริเวณที่มีการรับประทานอาหารต่างก็พบจุลินทรีย์ที่สามารถก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารได้

งานวิจัยการศึกษาผลของสารประกอบประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ บนพื้นผิวสัมผัสอาหาร โดย อุกฤษฏ์ (2556) พบว่าผลของสารละลายฆ่าเชื้อ QUAT SAN^{TM} ที่ความเข้มข้น 0 100 200 และ 400 ppm ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus hominis* ssp. ในหลอดทดลองที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 และ 10^3 CFU/ml และระยะเวลาในการสัมผัสเท่ากับ 1, 5 และ 10 นาที โดยพบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นมีผลต่อความเข้มข้นของสารละลายฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการสัมผัส สภาวะที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ สามารถฆ่าเชื้อได้ร้อยละ 100 คือ สภาวะที่สารละลายฆ่าเชื้อ QUAT SAN^{TM} เท่ากับ 100 ppm สัมผัสกับจุลินทรีย์นาน 5 นาที และที่ 200 ppm นาน 1 นาที ตามลำดับ และผลการศึกษา

ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 200 ppm และระยะเวลาการสัมผัส 5 นาทีบนพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติงานของครัวโรงพยาบาลในสภาวะจริง ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ยีสต์และรา

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride (ADBAC) ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ บนพื้นผิวสแตนเลสที่ใช้ในการตัดแต่งเนื้อสุกร โดย วลีพร (2560) พบว่าผลของสารละลายฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ความเข้มข้น 0 100 200 และ 400 ppm ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum และ *Salmonella* Corvallis ในหลอดทดลอง โดยพบว่าสารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ 200 ppm ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อลงจนไม่สามารถตรวจพบเชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 CFU/ml และสารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ 400 ppm ระยะเวลาสัมผัส 1 - 10 นาทีสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6 CFU/ml การใช้สารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm ระยะเวลาในการสัมผัส 10 และ 30 นาทีต่อการยับยั้ง *S.* Anatum และ *S.* Corvallis บนพื้นผิวถาดสแตนเลส พบว่าสารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ 400 ppm ระยะเวลาในการสัมผัส 30 นาทีสามารถยับยั้งเชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 และ 10^6 CFU/100cm^2 ได้อย่างสมบูรณ์ และได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบนพื้นผิวสแตนเลสที่ใช้การตัดแต่งเนื้อสุกรด้วยวิธีการ swab test ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ประมาณ 10^5 CFU/50cm^2, *E. coli*, Coliforms, yeast, mold และ *B. cereus* เมื่อนำ สารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ความเข้มข้น 400 ppm ระยะเวลาในการสัมผัส 10 และ 30 นาทีเช็ดบนพื้นผิวสแตนเลสที่ทำการตัดแต่งเนื้อสุกรด้วยผ้าไมโครไฟเบอร์ พบว่าที่ระยะเวลาในการสัมผัส 10 นาที ตรวจพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.2×10^4 CFU/50cm^2 และตรวจไม่พบ *E. coli*, yeast และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Staph. aureus, Salmonella* spp., *B. cereus*, และ *C. perfringens* บนพื้นผิวสแตนเลสที่ทำการตัดแต่งเนื้อสุกร เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัส 30 นาที สารฆ่าเชื้อ ADBAC มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.9×10^3 CFU/50cm^2 และตรวจไม่พบ *E. coli*, yeast และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Staph. aureus, Salmonella* spp., *B. cereus*, และ *C. perfringens* ดังนั้นสารฆ่าเชื้อ ADBAC ที่ความเข้มข้น 400 ppm ระยะเวลาสัมผัส 30 นาทีมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อบนพื้นผิวสแตนเลสที่ใช้ตัดแต่งเนื้อสุกร

Hilton และ Austin (2000) ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคที่พบในผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดจาน การศึกษาพบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ *Staph. aureus* ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Campylobacter* spp. มีแหล่งที่มาของการปนเปื้อนจากฟองน้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาด

Mattick และคณะ (2003) ศึกษาจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนอยู่ในบริเวณห้องครัว พบว่าจานที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้วมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. *Campylobacter* spp และ *E. coli* O157:H7 ซึ่งคาดว่ามีแหล่งปนเปื้อนมาจากฟองน้ำที่ใช้ทำความสะอาด เมื่อทำการทดสอบจุลินทรีย์ที่พบในน้ำล้างไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7

McBain และคณะ (2004) ศึกษาผลของสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนทั่วไปบนพื้นผิวและประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของสารข้างต้นต่อจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบริเวณซิงค์น้ำ พบว่า โดยใช้สารประเภทควอเทอร์นาริแอมโมเนียมผสมกับกับสารชะล้างทำความสะอาดบริเวณซิงค์น้ำในห้องครัวเป็นเวลา 12 วัน และ 3 เดือนพบว่า เมื่อครบ 3 เดือน จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในบริเวณดังกล่าวมีการลดลง ร้อยละ 50 ซึ่งจุลินทรีย์ที่ลดลงคือเชื้อ *Pseudomonas* spp., *Pseudoalteromonas* spp., *Erwinia* spp. และ *Enterobacter* spp.

Chaidez และคณะ (2007) ศึกษาการใช้สารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่อาจจะปนเปื้อนอยู่ในน้ำประปา ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้คลอรีนในการยับยั้ง การศึกษาทดสอบเวลาในการสัมผัสสาร 30 และ 120 วินาที ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำที่มีความขุ่นน้อยและความขุ่นมากพบว่าสารควอเทอร์นาริแอมโมเนียมสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ *Staph. aureus* และ *E. coli* ได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดีกว่าการยับยั้ง *Staph. aureus* น้ำที่มีความขุ่น 100 NTU สารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาสัมผัส 30 วินาที สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ส่วนเชื้อ *Staph. aureus* มีการลดลงเพียงเล็กน้อย พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารให้เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลา 120 วินาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้มากขึ้น

Ioannou และคณะ (2007) ศึกษาสารประเภทควอเทอร์นาริแอมโมเนียม (Quaternary ammonium compound) สองชนิดคือ สาร Alkydimethylbenzylammonium (ADBAC) และสาร Didecyldimethylammonium chloride (DDAC) โดยศึกษาอุณหภูมิที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ของสาร DDAC นั้นมีมีความแตกต่างเล็กน้อยเมื่อให้อุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่สาร ADBAC สามารถทำให้มีการลดลงของเชื้อได้รวดเร็วยิ่งขึ้น เมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

รายงานของ Gutiérrez และคณะ (2012) กล่าวว่า ในกระบวนการผลิตอาหารที่มีสุขลักษณะที่ไม่ดี ไม่ว่าสุขลักษณะของบุคคลหรือสภาพแวดล้อมที่สกปรก มักพบจุลินทรีย์ก่อโรคต่าง ๆ ปนเปื้อนและมีการสะสมของกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวมากกว่าการผลิตที่มีการรักษาสุขลักษณะที่ดี จากการศึกษาการปนเปื้อนของ *Staph. aureus* ในสายการผลิตอาหารต่าง ๆ พบว่าแม้กระทั่งสายการผลิตอาหารทะเลก็ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว และส่วนใหญ่การปนเปื้อนของ *Staph. aureus* ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณพื้นที่ผิวสัมผัสอาหาร โดยเชื้อมีการสร้างสารไบโอฟิล์มเกาะอยู่บริเวณดังกล่าว ทำให้ทำความสะอาดยากทนต่อสารฆ่าเชื้อหรือแม่กระทั่งยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ก็สามารถทนได้ ดังนั้นหากสามารถควบคุมสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอหารได้จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *Staph. aureus* ได้อย่างมาก

Cabeca และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่าง ๆ ในเซลล์แพลงก์ตอนและเซลล์ของ *Listeria monocytogenes*, *Staph. aureus* และ *E. coli* จำนวนเซลล์ลดลงหลังจากการเติมสารฆ่าเชื้อทั้งหมด (ไอโอดีน, ไบกัวไนด์, สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม, เปอร์

อะซิติก แอซิด และ โซเดียมไฮโปคลอไรด์) จากผลการทดลองพบว่า จำนวนเซลล์ของ *Staph. aureus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังการเติมด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรด์(0.2 log CFU / cm^2) และ เปอร์อะซิติก แอซิด (0.7 log CFU / cm^2) เมื่อเทียบกับเชื้อเริ่มต้น (5.9 log CFU / cm^2) หลังจากการรักษาด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเซลล์ของ *Staph. aureus* ที่มีชีวิตในลักษณะไบโอฟิล์ม จะมีปริมาณสูงกว่าหลังการเติมด้วยสารฆ่าเชื้อ ไบกัวไนด์ (3.3 log CFU / cm^2) สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (2.8 log CFU / cm^2) และไอโอดีน (2.4 log CFU / cm^2) ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า โซเดียมไฮโปคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเซลล์ชีวภาพของ *Staph. aureus* มากที่สุด ขณะที่สารฆ่าเชื้อไอโอดีนมีประสิทธิผลน้อยที่สุด

Gour และคณะ (2014) ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคตามร้านอาหารในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกันในภาคกลางของประเทศอินเดีย พบว่าจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ กลุ่มของแบคทีเรีย *Staph. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Bacillus subtilis* กลุ่มรา ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Mucor* spp, *Candida* spp. และ *Rhizopus* spp. จากการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคทางเดินอาหารเป็นพิษพบว่า *Staph. aureus* ทนต่อสารฆ่าเชื้อ Amoxillin, Oxacillin, Ciprofloxin

Setlhare และคณะ (2014) ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารและบริเวณพื้นผิวสำหรับการเตรียมประกอบอาหารของห้องครัวในโรงพยาบาล พบว่าสภาพแวดล้อมของอากาศที่ทำการทดสอบพบปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศสูงที่สุดเท่ากับ 6.0×10^1 CFU/m^{-3} และในพื้นผิวของพื้นที่สัมผัสอาหารพบจุลินทรีย์ *Bacillus* spp., *Kocuria* spp., *Staphylococcus* spp., *Arthrobacter* spp. และ *Candida* spp.

Al Amin และ Dagang (2015) ศึกษาการปนเปื้อนข้ามของจุลินทรีย์ก่อโรคในพื้นที่การเตรียมสัตว์ปีก พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถก่อโรคทางเดินอาหารที่ระบุสายพันธุ์จากการทดสอบด้วยวิธี 16S rRNA คือ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ซึ่งคาดว่าปนเปื้อนจากบริเวณการตัดแต่งเนื้อไก่ภายในห้องครัว

Biraja-Hurcloyal และ Latouche (2016) ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคบริเวณพื้นผิวโต๊ะเตรียมประกอบอาหารและพื้นผิวของโต๊ะที่ใช้รับประทานอาหาร พบจุลินทรีย์ Coliforms, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. และ *Staph. aureus* จะพบว่าจุลินทรีย์ที่พบในบริเวณประกอบอาหารคือ *Staph. aureus* ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามจากพื้นที่ดังกล่าวสู่อาหารได้ สารฆ่าเชื้อที่ใช้ทำความสะอาดอุปกรณ์และพื้นที่จึงจะต้องมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี

Lineback และคณะ (2018) ศึกษาประสิทธิภาพของสารไฮโปรคลอไรด์ สารโซเดียมไฮโปคลอไรด์เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* บนพื้นผิวกับสารประเภทควอเทอร์นาริแอมโมเนียม พบว่าสารไฮโปรคลอไรด์และสารโซเดียมไฮโปรคลอไรด์นั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ และสามารถยับยั้งเชื้อข้างต้นเมื่อสร้างสารไบโอฟิมล์เกาะบริเวณพื้นผิวได้ดีกว่าสารประเภทควอเทอร์นาริแอมโมเนียม แต่เมื่อทำการทดสอบบริเวณพื้นผิวที่ขรุขระสารทั้งสองชนิดก็ยังไม่สามารถยับยั้งเชื้อเชื้อ *Staph. aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* เมื่อเชื้อมีปริมาณที่ปนเปื้อนเท่ากับ 6 $\log_{10}$ CFU

Ramzi และคณะ (2020) ศึกษาประสิทธิภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสในโรงพยาบาล โดยใช้สารประเภทควอเทอร์นาริแอมโมเนียม 3 ชนิด ได้แก่ สาร DDN 9 (ร้อยละ 0.5) ที่มีองค์ประกอบของ Didecyl methyl polyoxyethyl amonium propionate, สารควอเทอร์นาริแอมโมเนียม (QACs)ในลักษณะของสเปรย์พ่นฝอย ร้อยละ 0.4 และสาร Phagosurf ND (ร้อยละ 0.4) มีองค์ประกอบของ Didecyl dimethyl amonium chloride พบว่า สาร DDN9 (ร้อยละ 0.5) สามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ *Staph. aureus* และ *Staph. aureus* ATCC 29213 โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้เท่ากับ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาร QACs ในรูปแบบของสเปรย์พ่นฝอย สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ 4 สายพันธุ์คือ *E. coli*, *Staph. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้คือ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สายพันธุ์ *Staph. aureus* ATCC 29213 ยับยั้งได้ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสาร Phagosurf ND (ร้อยละ 0.4) สามารถยับยั้งเชื้อได้เพียงสายพันธุ์เดียวคือ *Staph. aureus* ATCC 29213 ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้คือ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 อุปกรณ์

3.1.1.1 กระดาษทดสอบความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ Quaternary (QT-10), Paper range 0-400 ppm (Quaternary test paper) (Micro Essential Laboratory, USA)

3.1.1.2 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.1.3 กล่องโฟม (Cooler)

3.1.1.4 ขวดดูแลน (Laboratory bottle) (Duran, Germany)

3.1.1.5 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)

3.1.1.6 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร (Duran, Germany)

3.1.1.7 จานเพาะเชื้อพลาสติก (Petri dish) (Kartell, Italy)

3.1.1.8 เจลทำความเย็น (Icepack) (Coleman, China)

3.1.1.9 ชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand)

3.1.1.10 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Burner)

3.1.1.11 ทิป (Tips) ขนาด 1,000 ไมโครลิตร (Gilson, France)

3.1.1.12 แท่งแก้วคนสาร (Glass rod) ขนาด 12 นิ้ว

3.1.1.13 แท่งแก้วสามเหลี่ยมรูปตัวแอล (L-shaped spreader)

3.1.1.14 บิวเรต (Burette)

3.1.1.15 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.1.16 ปากคีบ (Forceps

3.1.1.17 ปิเปต (Pipettes)

3.1.1.18 ผ้าไมโครไฟเบอร์ (Microfiber cloth) (Diversey, Thailand)

3.1.1.19 แผ่นกำหนดพื้นที่ (Swab teat area) ทำจากสแตนเลส ขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร

3.1.1.20 แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์ (Aluminium foil)

3.1.1.21 พาราฟิน (Paraffin) (Pechiney plastic packaging, U.S.A)

3.1.1.22 ไม้พันสำลี (Cotton swab) ก้านยาว 6 นิ้ว Size L (Lintech, Thailand)

3.1.1.23 ไมโครปิเปต (Micropipette) (Gilson, France)

3.1.1.24 ลูกยาง (Pipette bulb)

3.1.1.25 หลอดดักแก๊ส (Durham tubes) ขนาดเล็กและใหญ่

3.1.1.26 หลอดทดลองกับ ฝาหลอดทดลอง ขนาด 16×150 มิลลิลิตร (Test tube with cap)

3.1.1.27 หลอดหยดสาร (Dropper)

3.1.1.28 ห่วงและเข็มเขี่ยเชื้อ (Loop and needle)

3.1.2 เครื่องมือ

3.1.2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance) (Mettler toledo, Switzerland)

3.1.2.2 เครื่องตีปั่น (Stomacher) (IUL Instruments, Spain)

3.1.2.3 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) (Scientific, U.S.A)

3.1.2.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Mettler toledo, Switzerland)

3.1.2.5 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (Memmert, Germany)

3.1.2.6 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological safety cabinet) (Esco, Singapore)

3.1.2.7 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert, Germany)

3.1.2.8 ไมโครเวฟ (Microwave) (Electrolux, China)

3.1.2.9 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) (Tomy, Japan)

3.1.2.10 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (Memmert, Germany)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

3.2.1.1 ไข่ไก่ (Betagro, Thailand)

3.2.1.2 Agar (Difco, U.S.A)

3.2.1.3 Baird parker agar (BP) (Difco, U.S.A)

3.2.1.4 Blood agar (Thomas scientific, U.S.A)

3.2.1.5 Brain heart infusion broth (BHI) (Difco, U.S.A)

3.2.1.6 Buffered peptone water (BPW) (Difco, U.S.A)

3.2.1.7 Cook meat medium (CM) (Difco, U.S.A)

3.2.1.8 Dextose (Merck, Germany)

3.2.1.9 Hektoen enteric (HE) (Merck, Germany)

3.2.1.10 Lactose broth (Difco, U.S.A)

3.2.1.11 Letheen broth (Difco, U.S.A)

3.2.1.12 Mannitol–Egg Yolk–Polymyxin (MYP) agar (Difco, USA)

3.2.1.13 Muller Kauffmann Tetrathinate Novobiocin broth (MKTTn) (Merck, Germany)

3.2.1.14 Plate count agar (PCA) (Difco, USA)

3.2.1.15 Potato dextrose agar (PDA) (Difco, USA)

3.2.1.16 Phosphate buffer saline (PBS) (Difco, USA)

3.2.1.17 Rabbit plasma with EDTA (Merck, Germany)

3.2.1.18 Rappaport – Vassiliadis Salmonella broth (RVS) (Merck, Germany)

3.2.1.19 Simmons citrate agar (SCA) (Difco, U.S.A)

3.2.1.20 Triple sugar iron agar (TSI) (Merck, Germany

3.2.1.21 Tryptic soy agar (TSA) (Difco, USA)

3.2.1.22 Tryptic soy broth (TSB) (Difco, U.S.A)

3.2.1.23 Tryptone (Difco, U.S.A)

3.2.1.24 Xylose lysine dextrose (XLD) (Difco, U.S.A)

3.2.1.25 Yeast extract (Difco, USA)

3.2.1.26 3M Petrifilm (*E.* coli / Colifrom count plates) (3M, U.S.A)

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 Alcohol ร้อยละ 95 (A.T.S, Thailand)

3.2.2.2 Creatine (Carlo Erba, France)

3.2.2.3 di-Potassium hydrogen phosphate trihydrate (K_2HPO_4) (Merck, Germany)

