

ระบบ HACCP ต้นแบบของกระบวนการผลิตซอสหอยนางรมในโรงงานขนาดเล็ก

GENERIC MODEL OF HACCP SYSTEM IN SMALL SCALE PRODUCTION  
OF OYSTER SAUCE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

KMITL-2007-AI-M-054-059

ระบบ HACCP ต้นแบบของกระบวนการผลิตซอสหอยนางรมในโรงงานขนาดเล็ก

GENERIC MODEL OF HACCP SYSTEM IN SMALL SCALE PRODUCTION  
OF OYSTER SAUCE



ชนิดา ชื่นกมล

CHANIDA CHUENKAMOL

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 76732  
วัน,เดือน,ปี..... - 6 S.ค. 2550

.b.....  
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2550

KMITL-2007-AI-M-054-059

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**GENERIC MODEL OF HACCP SYSTEM IN SMALL SCALE PRODUCTION  
OF OYSTER SAUCE**



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

**2007**

**KMITL-2007-AI-M-054-059**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2007**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

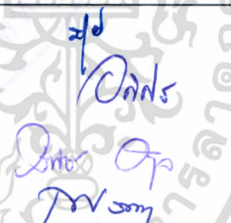
**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ระบบ HACCP ต้นแบบของกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม ในโรงงาน  
ขนาดเล็ก  
Generic Model of HACCP System in Small Scale Production of Oyster  
Sauce

ชื่อนักศึกษา นางสาวชนิดา ชื่นกมล  
รหัสประจำตัว 47067717  
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชา สาขาภิบาลอาหาร  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.วรวิทย์ อารีกุล	
คุณเพ็ญศรี รอดมา	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 11 ตุลาคม 2550 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป  
สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา D213 อาคารเจ้าคุณทหาร

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว  
  
(รศ.ดร.จารุวัตร เจริญสุข)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่...๑๗...เดือน...ตุลาคม...พ.ศ.๒๕๕๐...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ระบบ HACCP ต้นแบบของกระบวนการผลิตซอสหอยนางรมใน
	โรงงานขนาดเล็ก
นักศึกษา	นางสาวชนิดา ชื่นกมล
รหัสประจำตัว	47067717
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์

### บทคัดย่อ

ในการนำหลักการของระบบการวิเคราะห์อันตรายและการควบคุมจุดวิกฤติ (Hazard Analysis Critical Control Point : HACCP) มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม โดยการประเมินความเสี่ยงของวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิต เช่น แป้ง น้ำ จากการวิเคราะห์อันตรายจุลินทรีย์ก่อโรคในวัตถุดิบหลัก พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด และตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ส่วนวัตถุดิบรองเช่น น้ำตาล น้ำปลา หรือ วัตถุดิบอื่นๆ เราควบคุมจาก ใบวิเคราะห์ (Certificate of Analysis: COA) จากผู้ผลิต เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจาก แป้ง น้ำ หรือ วัตถุดิบอื่นในรุ่นการผลิตเดียวกัน ไปทำการตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่า ผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมสูตรปกติมีปริมาณเชื้ออยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ โดยในกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม จะใช้อุณหภูมิในการเคี่ยวนานกว่าหรือเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส นานกว่า 2 ชั่วโมง ซึ่งอุณหภูมิในการเคี่ยวนี้อาจมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อีกด้วย เนื่องจากความร้อนจะช่วยให้พันธะไฮโดรเจนที่ยึดโครงสร้างภายในเม็ดแป้งแตกออก เม็ดแป้งดูดซึมน้ำได้มากขึ้นเป็นผลให้เกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง และสูญเสียลักษณะของโปรตีนเจนนต์ สารละลายใสและมีความหนืดเพิ่มขึ้น กระบวนการนี้ เรียกว่า เจลาติไนเซชัน (gelatinization) จึงทำให้ซอสหอยนางรมเกิดเป็นเจลข้นหนืด