3.2.2.4 Glucose ($C_6H_{12}O_6$) (Merck, Germany)

3.2.2.5 Hydrochloric acid (conc.HCl) ร้อยละ 37 (RCI Labscan, Thailand)

3.2.2.6 Methyl red ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) (BDH, India)

3.2.2.7 Neomycin ($C_{23}H_{46}N_6O$) (Merck, Germany)

3.2.2.8 Peptone (Himedia, India)

3.2.2.9 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) (Carlo erba, France)

3.2.2.10 Sodium chloride (NaCl) (Merck, Germany)

3.2.2.11 Sodium hydroxide (NaOH) (Carlo erba, France)

3.2.2.12 Sterile distilled water (SDW)

3.2.2.13 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

3.2.2.14 สารฆ่าเชื้อควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (Quaternary ammonium compounds)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การสำรวจเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารและสภาพแวดล้อม

ทำการสำรวจจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารและสภาพแวดล้อมในพื้นที่ประกอบอาหารของโรงแรมแห่งหนึ่งที่ตั้งอยู่ในกรุงเทพมหานคร เป็นโรงแรมขนาด 159 ห้อง มีห้องอาหาร 3 ห้อง และ ห้องจัดเลี้ยง 1 ห้อง ในส่วนของพื้นที่ประกอบอาหารของโรงแรมประกอบไปด้วย 3 ส่วนคือ ส่วนที่ 1 ห้องครัว Butcher (BC) อยู่บริเวณชั้น 3 ของโรงแรม ใช้สำหรับการเตรียม ตัดแต่งเนื้อสัตว์ในเบื้องต้นก่อนจะถูกกระจายไปยังครัวหลักต่าง ๆ ในโรงแรม เปิดทำการตั้งแต่เวลา 7.00 น. ถึง 17.00 น. ส่วนที่ 2 ห้องครัว Pastry (PT) อยู่ในบริเวณชั้นที่ 3 ของโรงแรม สำหรับประกอบอาหารประเภทของขนมอบ เปิดทำการตั้งแต่เวลา 05.00 น. ถึง 18.00 น. และ ส่วนที่ 3 ห้องครัว Lakorn (LK) อยู่บริเวณชั้น 7 ของโรงแรม เป็นครัวที่รับวัตถุดิบมาจากห้องครัว BC เพื่อทำการปรุงอาหารเพื่อเสิร์ฟให้แก่ลูกค้าเปิดทำการตลอดทั้งวัน โดยเก็บตัวอย่างจากอากาศบริเวณที่ประกอบอาหาร การสุ่มสวอปมือพนักงานในพื้นที่การทำงานในขณะที่ปฏิบัติงาน ทำการเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารรวมถึงเก็บตัวอย่างผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้สำหรับทำความสะอาดพื้นผิวการเตรียมอาหาร โดยเก็บตัวอย่างในห้องครัวทั้งสามห้องในช่วงเวลา 10.00 น ถึงเวลา 12.00 น ซึ่งอยู่ระหว่างการปฏิบัติงานจริง เก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 ครั้ง

3.3.1.1 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศภายในห้องครัวที่ใช้ในการปฏิบัติงาน

การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศ ทำตามวิธีของ American public health association (APHA) (Seveum และคณะ, 1992) เพื่อหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count, TVC) และยีสต์ราในอากาศ จำนวน 3 ห้องครัว ได้แก่ ห้องครัว BC ห้องครัว PT และห้องครัว LK เก็บในช่วงเวลา 10.00 น ถึงเวลา 12.00 น ซึ่งอยู่ระหว่างการปฏิบัติงาน ทำการเปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato plate count agar (PCA) และ Potato dextrose agar (PDA) นำไปวางบนโต๊ะประกอบอาหารในห้องครัวจำนวนสามจุด บริเวณหัวโต๊ะ กลางโต๊ะ และท้ายโต๊ะ เป็นเวลา 15 นาที แล้วปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่ตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตและนับปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3.1.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวมือของพนักงาน

ทำการสุ่มตัวอย่างจุลินทรีย์บนผิวมือของพนักงานในพื้นที่การทำงานขณะที่ปฏิบัติงาน ห้องครัวละ 2 คน โดยการสวอปก่อนการล้างมือที่มือข้างซ้ายด้วยไม้พันสำลี (swab test) ที่ฆ่าเชื้อแล้วชุบสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) และเช็ดบริเวณฝ่ามือ นิ้วมือ ตามซอกนิ้วมือ จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำยาสำหรับเจือจาง 10 มิลลิลิตร ปิดฝา หลังจากนั้นให้พนักงานล้างมือตามขั้นตอนเป็นเวลาอย่างน้อย 30 วินาที และทำการสวอปอีกครั้งที่มือข้างขวา และเก็บหลอดตัวอย่างแช่ในน้ำแข็งเพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ก่อนการทำการวิเคราะห์นำหลอดที่มีก้านสำลีมา

ปั่นแรงๆ พร้อมกับให้ก้านสำลีเลื่อนขึ้นลงในน้ำยาเจือจางนาน 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายเจือจางที่ได้มาตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count, TVC), *E. coli*/Coliforms, *Salmonella* spp., *Staph. aureus* ตามเกณฑ์มาตรฐาน เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ของมือผู้สัมผัสอาหาร

3.3.1.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร

ทำการเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารก่อนและหลังการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารก่อนการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวการเตรียมอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 จุด นำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วชุบสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) และเช็ดบริเวณในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ให้ทั่ว (APHA, 1992) จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำยาสำหรับเจือจาง 10 มิลลิลิตร แช่น้ำแข็งเพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นทำการทำความสะอาดพื้นผิวด้วยการสเปรย์สารฆ่าเชื้อให้ชุ่มบนพื้นผิวแล้วเช็ดด้วยผ้าไมโครไฟเบอร์ตามวิธีที่กำหนด เก็บตัวอย่างผ้าที่ใช้ไปวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารหลังการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อ จำนวน 3 จุด ด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลีบนพื้นผิวการเตรียมอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร เช่นเดียวกับการสวอปก่อนการทำความสะอาด เก็บหลอดตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ก่อนทำการวิเคราะห์นำหลอดที่มีก้านสำลีมาปั่นแรง ๆ พร้อมกับให้ก้านสำลีเลื่อนขึ้นลงในน้ำยาเจือจางนาน 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายเจือจางที่ได้มาตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count, TVC), *E. coli*/ Coliforms, *Salmonella* spp., *Staph. aureus*, *C. perfringens* และ *B. cereus* นำผ้าไมโครไฟเบอร์ที่เช็ดบนพื้นผิวแล้วบรรจุในถุง stomacher และรัดหนังยางแช่น้ำแข็งและนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติงาน ก่อนการวิเคราะห์นำมาเจือจางด้วยสารละลาย Buffer peptone water (BPW) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำถุง stomacher ไปตีปั่นด้วยความแรงการตีปั่น 250 ครั้งต่อ 1 นาที เป็นเวลา 1.30 นาที แล้วจึงนำสารละลายที่ได้มาตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count, TVC), *E. Coli*/ Coliforms, *Salmonella* spp., *Staph. aureus*, *C. perfringens* และ *B. cereus*

3.3.1.4 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

ทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ ตามวิธีการมาตรฐานในตารางที่ 3.1 รายงานผลเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยใช้หน่วยของค่าเกณฑ์มาตรฐาน ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (2560)

ตารางที่ 3.1 วิธีการมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

เชื้อจุลินทรีย์	**วิธีการทดสอบ**
Total viable count	In house method based on FDA-BAM, 2001 (Chapter 3)
Escherichia coli	3M Petrifilm, *E.coli*/ Coliform (Schraft et al., 2005)
Staphylococcus aureus	FDA-BAM, 2001 (Chapter 12)
Salmonella spp.	ISO method (ISO 6579/2002)
Clostridium perfringens	In house method based on FDA-BAM, 1992 (Chapter 16)
Bacillus cereus	In house method based on FDA-BAM, 2001 (Chapter 14)

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) (FDA-BAM, 2001) ที่พบในพื้นที่ผิวสัมผัสอาหาร โดยการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย Buffer peptone water (BPW) ตามลำดับจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-3} – 10^{-6} ผ้าไมโครไฟเบอร์ (Microfiber cloth) ที่ใช้ในการเช็ดทำความสะอาดนั้นนำมาเจือจางด้วยสารละลาย BPW ปริมาตร 20 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่น (stomacher) เป็นเวลา 1.30 นาที แล้วนำมาทำการเจือจางที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-3} – 10^{-6} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อระดับความเจือจางละ 2 จาน เททับ (pour plate) ด้วยอาหาร PCA เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีในช่วง 30-300 โคโลนี และรายงานผลจำนวนโคโลนีต่อหน่วยเป็น cfu/g

การวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* และ Coliforms ตามวิธีของ Schraft และคณะ (2005) ทำได้โดยนำตัวอย่างที่ทำการเจือจางตามระดับความเข้มข้นที่กำหนด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยดลงในแผ่น Petrifilm *E. coli*/ Coliforms count (3M, U.S.A.) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับเชื้อที่มีจุดสีแดงมีฟองแก๊สเป็น Coliforms และเชื้อที่มีจุดสีฟ้ามีฟองแก๊สเป็น *E. coli*

การวิเคราะห์หาเชื้อ *Staph. aureus* ตามวิธีของ FDA-BAM (2001) ทำได้โดยใช้อาหาร Baird-Parker medium นำตัวอย่างที่เก็บจากพื้นที่การทำงานมาเจือจางด้วยสาร BPW ที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-3} – 10^{-6} ทำการสเปรด (spread plate) เชื้อจากตัวอย่างบนจานอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะสีดำและมีเคลียร์โซนที่เกิดการตกตะกอนของไข่ลงไปเลี้ยงในอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นทำการทดสอบด้วยวิธีการแข็งตัวของอาหารที่ใช้ coagulase plasma (rabbit) ปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร และสาร Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain Heart Infusion broth (BHI) broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 6 ชั่วโมง ดูการแข็งตัวของ plasma เนื่องจาก coagulase ที่เชื้อ *Staph. aureus* สร้างขึ้น จากนั้นทำการคัดเลือกโคโลนี

ที่ให้ผลยืนยันเป็น coagulase positive เก็บเชื้อในรูปแบบ glycerol stock โดยใส่สารละลายกลีเซอรอลปลอดเชื้อและเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเหลว ในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ปริมาตรละ 0.5 มิลลิลิตร และเก็บเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่งตัวอย่างเชื้อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนด้วยวิธี 16S rRNA (Macrogen, South Korea) เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อ

การวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp. ตามมาตรฐาน ISO 6579/2002 ทำโดยนำตัวอย่างผ้าไมโครไฟเบอร์ที่เก็บมาจากห้องครัว ใส่ถุงตีปั่นแล้วเติม BPW ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับ pre-enrichment broth (buffered peptone water) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดอาหาร Mueller Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTTn) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อีกส่วนนึงปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดอาหาร Rappaport Vassiliadis Soya Broth (RVS) บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างจากทั้งสองชนิดของหลอดอาหารมาทำการ cross-streak ในอาหาร Hektoen Enteric (HE) และอาหาร Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีชมพูหรือมีสีดำตรงกลางหรือมีสีดำทั้งโคโลนีเนื่องจากการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์บนเพลทอาหาร XLD agar และโคโลนีกลมสีฟ้าหรือฟ้าอมเขียว หรือสีดำ บนเพลทอาหาร HE agar จากนั้นเลือกโคโลนีดังกล่าว เก็บเชื้อไว้ในอาหาร TSA agar slant เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ทำได้โดยถ่ายเชื้อลงในอาหารทดสอบ Triple sugar iron (TSI) agar, Lysine-Indole-Medium (LIM) และยูเรีย (Urea agar) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลและเลือกโคโลนีที่ให้ผลยืนยันจากขั้นตอนข้างต้นดังแสดงในตารางที่ 3.2

จากนั้นทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางเซรั่มวิทยาเพื่อตรวจกลุ่มของเชื้อ *Salmonella* spp. โดยทำการหยด agglutinating antiserum ชนิด A-I ลงบนสไลด์ที่สะอาดแล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อจาก TSA agar slant เกลี่ยให้ทั่วของหยด antiserum ที่อยู่บนสไลด์ สังเกตตะกอนของเชื้อในหยดดังกล่าว ถ้าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จะเกิดตะกอนของเชื้อขึ้น ถ้าหากไม่ใช่เชื้อจะละลายอยู่ในหยดของ antiserum มีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมทั้งหยด

จากนั้นทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางเซรั่มวิทยาเพื่อตรวจกลุ่มของเชื้อ *Salmonella* spp. โดยทำการหยด agglutinating antiserum ชนิด A-I ลงบนสไลด์ที่สะอาดแล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อจาก TSA agar slant เกลี่ยให้ทั่วของหยด antiserum ที่อยู่บนสไลด์ สังเกตตะกอนของเชื้อในหยดดังกล่าว ถ้าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จะเกิดตะกอนของเชื้อขึ้น ถ้าหากไม่ใช่เชื้อจะละลายอยู่ในหยดของ antiserum มีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมทั้งหยด

ตารางที่ 3.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonella* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

TSI				**LIM**			**Urea**	**VP**
slant	butt	H_2S	gas	Lysine	indole	motile		
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-	-	-

หมายเหตุ : การแปลผล TSI

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ TSI จะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น)

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S+ = ในหลอด TSI จะมีตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +

H_2S- = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอด TSI ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas + = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่ สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและก๊าซเพียงเล็กน้อย

Gas - = ไม่มีฟองอาหารให้เห็นในหลอด TSI

การแปลผล LIM

Lysine + = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจาก *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ bromcresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าว จะมีสีม่วงที่พีเอชเป็นกลางมีสีม่วงเข้มมากขึ้น ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนมากจะมีเอนไซม์ดังกล่าวนี้

Lysine- = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้พีเอชของอาหารต่ำลงมีผลทำให้สีม่วงของ bromcresol purple เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง

Indole+ = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

Indole- = ไม่เกิดสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC ซึ่ง *Salmonella* spp. จะไม่มี เอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ KOVAC

Motile+ = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหมดเนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนมากจะมีแฟลกเจลล่าใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในหลอดอาหาร เพาะเลี้ยงเชื้อ LIM แล้วเพาะ *Salmonella* spp. จะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทุกทางจึงทำให้หลอดขุ่น

Motile- = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีเชื้อเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลล่าใช้ในการเคลื่อนที่จึงเจริญอยู่เฉพาะบริเวณรอย stab

การแปลผล Urea

ผลลบ = อาหารไม่เปลี่ยนสี ผลบวก = อาหารเปลี่ยนเป็นสีชมพู

การแปลผล VP reaction

ทดสอบ VP เพื่อตรวจการเกิด Acetyl-methylcarbinolจากกระบวนการ Glucose fermentation โดยถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดปลอดเชื้อ หรือแผ่นกระเบื้อง เติมสารละลาย ร้อยละ 5 α-Naphtol 0.6 มิลลิลิตร เขย่า และเติมสารละลาย ร้อยละ 40 KOH 0.2 มิลลิลิตร และ เกร็ด creatine 2-3 เกร็ด ผสมตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง อ่านผลหลังจาก 4 ชั่วโมง ผลบวกจะเกิดสีชมพูแดงผลลบไม่เปลี่ยนสี

ที่มา: ISO 6579:2002/Cor.1:2004 (2004)

การวิเคราะห์หาเชื้อ *C. perfringens* ตามวิธีของ FDA-BAM (1992) ทำได้โดยนำตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางตามระดับความเข้มข้นที่กำหนดมาปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดอาหาร Cook Meat medium (CM) และปิดผิวหน้าด้วย agar ร้อยละ 1.5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มในสภาวะที่ ไร้อากาศอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการ cross streak ลงในอาหาร Tryptose sulfite cycloserine ที่มีส่วนผสมของไข่แดง (egg yolk) บ่มในสภาวะไร้อากาศอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนีสีดำขนาด 2 – 4 มิลลิเมตร รอบโคโลนีมีตะกอนสีขาวขุ่น

การวิเคราะห์หาเชื้อ *B. cereus* ตามวิธีของ FDA-BAM (2001) ทำได้โดยปิเปตตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง10^{-1}โดยทำการปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตรจานวน 3 ซ้ำ ที่ระดับการเจือจางที่10-2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรจำนวน 2 ซ้ำ มาสเปรดเพลด (spread plate) ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของเชื้อที่สงสัย มีลักษณะโคโลนีมีสีชมพู มีโซนสีขาวขุ่นรอบ ๆ โคโลนี(Opaque zone) ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยากับเลซิติน (Lecithin) ในไข่แดง หากพบโคโลนีในลักษณะดังกล่าว นำมาทำการทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (hemolytic activity test) โดยใช้ลูปเขี่ยเชื้อแตะลงบนผิวหน้าอาหาร Trypticase soy sheep blood agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยา hemolytic positive โดยเลือกโคโลนีของเชื้อที่มีการสร้างโซนใส ทำการส่งตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA

3.3.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง

3.3.2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ (BAM, 2001)

ในการเตรียมเชื้อ *Staph. aureus* ที่พบจากพื้นที่ผิวการประกอบอาหารและระบุสายพันธุ์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนด้วยวิธี 16S rRNA จากข้อที่ 3.3.1 เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว TSB โดยถ่ายเชื้อจาก TSA stock culture จำนวน 1 ลูป ถ่ายเชื้อ ลงใน TSA slant บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 ลูปลงใน TSA slant อีกครั้งบ่มที่อุณหภูมิ 35-37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงและถ่ายเชื้อจำนวน 1 ลูปโดยลากจากหน้าหลอดอาหารเอียงให้มีเชื้อเต็มลูปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในอาหาร TSB โดยปิเปตเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วย Butterflied phosphate buffer (น้ำยาเจือจาง) ตรวจนับเชื้อเริ่มต้นด้วยเทคนิค spread plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^{7}- 10^{8} CFU/ml

3.3.2.2 การเตรียมสารเคมี

นำขวดดูแรน (Duran) ไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปใช้เตรียมสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ซูม่า เจ-512 (Suma J-512, Diversey, Thailand) ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อเท่ากับ 140,000 ppm ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น (Stock) เท่ากับ 2,000 ppm ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดยที่ C_1 คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสาร
V_1 คือ ปริมาตรเริ่มต้นของสาร
C_2 คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการ
V_2 คือ ปริมาตรของสารที่ต้องการ

จากนั้นดูดสารฆ่าเชื้อจากขวดที่มีความเข้มข้น 2,000 ppm ปริมาตร500 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองปริมาตร 2 มิลลิลิตร และดูดน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรรวม 8 มิลลิลิตร (หลอด A) เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อต่อไป ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ปริมาตรสารในหลอดทดลองที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus*

ความเข้มข้น (ppm)	**ปริมาตรของสารผสมทั้งหมดในหลอดทดลอง (มิลลิลิตร)**				
	หลอด A				**หลอด B**
	Stock สารฆ่าเชื้อ*	**น้ำกลั่นปลอดเชื้อ**	**เชื้อ**	**น้ำกลั่น**	**ปริมาตรรวม**
0	0.0	8	1.0	1.0	10.0
100	0.5	7.5	1.0	1.0	10.0
200	1.0	7.0	1.0	1.0	10.0
400	2.0	6.0	1.0	1.0	10.0

หมายเหตุ: *สารฆ่าเชื้อ ซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ความเข้มข้น 2,000 ppm

3.3.2.3 การทดสอบผลของสารฆ่าเชื้อการเหลือรอดของเชื้อ *Staph. aureus*

การทดลองจะทำการทดสอบฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 400 ppm ที่เวลา 1 5 10 และ 15 นาที เริ่มจากปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (sterile distilled water: SDW) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายเชื้อที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^4 และ 10^7 (CFU/ml) จากข้อ 3.3.2.1 ปริมาตร 1

มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 2 นาที โดยเชื้อเริ่มต้นที่ใช้จะเท่ากับ 10^3 และ 10^6 (CFU/mL) จากนั้นดูดสารฆ่าเชื้อความเข้มข้นที่เตรียมไว้แล้ว จะได้ความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อ 100, 200 และ 400 ppm ปริมาตร 8 มิลลิลิตรจากข้อ 3.3.2.2 ลงไปในสารละลายผสมเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที อุณหภูมิ 37± 1 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาที่กำหนด ทำการดูดสารละลายในหลอดทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย Lutheen Broth (LT) ปริมาตร 8 มิลลิลิตรที่มีสาร SDW 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 5 นาที สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าวปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดที่มี maximum recovery diluent (MRD) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ซึ่งทำให้สารละลายที่ได้มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-3} ทำการเจือจางสารละลายต่อไปด้วยวิธี serial ten-fold dilution ให้ได้ความเจือจางสุดท้ายเท่ากับ 10^{-5} ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในอาหาร PCA plate ทำการสเปรดเพลท (spread plate) เกลี่ยอาหารให้ทั่วพื้นที่ อีกส่วนทำการดูดสารปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 44-47 องศาเซลเซียส แล้วทำการวนจานอาหารไปมาเพื่อให้สารละลายเชื้อกระจายตัว (pour plate) รอจนอาหารแข็งตัวทำการคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ) เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการนับโคโลนีที่ขึ้นอยู่บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ คัดเลือกโคโลนีที่มีสีขาวและรอบโคโลนีมีบริเวณใส (clear zone)

3.3.2.4 การตรวจวัดค่าความเป็นกรดด่างและความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง

เตรียมสารตามตารางที่ 3.3 แต่ไม่ใส่เชื้อ ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 มิลลิลิตรแทน จากนั้นปิเปตสารควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่มีความเข้มข้น 100 200 และ 400 ppm มาทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) แล้วจากนั้นตรวจวัดความเข้มข้นโดยใช้กระดาษทดสอบความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ Quaternary (Hydrion QT-10, Micro Essential Laboratory, USA) จุ่มลงในบีกเกอร์ที่มีสารความเข้มข้น 100 200 และ 400 ppm ทิ้งไว้แล้วสังเกตุสีที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับสีอ้างอิงเพื่อทดสอบความเข้มข้นของสารที่เตรียม

3.3.2.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์เวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการฆ่าเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง จัดสิ่งทดลองแบบแฟกทอเรียล (Full Factorial Experiment) โดยให้เวลา 1 5 10 และ 15 นาที และความเข้มข้น 100 200 และ 400 ppm เป็นปัจจัย และปริมาณเชื้อเหลือรอดเป็นตัวแปรตาม ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่เหลือรอด ด้วย Duncan’s multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมทางสถิติ Statistics Package for Social Science (SPSS) เวอร์ชั่น 21

3.3.3 การศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร

3.3.3.1 การเตรียมผ้าไมโครไฟเบอร์

นำผ้าไมโครไฟเบอร์ไปซักตามขั้นตอนการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อของโรงแรมที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 55 นาที และอบผ้าหลังจากซักที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ขึ้นไป เป็นเวลา 45 นาที และนำมาสวอปด้วยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand) โดยนำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ และเช็ดบริเวณภายในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดที่มีน้ำยาทดสอบหักก้านไม้พันสำลีไม่ให้เกินปากขวด ปิดฝาให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน จึงประเมินผล เพื่อทวนสอบวิธีการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อของผ้าไมโครไฟเบอร์

3.3.3.2 ขั้นตอนการเปรียบเทียบวิธีการความสะอาดโดยการสเปรย์และการชุบเช็ดสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัว

3.3.3.2.1 วิธีการเช็ดพื้นผิวการเตรียมอาหารด้วยวิธีชุบเช็ด

พื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัว LK มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีขนาด 105 × 554 ตารางเซนติเมตร พื้นผิวทำจากแสตนเลส ครัว LK มีการปฏิบัติงานตลอด 24 ชั่วโมง ช่วงเวลาที่เข้าไปเก็บตัวอย่างเป็นช่วงเวลาพัก ก่อนเริ่มรอบถัดไป คือเวลา 10.30-11.00 ชม. โดยก่อนเริ่มทำความสะอาดทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 จุด โดยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand) จากนั้นนำสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ที่ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2.3 แล้วนำผ้าไมโครไฟเบอร์จากข้อ 3.3.3.1 จุ่มลงในสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ให้ท่วม บิดผ้า แล้วนำผ้าที่ชุ่มด้วยสารฆ่าเชื้อ เช็ดบนพื้นผิวการเตรียมอาหารไปในทิศทางเดียวกัน โดยไม่เช็ดย้อนทิศทางไปมา ทิ้งให้แห้งตามระยะเวลาที่ได้จากข้อ 3.3.2.3 แล้วจึงเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 จุด โดยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ นำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ และเช็ดบริเวณในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ให้ทั่ว (APHA, 1992) จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดที่มีน้ำยาทดสอบหักก้านไม้พันสำลีไม่ให้เกินปากขวด ปิดฝาให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน จึงประเมินผล

3.3.3.2.2 วิธีการเช็ดพื้นผิวการเตรียมอาหารด้วยวิธีการสเปรย์

พื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัว LK มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีขนาด 105 x 554 ตารางเซนติเมตร พื้นผิวทำจากแสตนเลส ครัว LK มีการปฏิบัติงานตลอด 24 ชั่วโมง ช่วงเวลาที่เข้าไปเก็บ

ตัวอย่างเป็นช่วงเวลาพัก ก่อนเริ่มรอบถัดไป คือเวลา 10.30-11.00 ชม. โดยก่อนเริ่มทำความสะอาดทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 จุด โดยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand) จากนั้นนำสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ที่ความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2.3 ใส่ลงในกระบอกฉีดน้ำยาฆ่าเชื้อ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร และนำมาสเปรย์ลงบนพื้นผิวปริมาตร 100 มิลลิลิตร ให้ทั่ว แล้วนำผ้าไมโครไฟเบอร์จากข้อ 3.3.3.1 เช็ดให้ทั่วพื้นผิวไปในทิศทางเดียวกัน โดยไม่เช็ดย้อนทิศทางไปมา ทิ้งไว้ให้แห้ง ตามระยะเวลาที่ได้จากข้อ 3.3.2.3 แล้วจึงเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 จุด โดยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ นำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ และเช็ดบริเวณในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ให้ทั่ว จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดที่มีน้ำยาทดสอบหักก้านไม้พันสำลีไม่ให้เกินปากขวด ปิดฝาให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน จึงประเมินผล

3.3.3.3 การตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดบนผ้า

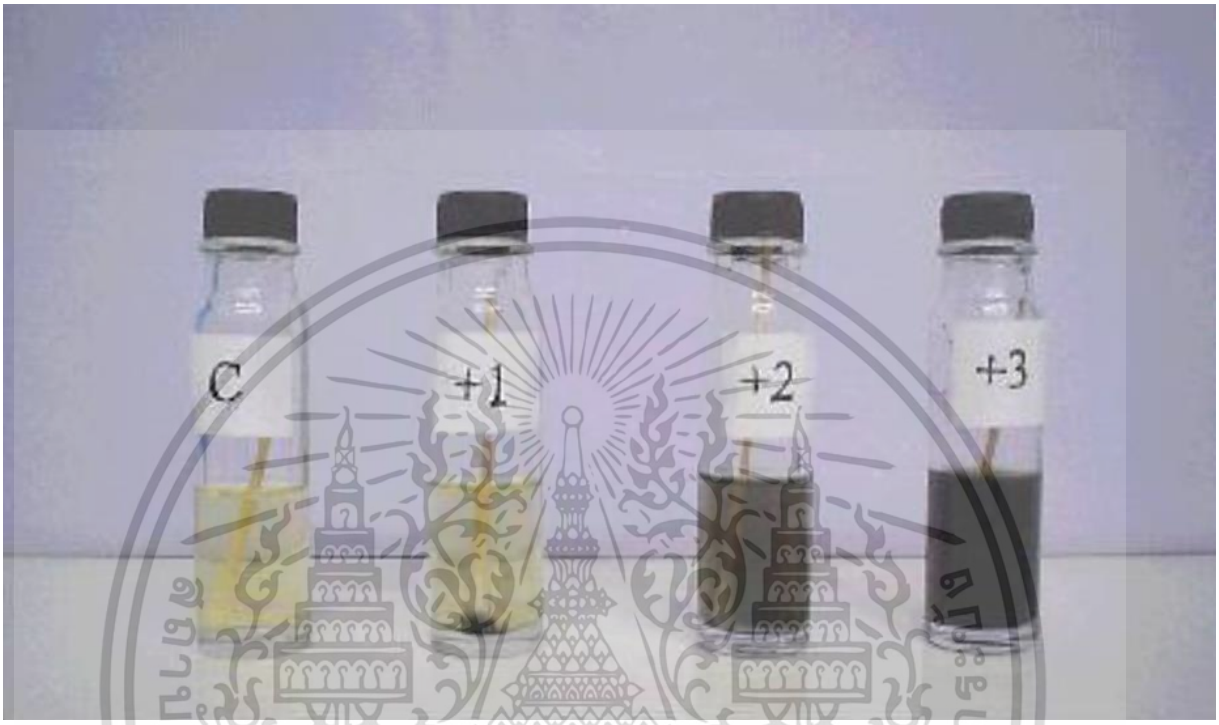
นำผ้าที่ใช้ก่อนและหลังจากเช็ดพื้นผิวการเตรียมอาหารมาสวอปด้วยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (Swab Test) (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand) โดยนำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ และเช็ดบริเวณภายในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดที่มีน้ำยาทดสอบหักก้านไม้พันสำลีไม่ให้เกินปากขวด ปิดฝาให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน จึงประเมินผล

3.3.3.4การทดสอบประสิทธิภาพบนผิวการเตรียมอาหารในการปฏิบัติงานจริงด้วยสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม

หลังจากได้วิธีการทำความสะอาดจากข้อ 3.3.3.2 ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และเวลาจากข้อ 3.3.2.3 ที่มีความเหมาะสมแล้วนำมาใช้จริงในพื้นที่ปฏิบัติงานห้องครัว LKโดยได้ทำการทำการทวนสอบโดยการสุ่มสวอป 3 ช่วงเวลา คือ ช่วงเวลา 10.00-11.00 น., ช่วงเวลา 14.00-15.00 น. และ ช่วงเวลา 19.00-20.00 น. ด้วยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, Thailand) โดยนำไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ และเช็ดบริเวณภายในช่องแผ่นกำหนดพื้นที่ขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร ทั้งก่อนและหลังจากทำความสะอาด รวมถึงผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ได้จากข้อ 3.3.3.1 จากนั้นนำไม้พันสำลีใส่ลงในหลอดที่มีน้ำยาทดสอบหักก้านไม้พันสำลีไม่ให้เกินปากขวด ปิดฝาให้แน่น แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน จึงประเมินผล เพื่อทวนสอบวิธีการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อ

การประเมินผลการทดสอบความสะอาดของภาชนะสัมผัสอาหารและมือ จะแบ่งเป็นระดับต่าง ๆ ดังภาพที่ 3.1 โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบและการเกิดตะกอนสีดำ โดยระดับ C

ไม่มีตะกอนดำ ระดับ +1 มีตะกอนดำที่ปลายสำลี ระดับ +2 มีสีดำกระจายทั่วขวด แต่ยังมองทะลุขวดได้ ระดับ +3 มีสีดำเข้ม มองไม่เห็นก้านสำลี สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เกิดจากเชื้อ Coliforms ใช้น้ำตาลแลคโตส เกิดเป็นกรดและแก๊ส ทำให้หลอดอาหารมีตะกอนสีดำเกิดขึ้น



ภาพที่ 3.1 ระดับการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบและการเกิดตะกอนสีดำ
ที่มา: คู่มือชุดทดสอบอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2561)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการสำรวจเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวประกอบอาหารและสภาพแวดล้อม

จากการเก็บตัวอย่างพื้นผิวการประกอบอาหาร โดยทำการสวอปพื้นผิวบนโต๊ะที่ใช้ในการปฏิบัติงานจริง ประกอบไปด้วย การเก็บตัวอย่างสภาพแวดล้อมภายในห้องครัว การเก็บตัวอย่างผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นผิวโต๊ะ มือของพนักงานที่ปฏิบัติงานในส่วนของพื้นที่ประกอบอาหารของโรงแรม ประกอบไปด้วย 3 ห้องครัว คือ ห้องครัว Butcher (BC) สำหรับเตรียมอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ห้องครัว Pastry (PT) สำหรับประกอบอาหารประเภทขนมปังและขนมเค้ก ห้องครัวสำหรับประกอบอาหารเสิร์ฟแขก (LK) พบว่า คุณภาพทางจุลินทรีย์ของสภาพแวดล้อม ในห้องครัวทั้งสามห้องปริมาณจุลินทรีย์ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณจุลินทรีย์ที่พบได้ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราในอากาศของห้องครัว ดังที่แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในสภาพแวดล้อมของห้องครัว (CFU/15 min)

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count: TPC) (CFU/15 min)*				ยีสต์และรา (Yeast and Mold) (CFU/15 min)*			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
มาตรฐาน	< 500							
BC	4	1	3	2.7	0	1	0	0.3
PT	5	6	3	4.7	0	2	3	1.7
LK	5	2	4	3.7	0	1	2	1.0

หมายเหตุ: BC คือ ห้องครัว Butcher สำหรับเตรียมอาหารประเภทเนื้อสัตว์, PT คือห้องครัว Pastry สำหรับประกอบอาหารประเภทขนมปังและขนมเค้ก, LK ห้องครัวสำหรับประกอบอาหารเสิร์ฟแขก, ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนเมษายน ถึง กันยายน 2562

* วิธีการตรวจสอบทำตามวิธีของ America public health association (APHA) (Seveum และคณะ, 1992)

จากการทำการเก็บตัวอย่างพื้นที่ผิวการเตรียมอาหาร โดยทำการสวอปพื้นที่ของพื้นผิวการเตรียมอาหารสองจุดต่อหนึ่งห้องครัว ของทั้งสามห้องครัว พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count:

TPC) ของทุกห้องครัวนั้นเกินกว่าเกินมาตรฐานที่กำหนด โดยห้องครัวที่พบมากที่สุดคือ ห้อง LK จุดที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 1.7×10^{2} cfu/cm^{2} และจุดที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 1.5×10^{6} cfu/cm^{2} รองลงมาคือห้อง PT จุดที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 1.5×10^{2} cfu/cm^{2} และจุดที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 9.0×10^{2} cfu/cm^{2} ส่วนห้อง BC พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจุดที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 3.3 cfu/cm^{2} และ จุดที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 1.0×10^{3} cfu/cm^{2} และยังพบ *E.coli* ในห้องครัว PT จุดที่ 1 เฉลี่ยเท่ากับ 26.3 cfu/cm^{2} และ จุดที่ 2 เฉลี่ยเท่ากับ 1.0 cfu/cm^{2} หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาด ในส่วนของผ้าที่ใช้เช็ดพื้นที่ผิวของพื้นผิวการเตรียมอาหารอาหารนั้นพบว่า ผ้าที่ใช้เช็ดพื้นผิวของทุกห้องครัวมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน โดยผ้าของห้อง PT พบการปนเปื้อนมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.0×10^{6} cfu/cm^{2} รองลงมาคือ ห้อง BC เฉลี่ยเท่ากับ 1.1×10^{6} cfu/cm^{2} และห้อง LK เฉลี่ยเท่ากับ 5.8×10^{4} cfu/cm^{2} นอกจากนี้พบว่าผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง BC ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 95.3 cfu/cm^{2} ตามลำดับ ผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง PT พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* และ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 100 และ 100 cfu/cm^{2} ตามลำดับ ส่วนผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง LK พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Staph. aureus* และ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 72.7 และ 35.7 cfu/cm^{2} ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดนั้นไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของเชื้อจุลินทรีย์ข้างต้นที่ระบุไม่ให้พบเชื้อ *Staph. aureus*, *E.coli*, Coliforms, *B. cereus, C. Perfringen* และ *Salmonella spp.*ตามเกณฑ์มาตรฐาน ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (2560) ดังที่แสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3

จากตารางที่ 4.2 พบการปนเปื้อนของโคโลนี *Staph. aureus* บนผ้าที่ใช้ทำการเช็ดพื้นผิวของโต๊ะบริเวณห้อง LK จึงทำการส่งตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA โดยการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และศึกษาทางลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมแกรม พบว่า โคโลนีของเชื้อดังกล่าวคือโคโลนีของเชื้อ *Staph. aureus* จริง แสดงในภาพที่ 4.1 และผลการระบุสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA ดังแสดงในภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนพื้นผิวการเตรียมอาหารและผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นผิว (CFU /cm^2)