เมื่อศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม ที่เติม โปดัสเซียมซอร์เบต 0.08% ตามสูตรที่ใช้ในการผลิต พบว่า ไม่พบเชื้อที่ก่อโรคในผลิตภัณฑ์ เมื่อทำการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์และทำการศึกษาการผลิตของซอสหอยนางรมสูตรไม่ใส่ โปดัสเซียมซอร์เบต เทียบกับการผลิตของซอสหอยนางรมสูตรเดิมที่มีการเติม โปดัสเซียมซอร์เบต 0.08 % โดยสุ่มตัวอย่าง มาตรฐานที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตรวจวิเคราะห์หาจุลินทรีย์โดยรวม เชื้อยีสต์ และ เชื้อรา พบว่า สูตรผลิตที่ไม่ได้ทำการเติม โปดัสเซียมซอร์เบต เชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเจริญเติบโตได้ภายใน 7 วันหลังเปิดใช้ ที่ อุณหภูมิห้อง เชื้อราที่พบจากการทดลองนี้ จำแนกได้ 7 ชนิด คือ *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp, *Aspergillus japonicus*., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., และ *Eurotium* sp. ส่วนลักษณะปรากฏสามารถพบกลิ่น แอลกอฮอล์ และ ซอสหอยนางรมมีลักษณะเหลวขึ้นอันเนื่องจากเชื้อราสามารถที่ย่อย คาร์โบไฮเดรตจากแป้งทำให้เสียสภาพความชื้นเหลวของผลิตภัณฑ์และได้น้ำตาลซึ่งทำให้เชื้อยีสต์ ที่ปนเปื้อนเกิดการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ส่วนสูตรที่เติมไปคัสเซียมซอร์เบท 0.08 % ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพตามมาตรฐานทางจุลินทรีย์ได้นาน 28 วัน ถึงแม้จะมีการเปิดขวดใช้ทุก 7 วัน จนถึงวันที่ 28 ของการทดลอง โดยที่ไปคัสเซียมซอร์เบทในปริมาณดังกล่าวนี้สามารถชะลอการ เติบโตของเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ภายหลังการเปิดใช้ได้

เมื่อทำการศึกษาขึ้นอันผลของการใช้ไปคัสเซียมซอร์เบทต่อการการยับยั้งเชื้อราที่คัดแยกได้จาก ซอสหอยนางรม โดยนำสปอร์ของเชื้อราทั้ง 7 ชนิด ที่แยกได้จากซอสหอยนางรมสูตรไม่เติม ไปคัสเซียมซอร์เบท สายพันธุ์ละ  $10^6$  cfu/ มิลลิลิตร มาถ่ายลงในไปคัสเซียมซอร์เบทที่ระดับความ เข้มข้น 0 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 % บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar พบว่า ไปคัสเซียมซอร์เบทที่มีระดับความเข้มข้นของไปคัสเซียมซอร์เบทที่ 0.08% จะสามารถยับยั้งการ เจริญของเชื้อราได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ

เมื่อศึกษาผลของความร้อนและความเข้มข้นไปคัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการเจริญเชื้อราที่พบ ในผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมที่คัดแยกได้ข้างต้น โดยนำสปอร์ของเชื้อราทั้ง 7 ชนิด มาถ่ายลงใน Potato dextrose broth (PDB) ปริมาณ  $10^7$  cfu/ มิลลิลิตร แล้วนำมาผ่านความร้อนที่ 100 องศา เซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ที่มีระดับความเข้มข้นของไปคัสเซียมซอร์เบท ที่ 0.00 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 % ตรวจสอบปริมาณเชื้อที่หลงเหลืออยู่ ทุก 15 นาที พบว่า สปอร์ของเชื้อราที่ทำการศึกษา ทั้งหมดในหลอด PDB ที่ไม่ได้เติมไปคัสเซียมซอร์เบท ต้องใช้เวลามากกว่า 15-30 นาที ในการ ทำลายให้หมดไปภายใต้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส (ยกเว้น *Penicillium* sp. หนึ่งสายพันธุ์ ที่ ต้องใช้เวลามากกว่า 45 นาที) แต่หลอด PDB ที่มีการเติมไปคัสเซียมซอร์เบทที่ระดับความเข้มข้น 0.08 % สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อราทุกสายพันธุ์ในปริมาณที่เท่ากันให้หมดไปได้ในเวลา 15 นาที ภายใต้อุณหภูมิความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ยกเว้น PDB ที่มีความเข้มข้นของ ไปคัสเซียมซอร์เบท 0.02 % ที่ต้องใช้เวลา 15 – 30 นาที ยกเว้นสายพันธุ์ของ *Penicillium* sp. หนึ่ง สายพันธุ์ ที่ต้องใช้เวลามากถึง 45 นาทีในการทำลายสปอร์ให้หมดไปภายใต้อุณหภูมิเดียวกัน