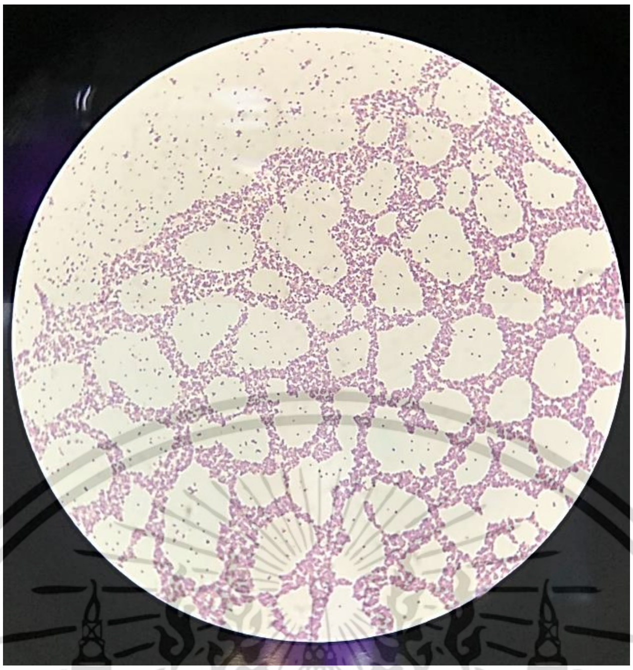
ตัวอย่าง	**ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count: TPC) (CFU /cm^2)**			***Staph. aureus*** **(CFU /cm^2)**			***E. coli*** **(CFU /cm^2)**			**Coliforms (CFU /cm^2)**		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
มาตรฐาน		**<100**			**ไม่พบ**			**ไม่พบ**			**ไม่พบ**	
Area1 BC	10.0	0.00	3.3	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area2 BC	3.1×10^3	0.00	1.0×10^3	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area1 PT	3.9×10^3	180.00	1.5×10^3	-	-	ไม่พบ	79.0	0.0	26.3	-	-	ไม่พบ
Area2 PT	2.6×10^3	29.00	9.0×10^2	-	-	ไม่พบ	3.0	0.0	1.0	-	-	ไม่พบ
Area1 LK	4.9×10^2	0.00	1.7×10^2	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area2 LK	4.6×10^6	0.00	1.5×10^6	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Cotton BC	3.1×10^6	5.1×10^4	1.1×10^6	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	286.0	0.0	95.3
Cotton PT	7.1×10^6	3.8×10^4	3.0×10^6	-	-	ไม่พบ	300.0	0.0	100.0	300.0	0.0	100.0
Cotton LK	1.3×10^5	2.1×10^4	5.8×10^4	185.0	11.0	72.7	-	-	ไม่พบ	107.0	0.0	35.7

หมายเหตุ: BC คือ ห้องครัว Butcher สำหรับเตรียมอาหารประเภทเนื้อสัตว์, PT คือห้องครัว Pastry สำหรับประกอบอาหารประเภทขนมปังและขนมเค้ก, LK คือห้องครัวสำหรับประกอบอาหารเสิร์ฟแขก, Cotton คือผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นผิวในห้องครัวต่าง ๆ ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนเมษายน ถึง กันยายน 2562

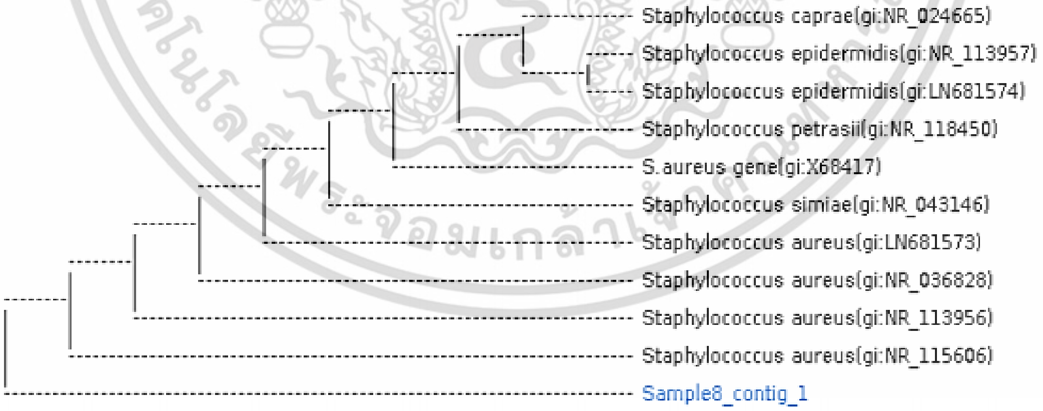
ตารางที่ 4.3 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนพื้นผิวการเตรียมอาหารและผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดของพื้นผิว (CFU /cm^2)

ตัวอย่าง	***B. cereus*** **(CFU /cm^2)**			***C. perfringen*** **(CFU /cm^2)**			***Salmonella spp.*** **(CFU /cm^2)**		
	สูงสุด	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**
มาตรฐาน	**ไม่พบ**			**ไม่พบ**			**ไม่พบ**		
Area1 BC	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area2 BC	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area1 PT	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area2 PT	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area1 LK	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Area2 LK	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Cotton BC	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Cotton PT	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
Cotton LK	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ

หมายเหตุ: BC คือ ห้องครัว Butcher สำหรับเตรียมอาหารประเภทเนื้อสัตว์, PT คือห้องครัว Pastry สำหรับประกอบอาหารประเภทขนมปังและขนมเค้ก, LK คือห้องครัวสำหรับประกอบอาหารเสิร์ฟแขก, Cotton คือผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นผิวในห้องครัวต่าง ๆ ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนเมษายน ถึง กันยายน 256



ภาพที่ 4.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100X) ของเชื้อ *Staph. aureus* ที่ผ่านการตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA ที่แยกได้จากตัวอย่างผ้าเช็ดทำความสะอาดของห้อง LK


Staphylococcus caprae(gi:NR_024665)
Staphylococcus epidermidis(gi:NR_113957)
Staphylococcus epidermidis(gi:LN681574)
Staphylococcus petrasii(gi:NR_118450)
S.aureus gene(gi:X68417)
Staphylococcus simiae(gi:NR_043146)
Staphylococcus aureus(gi:LN681573)
Staphylococcus aureus(gi:NR_036828)
Staphylococcus aureus(gi:NR_113956)
Staphylococcus aureus(gi:NR_115606)
Sample8_contig_1

ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบ phylogenetic จาก Genbank ของเชื้อ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากผ้าเช็ดทำความสะอาดของห้อง LK

หมายเหตุ: Sample 8_contig_1 คือ รหัสตัวอย่างเชื้อ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากผ้าเช็ดทำความสะอาดของห้อง LK

ตารางที่ 4.4 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบบนมือของพนักงาน (CFU/hand)

ตัวอย่าง	**Total plate count (TPC)**			***Staph. aureus***			***E. coli***			**Coliforms**		
	สูงสุด	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**เฉลี่ย**
มาตรฐาน		**< 500**			**ไม่พบ**			**ไม่พบ**			**ไม่พบ**	
BC1 BF	7.1×10^2	201.0	4.0×10^2	-	-	ไม่พบ			ไม่พบ	90.0	0.0	30.0
BC1 AT	6.0	0.0	2.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
BC2 BF	6.9×10^3	30.0	2.3×10^3	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
BC2 AT	1.9×10^2	9.0	69.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
PT1 BF	2.2×10^5	0.0	7.4×10^4	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
PT1 AT	74.0	23.0	32.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
PT2 BF	95.0	6.0	35.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
PT2 AT	13.0	6.0	6.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
LK1 BF	3.7×10^2	24.0	1.5×10^2	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
LK1 AT	84.0	5.0	30.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
LK2 BF	31.0	0.0	11.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ
LK2 AT	8.0	1.0	3.0	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ	-	-	ไม่พบ

หมายเหตุ: BC1 BF คือมือของพนักงานคนที่ 1 ก่อนล้างมือ, BC1 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 1 หลังล้างมือ, BC2 BF คือมือของพนักงานคนที่ 2 ก่อนล้างมือ, BC2 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 2 หลังล้างมือ, PT1 BF คือมือของพนักงานคนที่ 1 ก่อนล้างมือ, PT1 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 1 หลังล้างมือ, PT2 BF คือมือของพนักงานคนที่ 2 ก่อนล้างมือ, PT2 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 2 หลังล้างมือ, LK1 BF คือมือของพนักงานคนที่ 1 ก่อนล้างมือ, LK1 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 1 หลังล้างมือ, LK2 BF คือมือของพนักงานคนที่ 2 ก่อนล้างมือ, LK2 AT คือ มือของพนักงานคนที่ 2 หลังล้างมือ, ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนเมษายน ถึง กันยายน 2562

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

จากผลการทดลองการเก็บตัวอย่างมือของพนักงานผู้สัมผัสอาหารของห้องครัวทั้งสามห้องห้องละ 2 คน ทำการสวอปมือทั้งก่อนและหลังล้างมือ พบว่า มือก่อนล้างของพนักงานที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่ามาตรฐานได้แก่ มือของพนักงานคนที่ 2 ของห้อง BC และ พนักงานคนที่ 1 ของห้อง PT เท่ากับ 2.3×10^3 และ 7.4×10^4 cfu/hand ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ามือก่อนล้างของพนักงานคนที่ 1 ของห้อง BC นั้นมีการปนเปื้อนของ Coliforms เท่ากับ 30 cfu/hand เมื่อพนักงานล้างมือเสร็จแล้วทำการสวอปอีกครั้งพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, ปริมาณ *Staph. aureus*, *E. coli* และ Coliforms ไม่เกินกว่าที่มาตรฐานกำหนดดังที่แสดงในตารางที่ 4.4

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไม่พบ *Staph. aureus*, Coliforms บนพื้นผิวโต๊ะที่ใช้ประกอบอาหาร แต่สามารถพบได้ในผ้าไมโครไฟเบอร์หลังการทำความสะอาด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kusumaningrum และคณะ(2003) ที่พบว่า หลังจากที่ใช้ผ้าทำความสะอาดพื้นผิวที่มีเชื้อ *Staph. aureus* เท่ากับ 10^5 CFU/100 cm^2 สามารถลดปริมาณบนพื้นผิวได้จนเหลือน้อยกว่า 4 CFU/100 cm^2 และพบ เชื้อ *Staph. aureus* บนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ 10^4 -10^5 CFU/100 cm^2 เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Speirs และคณะ (1995) รายงานว่าผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดนั้นมักมีเชื้อ *Staph. aureus* ปนเปื้อนอยู่ ทั้งนี้การปนเปื้อนดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนข้ามที่เกิดจากวัตถุดิบหรือตัวพนักงานที่ให้บริการภายในห้องดังกล่าวเองก็สามารถเป็นแหล่งของเชื้อได้หากไม่มีการดูแลสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีอยู่เสมอ (Westwood และคณะ, 1971; de Wit และคณะ, 1979; Speirs และคณะ, 1995; Schraft และคณะ, 2005) และจากการศึกษาที่พบเชื้อ *Staph. aureus* บนผ้าที่ใช้ทำความสะอาดบนพื้นผิวครัว LK เท่านั้น อาจเกิดขึ้นได้จากจำนวนพนักงานของครัว LK มีปริมาณมากกว่า BC และ PT เป็นสองเท่า ทำให้พนักงานที่สัมผัสผ้ามีความหลากหลายมากกว่าครัวอื่นและเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *Staph. aureus* ได้ แต่เมื่อมาพิจารณาผลจากการสวอปมือของพนักงานในครัว LK ตรวจไม่พบเชื้อ *Staph. aureus* บนมือของพนักงาน อาจเกิดได้จากจำนวนพนักงานที่ถูกสวอปนั้นน้อยเมื่อเทียบกับจำนวนพนักงานที่ปฏิบัติงานจริง แต่อย่างไรก็ตาม Staphylococci สามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไป รวมถึงวัตถุดิบต่าง ๆ (Hait, 2012)

จากผลการวิเคราะห์ กล่าวได้ว่าเชื้อ *Staph. aureus* เป็นเชื้อที่มีการปนเปื้อนจากมนุษย์สู่สิ่งแวดล้อมและอาหาร ซึ่งกระบวนการผลิตอาหารภายในโรงแรมใช้คนในการผลิตและปรุงอาหาร ทำให้มีความเสี่ยงจากการปนเปื้อนเชื้อ *Staph. aureus* ลงสู่อาหารและก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภค นอกจากนี้ข้อมูลจากศูนย์ควบคุมโรคติดต่อสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Staph. aureus* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอันดับ 5 ที่เป็นสาเหตุให้เกิดความเจ็บป่วยเนื่องจากอาหาร ดังนั้นจึงได้ทำการนำเชื้อ *Staph. aureus* ที่ผ่านการตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S rRNA ที่แยกได้จากตัวอย่างผ้าเช็ดทำความสะอาดของห้อง LK มาทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในข้อ 4.2 ต่อไป

4.2 ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง

จากการทำการทดลองในหัวข้อที่ 4.1 นำเชื้อ *Staph. aureus* ที่อยกได้จากตัวอย่างผ้าเช็ดทำความสะอาดพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารของห้อง LK มาทดสอบต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม ซูม่า เจ 512 (Suma J-512) เข้มข้น 100 200 และ 400 ppm ร่วมกับผลของเวลาที่ 1 5 10 และ 15 นาที เพื่อหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* พบว่าปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นและเวลาในการฆ่าเชื้อโดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่า ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log CFU/ml ปริมาณเชื้อเหลือรอดในหลอดที่ไม่มีการใส่สารฆ่าเชื้อเปรียบเทียบกับหลอดที่มีการใส่สารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงเวลา 1-5 นาที ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 100 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ร้อยละ 100.00 ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 200 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ร้อยละ 100.00 และที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 400 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ร้อยละ 100.00 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ได้ทั้งหมด (ตารางที่ 4.5) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7 log CFU/ml ปริมาณเชื้อเหลือรอดในหลอดที่ไม่มีการใส่สารฆ่าเชื้อเปรียบเทียบกับหลอดที่มีการใส่สารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงเวลา 1 - 15 นาที ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 100 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ในช่วงร้อยละ 8.83-26.68 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 200 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ในช่วงร้อยละ 10.22 –29.50 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 400 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ในช่วงร้อยละ 16.64 – 46.90 (ตารางที่ 4.6)

สารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) สามารถฆ่าเชื้อ *Staph. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) เป็นสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม เจนเนอเรชั่น 2 (alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride) เป็นสารฆ่าเชื้อชนิดหนึ่งที่มีกลไกในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งจุลินทรีย์แกรมบวกและจุลินทรีย์แกรมลบ แต่จะสามารถมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกได้ดีกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ โดยสารกลุ่มนี้มีกลไกในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกันไปจับกับประจุลบที่อยู่บนผนังเซลล์ ขัดขวางของการส่งออกสารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ และเซลล์จะตายในที่สุด (Ramzi และคณะ, 2020) ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสารยิ่งช่วยให้สามารถสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ioannou และคณะ, 2007) สอดคล้องกับ สุมณฑา (2547) กล่าวว่า กลไกการยับยั้งเชื้อจะอาศัยสมบัติทางเคมีของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่เป็นสารลดแรงตึงผิวประจุบวกซึ่งมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีกับเซลล์ ออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ และเนื่องจากสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม มีความเป็นพิษต่ำจึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมการบริการอาหารอย่างแพร่หลาย และยังนิยมใช้ในสถานประกอบการอาหาร โรงเรียน สถานบริการสุขภาพ

ซึ่งมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญ(Gerba, 2015) และยังสามารถหาซื้อได้ง่าย การใช้งานในโรงแรมเป็นไปได้ง่าย เนื่องจากทางบริษัท ได้เข้ามาติดตั้งหัวจ่ายน้ำยาเพื่อทำการผสมน้ำยากับน้ำตามความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำให้สะดวกต่อการใช้งานของพนักงาน

จากผลการทดลองข้างต้น ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 3 log CFU/ml พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของใช้สารฆ่าเชื้อ ความเข้มข้น 100 ppm เวลาสัมผัส 5 นาทีสามารถทำลายเชื้อ *Staph. aureus* ได้ทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อุกกษฎ์ (2556) ที่พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นดังกล่าว สาร QUAT SAN^{TM} ที่ความเข้มข้น 100 ppm เวลาสัมผัส 1 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบงานวิจัยของ Fazlara และ Ekhtelat (2012) รายงานว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารฆ่าเชื้อในกลุ่มควอเทอร์นารีแอมโมเนีย (alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride) ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้เท่ากับ 40- 45 ppm ส่วนที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7 log CFU/ml พบว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้สูงสุดคือ สารความเข้มข้น 400 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที มีปริมาณเชื้อลดลงร้อยละ 46.90 จากคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 กล่าวว่า ความเข้มข้นของสารที่เหมาะสมและไม่เป็นอันตราย คือ 200 ppm ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที สารสามารถสลายตัวเองเมื่อสัมผัสกับออกซิเจน ทำให้ไม่ปนเปื้อนลงสู่อาหาร และไม่ก่อให้เกิดอันตรายทางสารเคมีแก่ผู้บริโภค ซึ่งสอดคล้องกับ FDA (2002) ที่ระบุใน 21CFR178.1010 ว่า สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมความเข้มข้น 200 ppm สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยปล่อยไว้ให้แห้งโดยไม่ต้องล้างออก นอกจากนี้ Gaulin และคณะ (2011) ได้รายงานว่า สารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมมีความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 200 ppm หากเพิ่มความเข้มข้นมากกว่า 200 ppm ต้องใช้น้ำล้างออก ยังส่งผลให้ระคายเคืองที่ผิวหนังหรือจากการสูดดม เช่นเดียวกับงานวิจัยของ อุกกษฎ์ (2556) ได้เลือกความเข้มข้นของสาร QUAT SAN^{TM} ที่ความเข้มข้น 200 ppm ระยะเวลาสัมผัส 5 นาที สามารถลดเชื้อ *Staph. hominis* ที่เชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 CFU/ml Chaidez และคณะ (2007) รายงานว่า การเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสของสารฆ่าเชื้อส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น และจากการทดลองในข้อที่ 4.1 ที่ได้ทำการสำรวจปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารในระหว่างการปฏิบัติงาน และบนผ้าที่ใช้ทำความสะอาด พบเชื้อ *Staph. aureus* เฉลี่ยเท่ากับ 72.7 cfu/cm^2 บนผ้าที่ใช้ทำความสะอาดเท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกปัจจัยของความเข้มข้นและเวลาของสารฆ่าเชื้อ ซูม่า เจ 512 เท่ากับ 200 ppm ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที เนื่องจากความเหมาะสมในทางปฏิบัติในพื้นที่จริง เพื่อนำมาศึกษาต่อในข้อ 4.3

ตารางที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) และระยะเวลาในการสัมผัสต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 3.43 log CFU/ml ในหลอดทดลอง

ความเข้มข้นของสาร QUAT (ppm)	**pH**	**ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอด ($\log_{10}$ CFU/ml)**							
		1 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	5 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	10 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	15 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ
0	7.09 ±0.02	$3.39^{Aa}\pm0.20$	0.87	$3.42^{Aa}\pm0.17$	0.19	$3.39^{Aa}\pm0.25$	1.00	$3.33^{Aa}\pm0.13$	2.68
100	7.18 ±0.02	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00
200	7.83 ±0.01	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00
400	7.98 ±0.02	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00	$0.00^{Bb}\pm0.00$	100.00

หมายเหตุ:

- ตัวอักษร A และ B ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่เหลือรอดตามปริมาณความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาสัมผัสเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ตัวอักษร a และ b ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่เหลือรอดตามปริมาณความเข้มข้นของสารเดียวกันที ระยะเวลาสัมผัสต่างกัน มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ร้อยละการลดลงของเชื้อ = $\dfrac{\text{[ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log CFU/ml) – ปริมาณเชื้อที่เหลือรอด (log CFU/ml)} \times 100}{\text{ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log CFU/ml)}}$

ตารางที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) และระยะเวลาในการสัมผัสต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7.97 log CFU/ml ในหลอดทดลอง

ความเข้มข้นของสาร QUAT (ppm)	**pH**	**ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอด(log $_{10}$CFU/ml)**							
		1 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	5 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	10 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ	15 นาที	ร้อยละการลดลงของเชื้อ
0	7.03 ± 0.02	7.7^{Aa}±0.59	3.37	7.72^{Ab}±0.29	3.19	7.68^{Ab}±0.59	3.72	7.69^{Ac}±1.16	3.60
100	7.41 ±0.01	7.46^{Bb}±0.03	8.83	7.25^{Bb}±0.19	11.36	6.50^{Bb}±0.35	20.47	5.99^{Bc}±0.64	26.68
200	7.73 ±0.01	7.34^{Bb}±0.26	10.22	6.66^{Bb}±0.18	18.63	6.38^{Bb}±0.15	22.05	6.04^{Bc}±0.24	29.50
400	8.04 ±0.01	6.82^{Ca}±0.61	16.64	6.07^{Cb}±0.25	25.74	5.56^{Cb}±0.35	32.05	4.34^{Cc}±0.08	46.90

หมายเหตุ:

- ตัวอักษร A, B และ C ในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่เหลือรอดตามปริมาณความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาสัมผัสเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ตัวอักษร a, b และc ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่เหลือรอดตามปริมาณความเข้มข้นของสารเดียวกันทีระยะเวลาสัมผัสต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ร้อยละการลดลงของเชื้อ = $\frac{\text{[ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log CFU/ml) – ปริมาณเชื้อที่เหลือรอด (log CFU/ml)} \times 100}{\text{ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log CFU/ml)}}$

4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหาร

จากผลการทดลองจากข้อที่ 4.2 ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) ที่สามารถสามารถยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ได้ คือ ความเข้มข้นที่ 200 ppm เป็นเวลา 10 นาที นำมาใช้ในการปฏิบัติงานจริงในห้องครัว LK ที่มีพื้นผิวการเตรียมอาหารรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีขนาด 105 x 554 เซนติเมตร พื้นผิวทำจากแสตนเลส ครัว LK มีการปฏิบัติงานตลอด 24 ชั่วโมง ช่วงเวลาที่เข้าไปเก็บตัวอย่างเป็นช่วงเวลาพัก ก่อนเริ่มรอบถัดไป คือ เวลา 10.30 -11.00 ชม. โดยก่อนเริ่มทำความสะอาดทำการเก็บตัวอย่างด้วยวีธีการสวอปด้วยไม้พันสำลี (swab test) บนพื้นผิวโต๊ะประกอบอาหารจากแผ่นกำหนดพื้นที่ 10 x 10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 จุด โดยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ เป็นชุดทดสอบ Coliforms ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ใช้ชี้วัดความสะอาดของพื้นผิวการเตรียมอาหารและน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต ชุดทดสอบมีความสะดวกต่อการตรวจสอบความสะอาดในพื้นที่ในเบื้องต้นและได้ผลที่รวดเร็ว ดังตารางที่ 4.7

จากตารางที่ 4.7 ผลการทดลอง พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวการเตรียมก่อนการทำความสะอาด จากผลการสวอปทั้ง 3 ครั้ง จากนั้นทำการเปรียบเทียบวิธีการทำความสะอาด โดยวิธีชุบเช็ดกับวีธีการสเปรย์ โดยวิธีการชุบเช็ด นำผ้าไมโครไฟเบอร์ จุ่มลงในสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ให้ท่วม บิดผ้า แล้วนำผ้าที่ชุ่มด้วยสารฆ่าเชื้อ เช็ดบนพื้นผิวการเตรียมอาหาร ไปในทิศทางเดียวกัน โดยไม่เช็ดย้อนทิศทางไปมา ทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเก็บตัวอย่างพื้นผิวการเตรียมอาหารหลังการทำความสะอาด พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ด จากผลการสวอปทั้ง 3 ครั้ง รวมถึงไม่พบเชื้อบนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้ทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ด จากทั้ง 3 ครั้ง และวิธีการสเปรย์ นำสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ-512 (Suma J-512) ที่ความเข้มข้นที่คัดเลือกที่ 200 ppm ใส่ลงในกระบอกฉีดน้ำยาฆ่าเชื้อ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร และนำมาสเปรย์ลงบนพื้นผิวปริมาตร 100 มิลลิลิตร ให้ทั่ว แล้วนำผ้าไมโครไฟเบอร์เช็ดให้ทั่วพื้นผิวไปในทิศทางเดียวกัน โดยไม่เช็ดย้อนทิศทางไปมา ทิ้งไว้ให้แห้ง เป็นเวลา 10 นาที พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีสเปรย์ จากผลการสวอปทั้ง 3 ครั้ง จากผลการทำความสะอาดพื้นผิวการเตรียมอาหารทั้งสองวิธี พบเชื้อ Coliforms 1 ครั้ง จากทั้ง 3 ครั้ง บนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้วิธีสเปรย์

ตารางที่ 4.7 ผลการตรวจเชื้อ Coliforms จากการสวอปพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัวเปรียบเทียบวิธีการความสะอาดโดยการสเปรย์และการชุบเช็ดสารฆ่าเชื้อ

วิธีการ	ตัวอย่าง	จำนวนครั้งในการ สวอป	จำนวนสวอปที่ตรวจพบเชื้อ Coliforms	จำนวนสวอปที่ตรวจไม่พบเชื้อ Coliforms
สเปรย์	1. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาดจุดที่ 1	3	0	3
	2. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาดจุดที่ 2	3	0	3
	3. ผ้าก่อนการทำความสะอาด	3	0	3
	4. ผ้าหลังทำความสะอาด	3	1	2
	5. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 1	3	0	3
	6. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 2	3	0	3
ชุบเช็ด	1. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาดจุดที่ 1	3	0	3
	2. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาดจุดที่ 2	3	0	3
	3. ผ้าก่อนการทำความสะอาด	3	0	3
	4. ผ้าหลังทำความสะอาด	3	0	3
	5. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 1	3	0	3
	6. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 2	3	0	3

หลังจากได้วิธีการทำความสะอาด ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และเวลา ที่มีความเหมาะสมแล้ว นำมาใช้จริงในพื้นที่ปฏิบัติงาน โดยนำผ้าไมโครไฟเบอร์ จุ่มลงในสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ให้ท่วม บิดผ้า แล้วนำผ้าที่ชุ่มด้วยสารฆ่าเชื้อ เช็ดบนพื้นผิวการเตรียมอาหารไปในทิศทางเดียวกัน โดยไม่เช็ดย้อนทิศทางไปมา ทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงทำการทวนสอบโดยการสุ่มสวอป 3 ช่วงเวลา คือ ช่วงเวลา 10.00-11.00 น., ช่วงเวลา 14.00-15.00 น. และ ช่วงเวลา 19.00-20.00 น. ทั้งนี้ในช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างในพื้นที่การปฏิบัติงานจริงนั้น (เมษายน- พฤษภาคม 2564) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาที่มีการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวประกอบอาหาร (เมษายน-กันยายน 2562) มีความหนาแน่นของการทำงานและพนักงานแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ส่งผลให้การเจอเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่อาจจะมาจากตัวพนักงานหรือวัตถุดิบลดน้อยลงไปด้วย ทำการสวอปด้วยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ดจากทั้ง 3 ครั้ง รวมถึงไม่พบเชื้อบนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้ทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ดจากทั้ง 3 ครั้ง จากทั้ง 3 ช่วงเวลา ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการตรวจเชื้อ Coliform จากการสวอปพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ห้องครัวในการปฏิบัติงานจริงโดยวิธีความสะอาดด้วยการชุบเช็ดสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิว

ช่วงเวลา	ตัวอย่าง	พบเชื้อ Coliforms	ไม่พบเชื้อ Coliforms
10.00-11.00 น.	1. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาด	-	/
	2. ผ้าหลังทำความสะอาด	-	/
	3. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 1	-	/
	4. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 2	-	/
14.00-15.00 น.	1. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาด	-	/
	2. ผ้าหลังทำความสะอาด	-	/
	3. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 1	-	/
	4. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 2	-	/
19.00-20.00 น.	1. พื้นผิวก่อนการทำความสะอาด	-	/
	2. ผ้าหลังทำความสะอาด	-	/
	3. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 1	-	/
	4. พื้นผิวหลังทำความสะอาดจุดที่ 2	-	/

จากผลการทดลองดังกล่าว พบเชื้อ Coliforms บนผ้าไมโครไฟเบอร์หลังการทำความสะอาดด้วยวิธีสเปรย์ แต่ไม่พบบนพื้นผิวทั้งก่อนและหลังการทำความสะอาด เนื่องจากพื้นผิวการเตรียมอาหารค่อนข้างใหญ่ ครัว LK เป็นลักษณะครัวกึ่งเปิด พนักงานจากแผนกอื่นที่ไม่ใช่ผู้สัมผัสอาหารสามารถเดินผ่านใกล้กับบริเวณพื้นผิวการเตรียมอาหา อีกทั้งพื้นผิวการเตรียมอาหารอยู่ใกล้กับประตูทางเข้าออกไปยังห้องอาหาร และครัว LK มีจำนวนพนักงานมากกว่าครัวอื่น ๆ 2 เท่า นอกจากนี้ครัว LK ยังมีปฏิบัติงานตลอด 24 ชั่วโมง มีการนำเข้าวัตถุดิบที่หลากหลายและมากกว่าครัวอื่น ทำให้โอกาสของการปนเปื้อนของเชื้อ Coliforms ไปยังพื้นผิวของครัว LK มากกว่าครัวอื่น ๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tominaga และคณะ (2008) รายงานว่าพบเชื้อ Coliforms ในบริเวณ พื้นของห้องปฏิบัติงาน เครื่องมือการทำงาน ในอากาศ สภาพแวดล้อม วัตถุดิบ รวมไปถึงห้องแช่เย็นที่เก็บวัตถุดิบ ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนข้ามจากคน วัตถุดิบ หรือ สัตว์พาหะ ไปยังพื้นผิวต่าง ๆ การพบเชื้อ Coliforms บนผ้าไมโครไฟเบอร์นั้น มีสาเหตุมาจากผ้าไมโครไฟเบอร์มีลักษณะที่สามารถกักเก็บสิ่งสกปรกไว้กับตัวเองได้ดี (Trajtman และคณะ, 2015) หากไม่มีการทำความสะอาดอย่างเพียงพอ เชื้อจุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนได้บนผ้าไมโครไฟเบอร์ เป็นสาเหตุทำให้พบเชื้อ Coliforms ในผ้าไมโครไฟเบอร์ Bergen และคณะ 2008 รายงานว่า ผ้าไมโครไฟเบอร์สามารถกระจายเชื้อจุลินทรีย์ไปยังพื้นผิวต่าง ๆ ได้ ดังนั้นการดูแลความสะอาดของผ้าไมโคร

ไฟเบอร์จึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์และการกระจายเชื้อจุลินทรีย์ไปยังพื้นผิวอื่น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพื้นผิวการเตรียมอาหารที่ถูกทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ดหรือวิธีสเปรย์ สามารถกำจัดเชื้อ Coliforms ได้เช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากการรักษาความสะอาดของผ้าไมโครไฟเบอร์เป็นสิ่งสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกวิธีชุบเช็ด เป็นวิธีที่ใช้ในการทำความสะอาดพื้นผิวการเตรียมอาหารในการปฏิบัติงานจริง เนื่องจากผ้าไมโครไฟเบอร์จะถูกแช่ในถังที่มีสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) ที่มีความเข้มข้น 200 ppm ตลอดการใช้งาน จึงสะดวกต่อการใช้งานของพนักงานที่สามารถนำผ้าที่ถูกแช่ในสารฆ่าเชื้อมาทำความสะอาดพื้นผิวการเตรียมอาหารได้ทันที ทั้งนี้พนักงานจะมีการวัดความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อด้วยกระดาษทดสอบความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ Quaternary (QT-10) ทุก ๆ 2 ชั่วโมงและสารฆ่าเชื้อจะถูกเปลี่ยนทุก ๆ 2 ชั่วโมงหรือเมื่อมีการปฏิบัติงานมาก นอกจากนี้ผ้าไมโครไฟเบอร์จะต้องถูกเปลี่ยนใหม่เพื่อส่งซัก ทุก 4 ชั่วโมง เพื่อลดการเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนผ้าไมโครไฟเบอร์และลดการปนเปื้อนข้ามไปยังพื้นผิวการเตรียมอาหารอื่น ๆ อีกด้วย

หลังจากที่นำวิธีชุบเช็ดไปใช้ในการปฏิบัติงานจริง ได้ทำการสุ่มสวอปในห้องครัว LK จาก 3 ช่วงเวลา ที่มีการปฏิบัติงานมาก ด้วยชุดทดสอบความสะอาดภาชนะสัมผัสอาหารและมือ พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ด รวมถึงไม่พบเชื้อบนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้ทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ดจากทั้ง 3 ครั้ง จากทั้ง 3 ช่วงเวลา

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างพื้นผิวการประกอบอาหารโดยทำการสวอปพื้นผิวบนโต๊ะที่ใช้ในการปฏิบัติงานจริงและผ้าที่ใช้ทำความสะอาดพื้นผิวจากทั้งสามห้องครัว พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count: TPC) ของทุกห้องครัวนั้นเกินกว่าเกินมาตรฐานที่กำหนด โดยห้องครัวที่พบมากที่สุดคือ ห้อง LK เฉลี่ยเท่ากับ 1.7×10^{2} และ 1.5×10^{6} cfu/cm^{2} รองลงมาคือห้อง PT เฉลี่ยเท่ากับ 1.5×10^{2} และ 9.0×10^{2} cfu/cm^{2} ส่วนห้อง BC พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 3.3 และ 1.0×10^{3} cfu/cm^{2} และยังพบเชื้อ *E. coli* บนพื้นผิวประกอบอาหารที่ห้องครัว PT เฉลี่ยเท่ากับ 26.3 และ 1.0 cfu/cm^{2} แต่ไม่พบเชื้อ *Staph. aureus*, Coliforms และ *B. cereus* บนพื้นผิวประกอบอาหารของทั้งสามครัว ในส่วนของผ้าที่ใช้เช็ดพื้นที่ผิวของโต๊ะประกอบอาหารนั้น พบว่า ผ้าที่ใช้เช็ดพื้นผิวของทุกห้องครัวมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน โดยผ้าของห้อง PT พบการปนเปื้อนมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.0×10^{6} cfu/cm^{2} รองลงมาคือ ห้อง BC เฉลี่ยเท่ากับ 1.1×10^{6} cfu/cm^{2} และห้อง LK เฉลี่ยเท่ากับ 5.8×10^{4} cfu/cm^{2} นอกจากนี้พบว่าผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง BC ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 95.3 cfu/cm^{2} ผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง PT พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* และ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 100 และ 100 cfu/cm^{2} ตามลำดับ ส่วนผ้าที่ใช้เช็ดทำความสะอาดพื้นที่ผิวของห้อง LK พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Staph. aureus* และ Coliforms เฉลี่ยเท่ากับ 72.7 และ 35.7 cfu/cm^{2} ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดนั้นไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของเชื้อจุลินทรีย์ที่ระบุไว้

จากผลการทดลองการเก็บตัวอย่างมือของพนักงานผู้สัมผัสอาหารของห้องครัวทั้งสามห้อง พบว่ามือก่อนล้างของพนักงานที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่ามาตรฐานได้แก่ มือของพนักงานคนที่ 2 ของห้อง BC และ พนักงานคนที่ 1 ของห้อง PT เท่ากับ 2.3×10^{3} และ 7.4×10^{4} cfu/hand ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ามือก่อนล้างของพนักงานคนที่ 1 นั้นมีการปนเปื้อนของ Coliforms เท่ากับ 30 cfu/hand เมื่อพนักงานล้างมือเสร็จแล้วทำการสวอปอีกครั้งพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, ปริมาณ *Staph. aureus*, *E. coli* และ Coliforms ไม่เกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อของสารฆ่าเชื้อประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (QUART) ซูม่า เจ 512 (Suma J-512) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 400 ppm ต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในหลอดทดลอง พบว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 log CFU/ml สามารถยับยั้งได้หมด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 ppm ระยะเวลาสัมผัสที่ต่ำที่สุดเพียง 1 นาที เช่นเดียวกับระดับความเข็มข้นที่ 200 และ