จากการทวนสอบกระบวนการผลิต (Process Validation) ของผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมนี้

จึงนำมาวิเคราะห์อันตรายตามกระบวนการวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤติพบว่าจุดควบคุม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิกฤติ (CCP) คือ ขั้นตอนการดัมซอสหอยนางรม โดยควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการดัมไม่ควรต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เวลาจะต้องไม่น้อยกว่า 30 นาที แต่อย่างไรคุณสมบัติของซอสจะต้องข้นหนืด อุณหภูมิที่ใช้น้ำมากกว่า 100 องศาเซลเซียส และเคี่ยวนานกว่า 2 ชั่วโมง ทำให้มั่นใจในความปลอดภัย และต้องควบคุมการเติมโปตัสเซียมซอร์เบต ต้องไม่เกิน 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื่องจากโปตัสเซียมซอร์เบตสามารถยืดอายุการใช้งานของซอสหอยนางรม และต้องระวังขั้นตอนการกรองซึ่งอาจมีการปนเปื้อนจากตะแกรงกรองที่ชำรุด และ ขั้นตอนการล้างขวดที่ต้องควบคุมอันตรายที่มาจากเศษแก้วของขวด ซึ่งอาจปนเปื้อนมากับการผลิตได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title           Generic Model of HACCP System in Small Scale of Oyster Sauce  
Student                 Miss Chanida Chuenkamol  
Student ID.            47067717  
Degree                 Master of Science  
Program                Food Sanitation  
Year                    2550  
Thesis Advisor        Assoc. Prof. Dr. Adisorn Swetwivathana

#### ABSTRACT

The study is to apply Hazard Analysis and Critical Control point (HACCP) for oyster sauce production in small manufacture. The risk concerned with physical, chemical and biological hazard for the oyster sauce production was assessed. Potato starch and water, which are 2 major ingredients, were assessed for their microbiological risk by summit to analyze at Division of Food Analysis, Department of Medical Science. Other minor ingredients were examined by using certificate of analysis (COA). The microbiological results revealed that potato starch and water are complied with microbiological regulations setting up by Ministry of Public Health. The finish good, which produced from the same lot of these ingredients, were also complied with the microbiological regulations. According to the best characteristic of finish oyster sauce product which must be conformed in a high concentration and sticky density, thus, the temperature used for production of oyster sauce has to reach to 100 °C for more than 2 hours. Besides, this temperature used for more than 2 hours can also diminish all microorganisms that contaminated before heating the product.

In order to proof whether heating temperature or 0.08 % potassium sorbate exhibited some effects on the microbiological quality of oyster sauce product, hence, the production of oyster sauce with 0.08% potassium sorbate was produced and microbiological quality of this product was compared to the one without potassium sorbate. Both samples were bottled after heating and examined for microbiological quality (Total bacterial and total yeast and mold count) for 7 days interval after the samples were opened from the bottles and left for 28 days at room temperature. The results revealed that heating temperature and heating period were appropriate to diminish all contaminated microorganisms during the process. Moulds, were the main microorganisms, which

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reduced the oyster sauce quality of all opened bottles, especially the samples without potassium sorbate. Moulds could rapidly growth after this non-potassium sorbate added samples in bottles were opened for 7 days. Identification results of these moulds belong to *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus japonicus*, *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., and *Eurotium* sp. The high number of these moulds after opening the bottles and keeping in the room temperature for a long period could reduce the physical property of oyster sauce product. Then, the fermentation of the product to be alcohol was later occurred by the growth of contaminated yeasts.