400 ppm ระยะเวลาสัมผัส 1-10 นาที ตามลำดับสามารถยับยั้งเชื้อได้หมด ร้อยละ 100.0 และที่ปริมาณเชื้อ 7 log CFU/ml ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 100 ppm ในระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ร้อยละการลดลงของเชื้อเท่ากับ 8.83, 11.36, 20.47 และ 26.68 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 200 ppm ในระยะเวลา 1 5 10และ 15 นาที ร้อยละการลดลงของเชื้อเท่ากับ 10.22,18.63, 22.05 และ 29.50 ตามลำดับ และสุดท้ายที่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 400 ppm ในระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ร้อยละการลดลงของเชื้อเท่ากับ 16.64, 25.74, 32.05 และ 46.90 ตามลำดับ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512) ที่ความเข้มข้น 200 ppm และระยะเวลาในการสัมผัส 10 นาที ด้วยวิธีการชุบเช็ดและวิธีการสเปรย์บนพื้นผิวการเตรียมอาหารในพื้นการปฏิบัติงานจริง ตรวจไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวการเตรียมอาหารก่อนทำความสะอาดและหลังการทำความสะอาด พบเชื้อ Coliforms บนผ้าไมโครไฟเบอร์ โดยวิธีการสเปรย์ 1 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 3 ตัวอย่าง แต่ไม่พบเชื้อ Coliforms บนผ้าไมโครไฟเบอร์หลังใช้เช็ดทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ด เมื่อนำไปใช้จริงในของห้องครัว LK ด้วยวิธีการชุบเช็ด พบว่า ไม่พบเชื้อ Coliforms บนพื้นผิวหลังการทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ด จากทั้ง 3 ครั้ง รวมถึงไม่พบเชื้อบนผ้าไมโครไฟเบอร์ที่ใช้ทำความสะอาดด้วยวิธีชุบเช็ดจากทั้ง 3 ครั้ง จากทั้ง 3 ช่วงเวลา

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการเก็บตัวอย่างบนพื้นผิวการเตรียมในพื้นที่การปฏิบัติงานจริง เนื่องจากพื้นผิวที่ใช้ในการปฏิบัติงานจริงค่อนข้างใหญ่ อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน จึงไม่สามารถตรวจพบเชื้อ Coliforms ในตำแหน่งที่ทำการสุ่มเก็บ อาจเพิ่มตำแหน่งในการเก็บตัวอย่างเพิ่มขึ้น และพิจารณาในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงที่มีการทำความสะอาดได้ยาก หรือในพื้นที่ที่ขาดการใส่ใจในการทำความสะอาด

2. การดูแลความสะอาดของผ้าหลังจากที่ทำความสะอาดแล้วถือเป็นสิ่งสำคัญ จึงต้องมีขั้นตอนในการทำความสะอาดที่เหมาะสม เพื่อให้มั่นใจว่าผ้าที่ใช้ในการทำความสะอาดจะไม่เป็นต้นเหตุของการกระจายเชื้อจุลินทรีย์ไปยังพื้นผิวการเตรียมอาหาร ทางโรงแรมได้มีการควบคุมอุณหภูมิการซักที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 55 นาที และควบคุมอุณหภูมิในการอบผ้าที่ 85 องศาเซลเซียส ขึ้นไป เป็นเวลา 45 นาที และเลือกใช้สารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อที่อยู่ในผ้าได้ เพื่อให้มั่นใจว่าสามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออกไปได้

บรรณานุกรม

กรมควบคุมโรค, กระทรวงสาธารณสุข. 2562. สุก ร้อน ช้อนกลาง ป้องกัน 2 ป้องกันโรคติดต่อทั้งอาหารและน้ำ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://ddc.moph.go.th/brc/news.php?news=10833&deptcode=brc&news_views=163. 2 กุมภาพันธ์ 2564.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข. 2560. เกณฑ์คุณภาพทางชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish/e-book/micro-ISBN60.pdf. 2 กุมภาพันธ์ 2564.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข. 2561. คู่มือชุดทดสอบอาหาร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http:// foodsafetymanualfulltext.pdf (moph.go.th). 2 กุมภาพันธ์ 2564

ขวัญชนก สุวรรณพงศ์. 2559. รายงานวิจัยเรื่องการพัฒนาคุณภาพการบริการของโรงแรมในอำเภอเมืองจังหวัดภูเก็ต เพื่อรองรับนักท่องเที่ยวกลุ่มความสนใจพิเศษ. มหาวิทยาลัยราชพฤกษ์

ชุติมา จักรจรัส. 2554. เอกสารประกอบการสอนรายวิชาการบริการอาหารและเครื่องดื่ม. โรงเรียนการท่องเที่ยวและการโรงแรม มหาวิทยาลัยสวนดุสิต.

บริษัท ไดเวอร์ซี่ ประเทศไทย (Diversey, Thailand). 2561. เอกสารข้อมูลความปลอดภัยของสาร Suma J-512.

ปวีณา ไชยสาร. 2556. ปัญหากฎหมายเกี่ยวกับความปลอดภัยของอาหารที่มีผลต่อการส่งออกอาหารของไทยศึกษากรณีอาหารพร้อมปรุง. วิทยานิพนธ์นิติศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติศาสตร์. มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์.

ปิยาณี จันทปัญญาศิลป์. 2542. ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลดปริมาณ *Escherichia coli* ในผักสด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พระราชบัญญัติโรงแรม พ.ศ.2478 [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.ebuild.co.th/download/1331695972.pdf. 20 มิถุนายน 2564

พระราชบัญญัติควบคุมโรคติดต่อ พ.ศ.2558. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://ddc.moph.go.th/uploads/ckeditor/c74d97b01eae257e44aa9d5bade97baf/files/001_1gcd.PDF. 20 มิถุนายน 2564

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช 9023-2550 เรื่อง หลักการทั่วไปเกี่ยวกับสุขลักษณะอาหาร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://certify.dld.go.th/certify/images/laws/standard_farm/ACFS/13.pdf. 20 มิถุนายน 2564

วลีพร วสิกรัตน์. 2560. ผลของสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* anatum และ *Salmonella* corvallis บนพื้นผิวสแตนเลสสำหรับตัดแต่งเนื้อสุกร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดและบริการอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สริตา พันธ์เทียน 2563. การจัดการครัว. [Online]. เข้าถึงได้จาก: http://www.elfhs.ssru.ac.th/saritra_ba/file.php/10/_3_.pdf. 20 มิถุนายน 2564

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2547. การสุขาภิบาลอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ

สุวิมล กีรติพิบูล. 2543. GMP ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ

สุวิมล กีรติพิบูลย์.2544. ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย. พิมพ์ครั้งที่ 2. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ

ศิวาพร ศิวเวช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เศรษฐศิลป์. 2560. ความปลอดภัยอาหารไทย สู่ครัวโลกอนาคต. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=944&Itemid=229&option=com_content&view=article&id=944&Itemid=229. 2 กุมภาพันธ์ 2564.

อุกฤษฏ์ ปริญญาวุฒิชัย. 2556. ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ QUAT SAN™ ต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวสัมผัสอาหารของครัวโรงพยาบาลแห่งหนึ่งในเขตลาดกระบัง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

APHA .1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition, American Public Health Association (APHA), APHA Press. Washington DC.

Al Amin, M. N. and Dagang, W. R. Z. W. 2015. A study of cross-contamination of foodborne pathogens on the kitchen surfaces. Journal Technology. 77: 1-5.

Alberton JR, Ribeiro A, Sacramento LVS, Franco SL and Lima MAP. 2001.Caracterização farmacognóstica do jambolão (Syzypiam cumini (L.) Skeels. Bazillian Journal of Pharmacognosy 11: 37-50.

Bello, O. O., Bello, T. K. and Bankole, S. A. 2013. Occurrence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in some street-vended foods in Ogun State, Nigeria. Journal in Advance Biology. 1: 21-28

Bergen, L. K., Meyer, M., Hog, M., Rubenhagen, B. and Andersen, L. P. 2008. Spread of bacteria on surfaces when cleaning with microfibre cloths. Journal of Hospital Infection. 71: 132-137.

Biranjia-Hurdoyal, S. and Latouche, M. C. 2016. Factors affecting microbial load and profile of potential pathogens and food spoilage bacteria from household kitchen tables. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 1-6.

Buffet-Bataillon, S., Tattevin, P., Bonnaure-Mallet, M. and Jolivet-Gougeon, A. 2012. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds a critical review. International Journal of Antimicrobial agents. 39: 381-389.

Bures, F. 2019. Quaternary ammonium compounds: Simple in structure, complex in application. Topics in Current Chemistry. 377: 1-21.

Cabeca, T. K., Pizzolitto, A. C. and Pizzolitto, E. L. 2012. Activity of disinfectants against foodborne pathogens in suspension and adhered to stainless steel surfaces. Brazilian Journal of Microbiology. 43: 1112-1119.

Centers for Disease Control and Prevent, CDC. 2011. *Staphylococcus aureus* in healthcare settings. [Online]. Available from: https://www.cdc.gov/hai/organisms/staph.html. 20 June 2021

Chaidez, C., Lopez, J. and Castro-del Campo, N. 2007. Quaternary ammonium compounds: an alternative disinfection method for fresh produce wash water. Journal of Water and Health. 5: 329-333.

Chokesajjawatee, N., Pornaem, S., Zo, Y. G., Kamdee, S., Luxananil, P., Wanasen, S.and Valyasevi, R. 2009. Incidence of *Staphylococcus aureus* and associated risk factors in Nham, a Thai fermented pork product. Journal of Food Microbiology. 26: 547-551.

de Wit, J. C., Broekhuizen, G. and Kampelmacher, E. H. 1979. Cross-contamination during the preparation of frozen chickens in the kitchen. Journal of Epidemiology and Infection. 83: 27-32.

Easmon, C. S. F. and Goodfellow, M. 1990. *Staphylococcus and Micrococcus*. spp. In: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. Arnold, London.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Ricci, A., Chemaly, M., Davies, R., Fernández Escámez, P. S., Girones, R. and Bolton, D. 2017. Hazard analysis approaches for certain small retail establishments in view of the application of their food safety management systems. Journal of Biological Hazard. 15: 1-52.

Fazlara, A. and Ekhtelat, M. 2012. The disinfectant effects of benzalkonium chloride on some important foodborne pathogens. American Eurasian Journal of Agricultural Environmental Science. 12: 23-29.

Fisher, J. 2003. Cleaning procedure in the factory: Encyclopedia of Food science and Nutrition. Academic Press. Cambridge, Massachusetts.

Foster, T. J. and Geoghegan, J. A. 2015. *Staphylococcus aureus*. Journal of Molecular Medical Microbiology. 655-674.

Food and Drug Administration (FDA). 2012. Bad bug book: foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook, 2nd ed. US Food and Drug Administration, Washington, DC.

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. 47: 841-847.

Gilbert, P. and L. E., Moore. 2005. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. Journal of Applied Microbiology. 99: 703 - 715.

Gerba, C. P. 2015. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 81: 464-469.

Gour, S., Khare, M., Patidar, R. K., Sahare, K. N., Bagde, S., Chauhan, S. and Singh, V. 2014. Screening of microorganisms from different sites of restaurants and dhabas. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 5: 183-188.

Gaulin, C., Lê, M. L., Shum, M. and Fong, D. 2011. Disinfectants and sanitizers for use on food contact surfaces. National Centre for Environmental Health Canada. 1-15.

Griffith, C. J. 2010. Do businesses get the food poisoning they deserve, The importance of food safety culture. Journal of British Food. 416-425

Guthrie, R. K. and Cofie, D. Q. 1988. Biodegradation and public health. International Journal of Biodeterioration. 24: 455-458.

Gutiérrez, D., Delgado, S., Vázquez-Sánchez, D., Martínez, B., Cabo, M. L., Rodríguez, A., Herrera, J. J. and García, P. 2012. Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. Journal of Applied and Environmental Microbiology.78: 8547–8554.

Hait, J., Tallent, S., Melka, D., Keys, C. and Bennett, R. 2012. *Staphylococcus aureus* outbreak investigation of an Illinois bakery. Journal of Food Safety.32: 435-444.

Hilton, A. C. and Austin, E. 2000. The kitchen dishcloth as a source of and vehicle for foodborne pathogens in a domestic setting. International Journal of Environmental Health Research. 10: 257-261.

International Organization for Standardization. ISO 6579:2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. [Online]. Available from: https://www.iso.org/standard/29315.html. 5 November 2019.

International Organization for Standardization. ISO 6579:2002/COR 1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. [Online]. Available from: https://www.iso.org/standard/40377.html. 5 November 2019

Ioannou, C., J., Hanlon, G and Denyer, S. 2007. Action of disinfectant quaternary ammonium compounds against *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Agents Chemotherapy. 51: 296 -306.

Ito, K. A. and Seeger, M. L. 1980. Effects of germicides on microorganisms in can cooling waters. Journal of Food Protection. 43: 484-487.

Kusumaningrum, H. D., Paltinaite, R., Koomen, A. J., Hazeleger, W. C., Rombouts, F. M. and Beumer, R. R. 2003. Tolerance of *Salmonella* Enteritidis and *Staphylococcus aureus* to surface cleaning and household bleach. Journal of Food Protection. 66: 2289-2295.

Lineback, C. B., Nkemngong, C. A., Wu, S. T., Li, X., Teska, P. J. and Oliver, H. F. 2018. Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms than quaternary ammonium compounds. Journal of Antimicrobial Resistance and Infection Control. 7: 1-7.

Luz, A., DeLeo, P., Pechacek, N. and Freemantle, M. 2020. Human health hazard assessment of quaternary ammonium compounds: Didecyl dimethyl ammonium chloride and alkyl (C12–C16) dimethyl benzyl ammonium chloride. Journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology.116: 1-17.

Marriott, N. G., and Robertson, G. 1997. Cleaning and Sanitizing Systems. In Essentials of Food Sanitation. Springer, Boston, MA.

Marriott, N. G, and Gravani, R. B. 2006. Personal hygiene and sanitary food handling. Journal of Principles of Food Sanitation. 83-98.

Mattick, K., Durham, K., Hendrix, M., Slader, J., Griffith, C., Sen, M. and Humphrey, T. 2003. The microbiological quality of washing-up water and the environment in domestic and commercial kitchens. Journal of Applied Microbiology. 94: 842-848.

McBain, A. J., Ledder, R. G., Moore, L. E., Catrenich, C. E. and Gilbert, P. 2004. Effects of quaternary-ammonium-based formulations on bacterial community dynamics and antimicrobial susceptibility. Applied and Environmental Microbiology. 70: 3449-3456.

Nagandran, S., Goh, P. S., Ismail, A. F., Wong, T. W. and Binti Wan Dagang, W. R. Z. 2020. The recent progress in modification of polymeric membranes using organic macromolecules for water treatment. Journal of Symmetry. 12: 2-38.

Ramzi, A., Oumokhtar, B., Filali Mouatassem, T., Benboubker, M. and Lalami, E. O. A. 2020. Evaluation of antibacterial activity of three quaternary ammonium disinfectants on different germs isolated from the hospital environment. BioMed Research International.2020: 1-6

Schraft, H. and Watterworth, L. A. 2005. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3M™ Petrifilm™ plates with standard plating procedures. Journal of Microbiological Methods. 60: 335-342.

Setlhare, G., Malebo, N., Shale, K. and Lues, R. 2014. Identification of airborne microbiota in selected areas in a health-care setting in South Africa. Journal of BMC Microbiology.14: 1-10.

Speirs, J. P., Anderton, A and Anderson. J. G. 1995. A study of the microbial content of the domestic kitchen. International Journal of Environmental Health Research. 5: 109-122.

Sveum, W. H. 1992. Microbiological monitoring of the food processing environment. Compedium of Methods for The Microbiological Examination of Foods. APHA Press. Washington Dc.

Tominaga, T., Sekine, M. and Oyaizu, H. 2008. Tracing the contamination origin of Coliform bacteria in two small food-processing factories. Journal of Food Protection. 71: 1910-1914.

Todar, K. 2005. Todar Online Textbook of Bacteriology. Staphylococcus. University of Wincosin-Madison Department of Bacteriology.[Online]. Available from: www.text bookofbacteriology.net/staph.html. 5 November 2019.

Trajtman, A. N., Manickam, K. and Alfa, M. J. 2015. Microfiber cloths reduce the transfer of *Clostridium difficile* spores to environmental surfaces compared with cotton cloths. American Journal of Infection Control. 43: 686-689.

Tripathi, DG. 2008. Quaternary ammonium compounds. Journal of Hygiene Sciences. 13: 1-13

U.S. Food and Drug Administration. 2002. [Online]. Code of Federal Regulations. 21CFR178.1010 - Saniting Solutions. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=178.1010. 5 November 2019.

U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 3 Aerobic Plate Count. [Online]. :Available from:https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063 346.html. 5 November 2019.

U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 12 *Staphylococcus aureus*. [Online]. :Available from https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus. 5 November 2019.

U.S. Food and Drug Administration. 1992. Bacteriological Analytical Manual Chapter 16 *Clostridium perfringens*. [Online]. :Available from: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-clostridium-perfringens. 5 November 2019.

U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 14 *Bacillus cereus*. [Online]. :Available from: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-bacillus-cereus. 5 November 2019.

Varnam A. H and Evans M. G. 1991. Foodborne pathogens. An Illustrated Text Wolfe Publishing Ltd, London.

Wallace, C. A., Holyoak, L., Powell, S. C., and Dykes, F. C. 2014. HACCP the difficulty with hazard analysis. Journal of Food Control. 35: 233-240.