The effect of various concentration of potassium sorbate (0.00, 0.02, 0.04, 0.06 and 0.08 %) on the growth of 7 isolated of moulds' spores were studied on potato dextrose agar (PDA). The results showed that, without heating condition, potassium sorbate alone could not inhibit the growth of these moulds on PDA. But when compared to the lower concentration of potassium sorbate, the higher concentration of potassium sorbate (especially at 0.08 %) implied to inhibit the growth of each strain on PDA better than the lower concentration ones. Thus, an in-vitro study for the effect of the heat (water bath at 100 °C) and various concentration of potassium sorbate (0.00, 0.02, 0.04, 0.06 and 0.08 %) on spores of each mould strain were investigated in potato dextrose broth (PDB). The growth of each mould were conducted by spread plate technic on PDA at a 15 minutes interval after the broths were water bath at 100 °C for 1 hour. The results revealed that heating the broths with the high concentration of potassium sorbate could eradicate all spore of moulds better than the low concentration of potassium sorbate and non-potassium sorbate added broths, repectively. The study implied that potassium sorbate at 0.08% is a necessary ingredient in the production of oyster sauce. This chemical substance and heating procedure showed the best inhibitory effect of all contaminated moulds. Besides, the added amount could also prolong the shelf-life of oyster product after heating, bottling and opening of the product.

For validation of HACCP principle in the process of this oyster sauce production. It was found that boiling step is the CCP that the producer should control. The operation of PRP have to provide in the step for added of food additive. For physical hazards, controlling the prerequisite program should be provided, especially at sieving and bottle cleaning, in order to prevent the broken sieves and glass ships contamination during the production.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จด้วยดี ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคอยดูแลติดตามการดำเนินการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณคณะกรรมการ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์ ดร.วิรัชย์ อริกุล และ คุณเพ็ญศรี รอดมา ขอขอบคุณ บริษัท พอลัสฟู๊ดอินคัสทรี จำกัด ที่ให้โอกาสนักศึกษาได้เข้ามาทำวิทยานิพนธ์ และพนักงานบริษัท ที่ช่วยเหลือสนับสนุนข้อมูลและเก็บข้อมูลในกระบวนการผลิต

ขอขอบคุณ คุณสมภพ วัฒนมณี นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ 5 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ขอขอบคุณ ดร.สมบัติ สัมฤทธิ์ผล นักวิทยาศาสตร์ ดร.จันทิรา ปัญญา นักวิทยาศาสตร์ และ คุณสุชาดา พิมพ์พิศิษฐ์ถาวร นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ประเทศไทย ที่ช่วยในการวิเคราะห์ประเภทเชื้อราและถ่ายภาพเชื้อราเพื่อประกอบเอกสาร

ขอขอบคุณ ดร.ขวัญทวี พอค้าทอง ที่ให้คำปรึกษาและกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ พ่อ แม่ น้อง ที่คอยให้กำลังใจให้เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ๆ และเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจและช่วยเหลือด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	V
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ขอบเขตของงานวิจัย.....	1
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	2
2.1 ประวัติด้านความเป็นมาของระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม.....	3
2.2 สถานการณ์ปัจจุบันของระบบ HACCP ในประเทศไทย.....	6
2.3 ประโยชน์ของการจัดทำโปรแกรมพื้นฐานและระบบ HACCP.....	6
2.4 หลักการของระบบ HACCP.....	9
2.5 การประยุกต์ใช้ระบบ HACCP.....	10
2.6 คุณลักษณะและมาตรฐานของซอสหอยนางรม.....	20
2.6.1 ผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม.....	20
2.6.2 จุลินทรีย์ที่พบในซอสหอยนางรม.....	23
2.6.3 จุลินทรีย์กับการเสื่อมเสียในซอสหอยนางรม.....	24
2.6.2.1 รา (Mould) .....	24
2.6.2.2 ยีสต์และราที่มีลักษณะคล้ายยีสต์ (Yeast and yeast like fungi) .....	33
2.7 การเสียของรื้อพืชและผลิตภัณฑ์ .....	35
2.8 สารกันบูดในอุตสาหกรรมอาหาร.....	36
2.81 การใช้สารกันบูดร่วมกับสารตัวอื่น.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8.2 การใช้สารกันบูดร่วมกับวิธีทางกายภาพ.....	38
2.8.3 การใช้สารกันบูดป้องกันจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ.....	39
2.8.4 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกระบวนต่อกรียาสารกันบูด.....	39
2.8.6 ชนิดของสารกันบูด.....	40
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	43
3.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอย.....	43
3.2 วิธีการทดลอง.....	44
3.2.1 ศึกษาความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม.....	44
3.2.2 ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา เคมี และ กายภาพของผลิตภัณฑ์...	46
3.2.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการเคี่ยวซอสหอยนางรม.....	47
3.2.4 ศึกษาผลการเติม โปดัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการเก็บ ผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้ .....	47
3.2.5 ศึกษาชนิดเชื้อราที่พบในซอสหอยนางรมที่ไม่ได้ใช้ โปดัสเซียมซอร์เบท.....	47
3.2.6 ศึกษาความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการ ยับยั้งเชื้อราที่พบ.....	47
3.2.7 ศึกษาความผลของความรอนกับความเข้มข้นของ โปดัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ.....	48
3.2.8 ศึกษาการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ต่อซอสหอยนางรมใน ระดับ โรงงานขนาด.....	48
3.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	49
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	51
4.1 การประเมินความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม .....	51
4.1.1 ศึกษาคุณสมบัติทางจุลินทรีย์ในแป้งมันสำปะหลัง.....	54
4.1.2 การศึกษาคุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม.....	55
4.2 ศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ เคมี และ กายภาพของผลิตภัณฑ์ .....	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการเคี้ยวขอสหอยนางรม.....	57
4.4 ศึกษาผลของโปรตีนซีรัมซอร์เบท ที่มีผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้.....	60
4.5 ศึกษาชนิดของเชื้อราที่พบในขอสหอยนางรมที่ไม่ได้ใช้โปรตีนซีรัมซอร์เบท .....	63
4.6 ศึกษาความเข้มข้นของโปรตีนซีรัมซอร์เบท ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ	68
4.7 ศึกษาผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปรตีนซีรัมซอร์เบท ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ.....	71
4.8 การประเมินขั้นตอนของ การวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตน้ำมันหอย.....	75
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	84
เอกสารอ้างอิง.....	89
ภาคผนวก.....	92
ภาคผนวก ก. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	92
ภาคผนวก ข. วิธีการหาปริมาณเชื้อตั้งต้นและเตรียมตัวอย่างในการศึกษาผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปรตีนซีรัมซอร์เบท.....	107
ประวัติผู้เขียน.....	109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	21
2.2	23
2.3	37
2.4	41
2.5	42
2.6	42
4.1	51
4.2	52
4.3	54
4.4	55
4.5	57
4.6	61
4.7	62
4.8	68
4.9	72
4.10	72
4.11	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
4.12	แสดงปริมาณของเชื้อรา <i>Aspergillus japonicus</i> . ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที.....	73
4.13	แสดงปริมาณของเชื้อรา <i>Penicillium</i> sp. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที.....	73
4.14	แสดงปริมาณของเชื้อรา <i>Acremonium</i> sp. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที.....	73
4.15	แสดงปริมาณของเชื้อรา <i>Eurotium</i> sp. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที.....	74
4.16	การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (CCP) ในวัตถุดิบและขั้นตอนการผลิตน้ำมันหอย.....	75
4.17	การกำหนดค่าวิกฤต การตรวจติดตาม และการแก้ไข.....	79
4.18	การกำหนดมาตรการควบคุมของ Operational PRP.....	81
4.19	แผนการทวนสอบ.....	83