Westwood, J. C., Mitchell, M. A. and Legacé, S. 1971. Hospital sanitation: the massive bacterial contamination of the wet mop. Journal of Applied Microbiology. 21: 693-697.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ก.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Staph. aureus*

จากการแยกเชื้อ *Staph. aureus* ที่ปนเปื้อนอยู่บนผ้าเช็ดทำความสะอาดของครัว LK และพิสูจน์สายพันธุ์ของเชื้อ ด้วยวิธี วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนด้วยวิธี 16S rRNA แล้ว ทำการเลี้ยงเชื้อในอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 35-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 ลูปลงใน TSA slant อีกครั้งบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อจำนวน 1 ลูปโดยลากจากหน้าหลอดอาหารเอียงให้มีเชื้อเต็มลูปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในอาหาร TSB โดยปิเปตเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วย Butterflied phosphate buffer (น้ำยาเจือจาง) ตรวจนับเชื้อเริ่มต้นด้วยเทคนิค spread plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^7- 10^8 CFU/ml

ตารางภาคผนวกที่ ก.1 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นจากการเลี้ยงเชื้อ *Staph. aureus*

จำนวนชั่วโมง	ผลการตรวจนับเชื้อ (CFU/mL)	ค่าความขุ่น (OD_{600})
22	1.62×10^9	1.442
24	3.89×10^9	1.395
26	7.81×10^8	1.395
28	6.00×10^8	1.289

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ก.2 วิธีการย้อมแกรมเชื้อ *Staph. aureus*

เขี่ยเชื้อ *Staph aureus* 1 ลูป สเมียร์ลงบนสไลด์ รอให้รอยสเมียร์แห้ง แล้วนำสไลด์ไปผ่านไฟ จากนั้นหยดสีคริสตัลไวโอเลต (Crystal violet) ลงให้ท่วมรอยสเมียร์ทิ้งไว้ 30 วินาที ล้างสีออกด้วยน้ำกลั่นที่ไหลเบา ๆ หยดสารละลายไอโอดีน (Iodine) ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้ 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ไหลเบาๆ จากนั้นล้างสีออกด้วย 95% แอลกอฮอล์ ประมาณ 10 ถึง 20 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น แล้วย้อมด้วยสีซาฟานินโอ (Safranin O) ทิ้งไว้ 30 วินาที่ ล้างออกด้วยน้ำกลั่น วางสไลด์ไว้ให้แห้งสนิทหรือซับด้วยกระดาษทิชชู่

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ข.1 การเตรียมน้ำยาเจือจาง อาหารเลี้ยงเชื้อและสีย้อม

ข.1.1 Baird-Parker Agar (Difco, USA)

Tryptone	10.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Glycine	12.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
Sodium pyruvate	10.0	กรัม
Lithium chloride• $6H_2O$	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Final pH 7.0±0.2

ชั่งสารดังกล่าวดังกล่าวเติมน้ำกรองปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เทสารละลายที่ได้ลงในฟลาส์ก 500 มิลลิลิตรให้ได้ฟลาส์ก 190 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.1.1.2 เตรียมสารละลายร้อยละ 1 Potassium tellurite

Potassium tellurite	1.0	กรัม

ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยตัวกรองปลอดเชื้อขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บไว้ในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิทเก็บภายในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.1.1.3 Egg yolk emulsion, ร้อยละ 50

ล้างไข่ไก่ให้สะอาดแล้วนำไปแช่ฆ่าเชื้อด้วย ethanol ร้อยละ 70 เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่ไก่แล้วแยกไข่ขาวออกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไข่แดงที่ได้ใส่ลงในขวดปลอดเชื้อที่มีปริมาตรบอกระดับ ผสมไข่แดงและน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 85 (Normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยผสมในอัตราส่วน 1 : 1 ปิดฝาให้สนิทเก็บภายในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.1.2 Buffed Peptone Water (Difco, USA)

Peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Disodium phosphate	3.5	กรัม
Monopotassium phosphate	1.5	กรัม

ชั่งสารอาหารดังกล่าวแล้วเติมน้ำกรองปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดขวดละปริมาตร 225 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Cook meat medium (Difco, USA)

Beef heart (from 454 g)	98.0	กรัม
Proteose peptone	20.0	กรัม
Dextrose	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Final pH	7.2±0.2	

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Cook meat medium (CM) ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวหลอดละ 1.25 กรัม เติมน้ำกรองปริมาตร 10 มิลลิลิตร รอจนเม็ดอาหารเลี้ยงเชื้อเปียกจนทั่วถึงและก่อตัวเป็นสารแขวนลอยที่สม่ำเสมอ ปิดฝาแล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin (MYP) Agar (Difco, USA)

Beef extract	1.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
D-Mannitol	10.0	กรัม
Sodium chloride	10.0	กรัม
Phenol red	25.0	มิลลิกรัม
Agar	15.0	กรัม

ชั่งสารอาหารดังกล่าวใส่ในฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร ฟลาส์กละ 12.5 กรัม เติมน้ำกรองปริมาตร 233 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นนำอาหารมาใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติม polymyxin B ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติม Egg yolk emulsion ร้อยละ 50 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

ข.1.4.1 เตรียมสารละลาย Polymyxin B solution

ละลาย Polymyxin B solution 1 MU (sigma P100a) ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองผ่านตัวกรองปลอดเชื้อขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บไว้ในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิทเก็บภายในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.1.4.2 Egg yolk emulsion, ร้อยละ 50

ล้างไข่ไก่ให้สะอาดแล้วนำไปแช่ฆ่าเชื้อด้วย ethanol ร้อยละ 70 เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่ไก่แล้วแยกไข่ขาวออกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำไข่แดงที่ได้ใส่ลงในขวดปลอดเชื้อที่มีปริมาตรบอก

ระดับ ผสมไข่แดงและน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 85 (Normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยผสมในอัตราส่วน 1 : 1 ปิดฝาให้สนิทเก็บภายในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ข.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen enteric (HE) (Difco, USA)

Proteose peptone	12.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Lactose	12.0	กรัม
Sucrose	12.0	กรัม
Salicin	2.0	กรัม
Bile salts mixture	9.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium thiosulphate	5.0	กรัม
Ferric ammonium citrate	1.5	กรัม
Acid fuchsin	0.1	กรัม
Bromothymol blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Final pH 7.5±0.2

ชั่งสารอาหารเชื้อ Hektoen enteric (HE) Agar 76.67 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกรองปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไปต้มและละลายให้พอเดือด นำมาใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสไม่ต้องฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เทลงในจานเพาะเชื้อจานละ 15 มิลลิลิตรไม่ควรใส่ไว้ในอ่างควบคุมนานเกิน 2 ชั่วโมง

ข.1.6 Maximum recovery diluents (MRD) (Merck, Germany)

Peptone	1.0	กรัม
Sodium chloride	8.5	กรัม
น้ำกรอง	1000	มิลลิลิตร

ชั่ง MRD 9.5 กรัม ละลายในน้ำกรอง 1000 มิลลิลิตร คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันหากไม่ละลายสามารถใช้ความร้อนได้เล็กน้อย แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตรปิดฝานำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.1.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Kauffman tetrathionate novobiocin (MKTTn) broth (Merck, Germany)

Meat extract	4.3	กรัม
Enzymatic digest of casein	8.6	กรัม

Sodium chloride	2.6	กรัม
Calcium carbonate	38.7	กรัม
Sodium thiosulphate (anhydrous)	30.2	กรัม
Ox bile	4.78	กรัม
Brilliant green	0.0096	กรัม

Final pH 8.0±0.2

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Kauffman tetrathionate novobiocin (MKTTn) broth ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0.89 กรัม เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ หลอดละ 10 มิลลิลิตร ไม่ต้องฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ

ข.1.8 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) (Difco, USA)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) 23.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกรอง 1000 มิลลิลิตร ต้มจนวุ้นละลายแบ่งใส่ขวดดูแลนปิดฝานำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

ข.1.9 อาหารเลี้ยงเชื้อ Rappapost Vassiliadis Soya (RVS) (Difco, USA)

Papaic digest of soyabean meal	4.5	กรัม
Sodium chloride	8.0	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.6	กรัม
Dipotassium phosphate	0.4	กรัม
Magnesium chloride hexahydrate	29.0	กรัม
Malachite green	0.036	กรัม

Final pH 5.2±0.2

ชั่งอาหารเชื้อ Rappapost Vassiliadis Soya (RVS) 27.11 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกรองปริมาตร 1000กรัม คนให้ละลาย นำใส่หลอดทดลอง หลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดฝานำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเวลา 15 นาที

ข.1.10 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) (Difco, USA)

Trypticase peptone (Tryptone)	15.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Phytone peptone (Soytone)	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

น้ำกรอง	1000	มิลลิลิตร

Final pH 7.3±0.2

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) 40.0 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกรอง 1000 มิลลิลิตร ต้มจนวุ้นละลาย แบ่งใส่ขวดดูแลนปิดฝา (สำหรับเทใส่ลงในจานเพาะเชื้อ 15 มิลลิลิตร) หรือใส่ในหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเวลา 15 นาที

ข.1.11 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) (Bacto, USA)

Trypticase peptone	17.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Phytone peptone	3.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Dipotassium phosphate	2.5	กรัม
น้ำกรอง	1000	มิลลิลิตร

Final pH 7.3±0.2

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) 30.0 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกรองปริมาตร 1000 มิลลิลิตรนำไปต้มให้ละลายเข้ากัน แบ่งใส่ขวดดูแลนปิดฝานำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเวลา 15 นาที

ข.1.12 อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar (Difco, USA)

Yeast extract	3.0	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Sucrose	7.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
L-Lysine	5.0	กรัม
Sodium thiosulfate	6.8	กรัม
Sodium desoxycholate	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
น้ำกรอง	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH 7.3±0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมดต้มให้วุ้นละลายพอเดือด นำมาใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่ต้องฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากละ 15 มิลลิลิตร ไม่ควรใส่ฟลาส์กไว้ในอ่างควบคุมนานเกิน 2 ชั่วโมง

ข.1.13 สีย้อมแกรม Crystal violet

ข.1.13.1 เตรียมสารละลาย A

Crystal violet (ร้อยละ 85 dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol ร้อยละ 95	20.0	กรัม

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

ข.1.13.2 เตรียมสารละลาย B

Ammonium oxalate	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	กรัม

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอนกรองก่อนใช้ และถ้าสีเข้มข้นเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1:10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

ข.1.14 สีย้อมแกรม Gram's iodine solution

Iodine	1.0	กรัม
Potassium iodide	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	กรัม

ละลาย iodine และ potassium iodide ในน้ำกลั่นปริมาณน้อย ๆ ก่อน แล้วค่อยเติมน้ำให้ตลบปริมาตร 300 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วทึบแสง

ข.1.15 สีย้อมแกรม Safranin O counters train (Stock solution)

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	100	มิลลิลิตร

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

ข.2 ชุดทดสอบความสะอาดของภาชนะสัมผัสอาหารและมือ (คู่มือชุดทดสอบอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2561)

ข.2.1 คุณลักษณะเฉพาะ

- จำนวนตัวอย่างที่ตรวจได้ 20 ตัวอย่าง/กล่อง
- การเก็บรักษา

เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส มีอายุการใช้งาน 6 เดือน

เก็บที่อุณหภูมิห้อง มีอายุการใช้งาน 3 เดือน

ข.2.2 วิธีการทดสอบ

1. ผู้ตรวจสอบเช็ดมือตนเองด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์
2. ฉีกไม้พันสำลีด้านที่ไม่มีสำลี นำไม้พันสำลีไปจุ่มลงในน้ำยาทดสอบให้หมาด ๆ
3. นำไม้พันสำลีจากข้อ 2 เช็ดภาชนะสัมผัสอาหาร มือ หรืออาหาร (หนึ่งไม้/หนึ่งตัวอย่าง) ด้วยวิธีดังนี้
    3.1 มือผู้บริการอาหารอาหาร-หงายฝ่ามือขึ้น เช็ดรอบนิ้วจาปลายนิ้วถึงข้อที่ 2 ส่วนหัวแม่มือเช็ดถึงข้อที่ 1
    3.2 แก้วน้ำ-เช็ดจากขอบบนลงมาครึ่งนิ้วทั้งภายนอก และภายใน
    3.3 จาน ชาม เขียง-เช็ดกลางภาชนะด้านในให้ได้ พื้นที่สี่เหลี่ยมขนาด 2 x 2 ตารางนิ้ว
    3.4 อาหาร-ป้ายอาหารบางส่วน

หมายเหตุ จำนวนหน่วยภาชนะต่อตัวอย่าง

ภาชนะ 5 ชิ้น / ตัวอย่าง

มือ 1 มือ / ตัวอย่าง

4. ใส่ไม้พันสำลีลงในขวดน้ำยาทดสอบเดิมแล้วหักไม้ให้สูงไม่เกินปากขวด
5. ปิดฝาให้สนิท แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน

ข.2.3 เกณฑ์การประเมินผล

การประเมินผลการทดสอบความสะอาดของภาชนะสัมผัสอาหารและมือ จะแบ่งเป็นระดับต่าง โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบและการเกิดตะกอนสีดำ โดยระดับ C ไม่มีตะกอนดำ ระดับ +1 มีตะกอนดำที่ปลายสำลี ระดับ +2 มีสีดำกระจายทั่วขวด แต่ยังมองทะลุขวดได้ ระดับ +3 มีสีดำเข้มมองไม่เห็นก้านสำลี สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เกิดจากเชื้อ Coliforms ใช้น้ำตาลแลคโตส เกิดเป็นกรดและแก๊ส ทำให้หลอดอาหารมีตะกอนสีดำเกิดขึ้น เกณฑ์การตัดสินความสะอาด ดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ ข.1

ตารางภาคผนวกที่ ข.1 เกณฑ์การตัดสินความสะอาด

ตัวอย่าง	ระดับความสะอาด			
	C	+1	+2	+3
ภาชนะ และมือ	/	X	X	X
อาหาร	/	/	/	X

หมายเหตุ: / = ผ่าน, X = ไม่ผ่าน

- หลังทดสอบ 1-2 วัน ถ้าน้ำยาทดสอบเปลี่ยนแปลงเป็นระดับ +3 แล้วก็ประเมินผลได้เลยไม่ต้องรอจนครบ 3 วัน

ที่มา: คู่มือชุดทดสอบอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2018)

ภาคผนวก ค

การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

ค.1 การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

ค.1.1 การวัดความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อด้วยชุดทดสอบ

นำสารฆ่าเชื้อสารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียม วัดความเข้มข้นด้วยชุดทดสอยความเข้มข้น (Test kit) Brand Hydrion (QT-10) Quat Dispenser 0-400 PRM (Micro Essential Laboratory, New York) โดยจุ่มแผ่นทดสอบลงในหลอดทดสอบสารที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้ประมาณ 10 วินาที แล้วเช็คดูสีที่เปลี่ยน (สีส้ม-สีเขียว) ของแผ่นทดสอบแล้วเทียบกับระดับความเข้มข้นของชุดทดสอบ

ค.1.2 การวัดค่าคามเป็นกรดด่างของสารฆ่าเชื้อ

นำสารฆ่าเชื้อสารประเภทควอเทอร์นารีแอมโมเนียมที่ผ่านการเตรียมและปรับปริมาตรแล้วใส่หลอดทดสอบ จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรดด่างโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) โดยทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

ภาคผนวก ง

เอกสารข้อมูลความปลอดภัยของสารเคมี

ง.1 สารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512 (Suma J-512)

น้ำยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สำหรับพื้นที่ประกอบอาหาร สำหรับอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้เตรียมอาหารและบริเวณเตรียมอาหาร

ง. 1.1 วิธีการใช้

1. ทำความสะอาดพื้นผิวให้ทั่วด้วยผลิตภัณฑ์ขจัดคราบไขมันก่อน แล้วล้างตามด้วยน้ำอุ่น
2. ผสม ซูม่า เจ-512 ปริมาณ 1 ส่วนต่อน้ำ 512 ส่วน ในถังน้ำ หรือใส่ในกระบอกฉีด
3. ใช้ผ้าจุ่มในผลิตภัณฑ์แล้วเช็ดให้ทั่ว หรือฉีดพ่นผลิตภัณฑ์จากกระบอกฉีดให้ทั่วพื้นที่ที่ต้องการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
4. ทิ้งไว้10 นาทีแล้วล้างตามด้วยน้ำสะอาด

ง. 1.2 ผู้ผลิต

บริษัท นวศรี แมนูแฟคเจอริ่ง จำกัด, 60/158 หมู่ 19 ซอย 17 นิคมอุตสาหกรรมนวนคร ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

ง. 1.3 ความบ่งชี้ความเป็นอันตราย

เป็นสารกัดกร่อนผิวหนัง สามารถทำให้ผิวหนังไหม้อย่างรุนแรง ควรสวมถุงมือ เสื้อป้องกัน แว่นตา และหน้ากาก ขณะใช้งาน ถ้าสัมผัสผิวหนัง หรือผมควรเปลี่ยนเสื้อผ้าออกทันทีและล้างด้วยน้ำหรืออาบน้ำ ถ้าเข้าตา ล้างด้วยน้ำอย่างระมัดระวังเป็นเวลาหลายนาที ถอดคอนแทคเลนส์ออก หรือโทรศัพท์หาศูนย์พิษวิทยาหรือแพทย์ทันที เป็นสารเคมีที่เป็นพิษร้ายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและมีผลระยะยาว

ง. 1.4 องค์ประกอบทางสารเคมี

ตารางภาคผนวกที่ ง.1 ตารางแสดงองค์ประกอบของสารฆ่าเชื้อซูม่า เจ 512

ส่วนผสม	หมายเลข CAS	% โดยน้ำหนัก
n-Alkyl (68% C12, 32% C14) dimethyl ethylbenzyl ammonium chloride	68956-79-6	3-7%
n-Alkyl (60% C14, 30% C16, 5% C12, 5% C18) dimethyl benzyl ammonium chlorid	68391-01-5	3-7%
Ethyl alcohol	64-17-5	0.5-1.5%

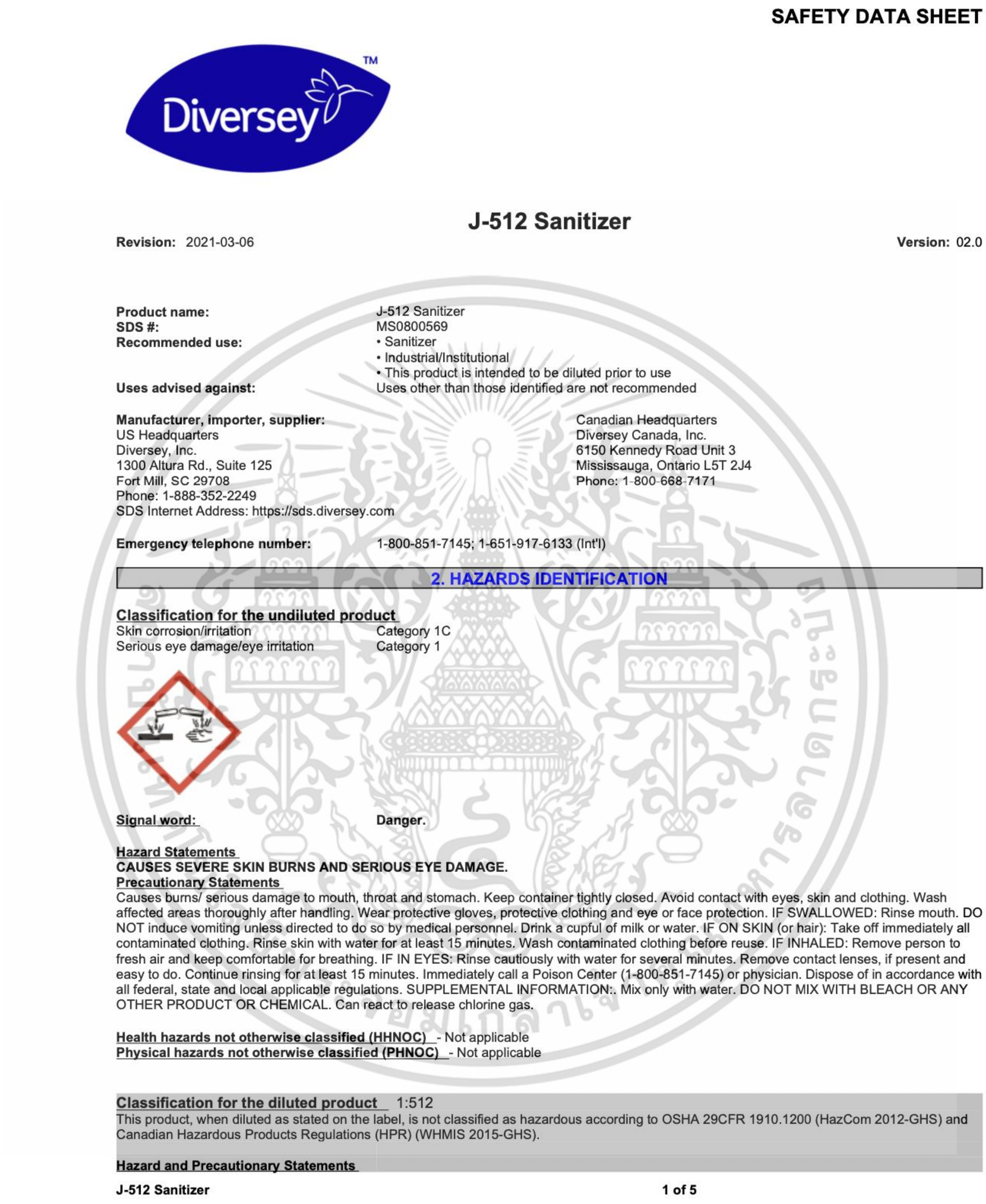
ที่มา: Safety data sheet, Diversey (2021)

Diversey
OFFICIAL
STORE
ซูม่า เจ-512
www.diversey.com

ภาพภาคผนวกที่ ง.1 ขวดสารฆ่าเชื้อ ซูม่า เจ 512

ที่มา: Safety data sheet, Diversey (2021)

ง. 1.5 เอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety data sheet, SDS)



SAFETY DATA SHEET

Diversey™

J-512 Sanitizer

Revision: 2021-03-06 **Version:** 02.0

Product name:	J-512 Sanitizer
SDS #:	MS0800569
Recommended use:	• Sanitizer • Industrial/Institutional • This product is intended to be diluted prior to use
Uses advised against:	Uses other than those identified are not recommended

Manufacturer, importer, supplier:
US Headquarters
Diversey, Inc.
1300 Altura Rd., Suite 125
Fort Mill, SC 29708
Phone: 1-888-352-2249
SDS Internet Address: https://sds.diversey.com

Canadian Headquarters
Diversey Canada, Inc.
6150 Kennedy Road Unit 3
Mississauga, Ontario L5T 2J4
Phone: 1-800-668-7171

Emergency telephone number: 1-800-851-7145; 1-651-917-6133 (Int'l)

2. HAZARDS IDENTIFICATION

Classification for the undiluted product

Skin corrosion/irritation	Category 1C
Serious eye damage/eye irritation	Category 1

Signal word: **Danger.**

Hazard Statements
CAUSES SEVERE SKIN BURNS AND SERIOUS EYE DAMAGE.
Precautionary Statements
Causes burns/ serious damage to mouth, throat and stomach. Keep container tightly closed. Avoid contact with eyes, skin and clothing. Wash affected areas thoroughly after handling. Wear protective gloves, protective clothing and eye or face protection. IF SWALLOWED: Rinse mouth. DO NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. Drink a cupful of milk or water. IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water for at least 15 minutes. Wash contaminated clothing before reuse. IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing for at least 15 minutes. Immediately call a Poison Center (1-800-851-7145) or physician. Dispose of in accordance with all federal, state and local applicable regulations. SUPPLEMENTAL INFORMATION:. Mix only with water. DO NOT MIX WITH BLEACH OR ANY OTHER PRODUCT OR CHEMICAL. Can react to release chlorine gas.

Health hazards not otherwise classified (HHNOC) - Not applicable
Physical hazards not otherwise classified (PHNOC) - Not applicable

Classification for the diluted product 1:512
This product, when diluted as stated on the label, is not classified as hazardous according to OSHA 29CFR 1910.1200 (HazCom 2012-GHS) and Canadian Hazardous Products Regulations (HPR) (WHMIS 2015-GHS).

Hazard and Precautionary Statements

J-512 Sanitizer **1 of 5**

None required.

3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

Classified Ingredients

Ingredient(s)	CAS #	Weight %
n-Alkyl (68% C12, 32% C14) dimethyl ethylbenzyl ammonium chloride	68956-79-6	3 - 7%
n-Alkyl (60% C14, 30% C16, 5% C12, 5% C18) dimethyl benzyl ammonium chloride	68391-01-5	3 - 7%
Ethyl alcohol	64-17-5	0.5 - 1.5%

4. FIRST AID MEASURES

Undiluted Product:

Eyes: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing for at least 15 minutes.
Skin: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water for at least 15 minutes.
Inhalation: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.
Ingestion: IF SWALLOWED: Rinse mouth. DO NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. Drink a cupful of milk or water.

Most Important Symptoms/Effects: No information available.
Immediate medical attention and special treatment needed Not applicable.

Diluted Product:

Eyes: Rinse with plenty of water.
Skin: No specific first aid measures are required
Inhalation: No specific first aid measures are required
Ingestion: IF SWALLOWED: Call a Poison Center (1-800-851-7145) or doctor/physician if you feel unwell.

5. FIRE-FIGHTING MEASURES

Specific methods: No special methods required
Suitable extinguishing media: The product is not flammable. Extinguish fire using agent suitable for surrounding fire.
Specific hazards: Corrosive material (See sections 8 and 10).

Special protective equipment for firefighters: As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand, MSHA/NIOSH (approved or equivalent) and full protective gear.
Extinguishing media which must not be used for safety reasons: No information available.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

Personal precautions: Put on appropriate personal protective equipment (see Section 8.).
Environmental precautions and clean-up methods: Clean-up methods - large spillage. Absorb spill with inert material (e.g. dry sand or earth), then place in a chemical waste container. Use a water rinse for final clean-up.

7. HANDLING AND STORAGE

Handling: Avoid contact with skin, eyes and clothing. Wash thoroughly after handling. Do not taste or swallow. Product residue may remain on/in empty containers. All precautions for handling the product must be used in handling the empty container and residue. Avoid breathing vapors or mists. Use only with adequate ventilation. Remove and wash contaminated clothing and footwear before re-use. Mix only with water. DO NOT MIX WITH BLEACH OR ANY OTHER PRODUCT OR CHEMICAL. Can react to release chlorine gas. FOR COMMERCIAL AND INDUSTRIAL USE ONLY.
Storage: Keep tightly closed in a dry, cool and well-ventilated place.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

Exposure Guidelines: .

Ingredient(s)	CAS #	ACGIH	OSHA

Ethyl alcohol	64-17-5	1000 ppm (STEL)	1000 ppm (TWA) 1900 mg/m^3 (TWA)

Undiluted Product:

Engineering measures to reduce exposure:
Good general ventilation should be sufficient to control airborne levels.

Personal Protective Equipment

It is the responsibility of the employer to determine the potential risk of exposure to hazardous chemicals for employees in the workplace in order to determine the necessity, selection, and use of personal protective equipment.

Eye protection:	Chemical-splash goggles.
Hand protection:	Chemical-resistant gloves.
Skin and body protection:	Protective footwear. Wear suitable protective clothing.
Respiratory protection:	No personal protective equipment required under normal use conditions. If aerosols, mists, or vapors are not adequately controlled by ventilation, use appropriate respiratory protection to avoid over-exposure.
Hygiene measures:	Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice.

Diluted Product:

Engineering measures to reduce exposure:
Good general ventilation should be sufficient to control airborne levels.

Personal Protective Equipment

Eye protection:	No personal protective equipment required under normal use conditions.
Hand protection:	No personal protective equipment required under normal use conditions.
Skin and body protection:	No personal protective equipment required under normal use conditions.
Respiratory protection:	No personal protective equipment required under normal use conditions.
Hygiene measures:	Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

Physical State: Liquid
Evaporation Rate: No information available
Odor threshold: No information available.
Decomposition temperature: Not determined
Solubility: Completely Soluble
Relative Density (relative to water): 0.99
Vapor density: No information available
Vapor pressure: No information available.
Partition coefficient (n-octanol/water): No information available
Elemental Phosphorus: 0.00 % by wt.
pH: 7.9
Corrosion to metals: Not corrosive to metals
Explosion limits: - upper: Not determined **- lower:** Not determined

Color: Clear , Red
Odor: Quaternary
Boiling point/range: Not determined
Autoignition temperature: No information available
Solubility in other solvents: No information available
Density: 0.993 Kg/L
Bulk density: No information available
Flash point (°F): > 200 °F > 93 °C
Viscosity: 0
VOC: 1.3 % *
Flammability (Solid or Gas): Not applicable
Sustained combustion: The product does not sustain combustion

Dilution pH:
≈ 7
Dilution Flash Point (°F): > 200 °F > 93.3 °C
VOC % by wt. at use dilution: 0.002 %

* - Title 17, California Code of Regulations, Division 3, Chapter 1, Subchapter 8.5, Article 2, Consumer Products, Sections 94508

10. STABILITY AND REACTIVITY

Reactivity:	Not Applicable
Stability:	The product is stable
Hazardous decomposition products:	None reasonably foreseeable.
Materials to avoid:	Oxidizing agents. Anionic surfactant. Do not mix with chlorinated products (such as bleach).
Conditions to avoid:	None known.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

Information on likely routes of exposure:
Skin contact, Inhalation, Ingestion, Eye contact

Delayed, immediate, or chronic effects and symptoms from short and long-term exposure

Skin contact: Corrosive. Causes severe burns. Symptoms may include burns, blisters, redness and pain (which may be delayed).

Eye contact: Corrosive. Causes serious eye damage. Symptoms may include pain, burning sensation, redness, watering, blurred vision or loss of vision.

Ingestion: Causes burns/ serious damage to mouth, throat and stomach. Symptoms may include stomach pain and nausea.

Inhalation: May cause irritation and corrosive effects to nose, throat and respiratory tract. Symptoms may include coughing and difficulty breathing.

Sensitization: No known effects.

Target Organs (SE): None known

Target Organs (RE): None known

Numerical measures of toxicity

ATE - Oral (mg/kg):	5000
ATE - Dermal (mg/kg):	>5000

12. ECOLOGICAL INFORMATION

Ecotoxicity: No information available.

Persistence and Degradability: No information available.

Bioaccumulation: No information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATIONS

Do not contaminate water, food, or feed by storage or disposal.

Waste from residues / unused products (undiluted product):
This product, as sold, if discarded or disposed, is not a hazardous waste according to Federal regulations (40 CFR 261.4 (b)(4)). Under RCRA, it is the responsibility of the user of the product to determine, at the time of disposal, whether the waste solution meets RCRA criteria for hazardous waste. Dispose in compliance with all Federal, state, provincial, and local laws and regulations.

Waste from residues / unused products (diluted product):
This product, when diluted as stated on this SDS, is not a hazardous waste according to Federal regulations (40 CFR 261.4 (b)(4)). Under RCRA, it is the responsibility of the user of the product to determine, at the time of disposal, whether the waste solution meets RCRA criteria for hazardous waste. Dispose in compliance with all Federal, state, provincial, and local laws and regulations.

Pesticide Storage:
Refer to product label.

Pesticide Disposal:
Refer to product label.

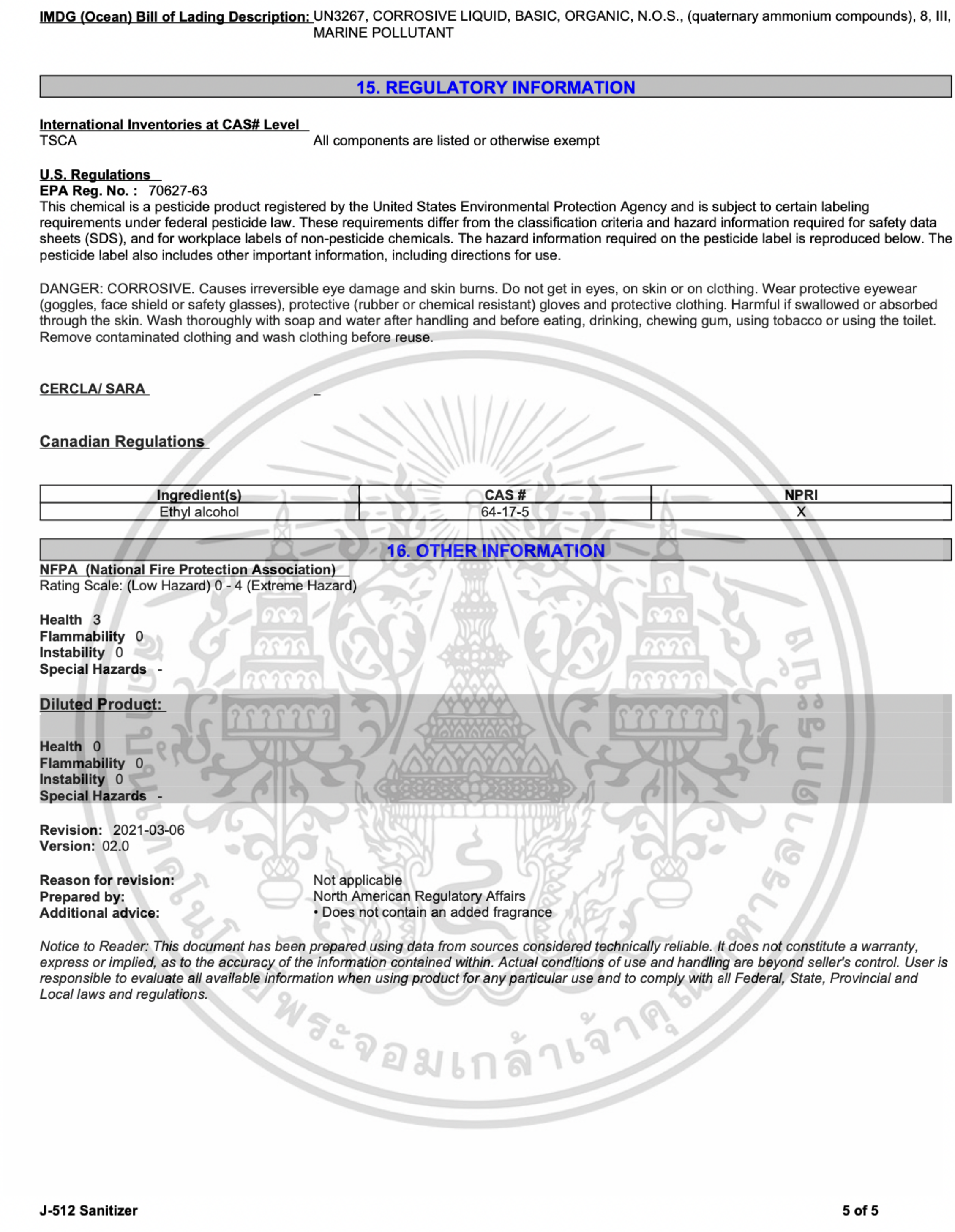
Container Disposal:
Refer to product label.

RCRA Hazard Class (undiluted product): Not Regulated.
RCRA Hazard Class (diluted product): Not Regulated.

14. TRANSPORT INFORMATION

DOT/TDG/IMDG: The information provided below is the full transportation classification for this product. This description does not account for the package size(s) of this product, that may fall under a quantity exception, according to the applicable transportation regulations. When shipping dangerous goods, please consult with your internal, certified hazardous materials specialist to determine if any exceptions can be applied to your shipment.

DOT (Ground) Bill of Lading Description: UN3267, CORROSIVE LIQUID, BASIC, ORGANIC, N.O.S., (quaternary ammonium compounds), 8, III



IMDG (Ocean) Bill of Lading Description: UN3267, CORROSIVE LIQUID, BASIC, ORGANIC, N.O.S., (quaternary ammonium compounds), 8, III, MARINE POLLUTANT

15. REGULATORY INFORMATION

International Inventories at CAS# Level

TSCA	All components are listed or otherwise exempt

U.S. Regulations

EPA Reg. No. : 70627-63

This chemical is a pesticide product registered by the United States Environmental Protection Agency and is subject to certain labeling requirements under federal pesticide law. These requirements differ from the classification criteria and hazard information required for safety data sheets (SDS), and for workplace labels of non-pesticide chemicals. The hazard information required on the pesticide label is reproduced below. The pesticide label also includes other important information, including directions for use.

DANGER: CORROSIVE. Causes irreversible eye damage and skin burns. Do not get in eyes, on skin or on clothing. Wear protective eyewear (goggles, face shield or safety glasses), protective (rubber or chemical resistant) gloves and protective clothing. Harmful if swallowed or absorbed through the skin. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. Remove contaminated clothing and wash clothing before reuse.

CERCLA/ SARA

Canadian Regulations

Ingredient(s)	CAS #	NPRI
Ethyl alcohol	64-17-5	X

16. OTHER INFORMATION

NFPA (National Fire Protection Association)

Rating Scale: (Low Hazard) 0 - 4 (Extreme Hazard)

Health 3
Flammability 0
Instability 0
Special Hazards -

Diluted Product:

Health 0
Flammability 0
Instability 0
Special Hazards -

Revision: 2021-03-06
Version: 02.0

Reason for revision:	Not applicable
Prepared by:	North American Regulatory Affairs
Additional advice:	• Does not contain an added fragrance

Notice to Reader: This document has been prepared using data from sources considered technically reliable. It does not constitute a warranty, express or implied, as to the accuracy of the information contained within. Actual conditions of use and handling are beyond seller's control. User is responsible to evaluate all available information when using product for any particular use and to comply with all Federal, State, Provincial and Local laws and regulations.

J-512 Sanitizer **5 of 5**

ที่มา: Safety data sheet, Diversey (2021)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววรากรณ์ กูลสวัสดิ์
วัน เดือน ปีเกิด	23 มกราคม พ.ศ.2534
ที่อยู่	99 หมู่ 4 ซอย หนองปราจีน 2/3 ตำบล ศรีนาวา อำเภอ เมือง จังหวัดนครนายก 26000
ประวัติการศึกษา	- พ.ศ.2557 จบการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ - พ.ศ.2558 ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
การนำเสนอผลงาน	Kulsawad, W. and Jindaprasert, A. 2020. An investigation of pathogen microbial contamination in the kitchen area. Proceedings the International Conference on Food and Applied Bioscience 2020: Insights for Research and Industry 4.0 (FAB 2020). Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University. pp. 243-250.