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
3.1	เทอร์โมมิเตอร์ดิจิทัลสำหรับวัดอุณหภูมิในการเคี้ยวข่อยหอยนางรม..... 47
3.2	รูปที่ 3.2 ป้ายแสดงการสอบเทียบของอุปกรณ์ที่นำมาใช้..... 47
3.3	แผนภูมิกระบวนการผลิตขอสหอยนางรม..... 49
4.1	แสดงอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอยสูตรปกติ..... 58
4.2	อุณหภูมิในหม้อก่อนกรอกลงขวด..... 59
4.3	อุณหภูมิของขอสในขวด..... 59
4.4	แสดงอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอยสูตรไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท..... 59
4.5	แสดงอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอยสูตรไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบทและสูตรปกติ..... 60
4.6	ภาพของเชื้อราที่ปรากฏที่ปากขวด..... 63
4.7	<i>Cladosporium</i> sp. ยังไม่สร้างสปอร์..... 63
4.8	<i>Cladosporium</i> sp. สร้างสปอร์..... 63
4.9	<i>Cladosporium</i> sp. เมื่อดำยด้วยกล้องจุลทรรศน์..... 64
4.10	<i>Cladosporium</i> sp..... 64
4.11	<i>Penicillium</i> sp. ยังไม่สร้างสปอร์..... 64
4.12	<i>Penicillium</i> sp. สร้างสปอร์..... 64
4.13	<i>Penicillium</i> sp..... 64
4.14	<i>Penicillium</i> sp..... 64
4.15	<i>Aspergillus</i> sp. ยังไม่สร้างสปอร์..... 65
4.16	<i>Aspergillus</i> sp. สร้างสปอร์..... 65
4.17	<i>Aspergillus</i> sp. .... 65
4.18	<i>Aspergillus</i> sp. .... 65
4.19	<i>Aspergillus japonicus</i> ยังไม่สร้างสปอร์..... 65
4.20	<i>Aspergillus japonicus</i> สร้างสปอร์..... 65
4.21	<i>Aspergillus japonicus</i> ..... 66
4.22	<i>Aspergillus japonicus</i> ..... 66
4.23	<i>Penicillium</i> sp. ยังไม่สร้างสปอร์..... 66
4.24	<i>Penicillium</i> sp. สร้างสปอร์..... 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.25 <i>Penicillium</i> sp. ....	66
4.26 <i>Penicillium</i> sp. ....	66
4.27 <i>Acremonium</i> sp. ....	67
4.28 <i>Acremonium</i> sp. ....	67
4.29 <i>Acremonium</i> sp. ....	67
4.30 <i>Acremonium</i> sp. ....	67
4.31 <i>Eurotium</i> sp. ....	67
4.32 <i>Eurotium</i> sp. ....	67
4.33 <i>Eurotium</i> sp. ....	67
4.34 <i>Eurotium</i> sp. ....	67
4.35 ผลของเชื้อรา <i>Cladosporium</i> sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบทที่มีความ เข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	69
4.36 ผลของเชื้อรา <i>Penicillium</i> sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบท ที่มีความ เข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	69
4.37 ผลของเชื้อรา <i>Aspergillus</i> sp ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบท ที่มีความ เข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	69
4.38 ผลของเชื้อรา <i>Aspergillus japonicus</i> . ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบท ที่มี ความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง	69
4.39 ผลของเชื้อรา <i>Penicillium</i> sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบท ที่มีความ เข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	70
4.40 ผลของเชื้อรา <i>Acremonium</i> sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบทที่มีความ เข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	70
4.41 ผลของเชื้อรา <i>Eurotium</i> sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไปดัดเชียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง.....	70
ภาคผนวก ข. ข.1.1 แสดงรูปตัวอย่างเชื้อราที่ขึ้นเต็มหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	107
ข.1.2 แสดงขั้นตอนการหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นและทดสอบกับความชื้นและ ความเข้มข้นของไปดัดเชียมซอร์เบท	107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ซอสหอยนางรม (Oyster sauce) เป็นเครื่องปรุงรสที่รู้จักกันดีในชื่อว่า น้ำมันหอย ปัจจุบันซอสหอยนางรมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างแพร่หลาย โดยมีการผลิตและจำหน่ายในท้องตลาดซึ่งมีเครื่องหมายการค้าไม่ต่ำกว่า 10 ตรา การผลิตซอสหอยนางรมมีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้หัวเชื้อจากต่างประเทศมาทำให้เจือจาง การนำหอยนางรมมาต้มเคี่ยวเพื่อสกัดกลิ่นรส และการย่อยสลายโปรตีนในหอยนางรมด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้อยู่ในรูปโปรตีนที่ละลายน้ำ (มอก 1317, 2538) แล้วจึงนำหอยนางรมที่สกัดจากวิธีเหล่านี้มาปรุงแต่ง กลิ่น รสชาติ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส ก่อนบรรจุขวดออกจำหน่าย เป็นต้น เนื่องจากพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 193, พ.ศ. 2543) เรื่องวิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร หรือ GMP ที่ประกาศเป็นกฎหมาย ซึ่งเป็นหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหารที่ว่าด้วยสุขลักษณะทั่วไป นอกจากนี้ เมื่อวันที่ 27 สิงหาคม พ.ศ.2540 ทางสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้ออกประกาศเรื่อง การพัฒนาและยกระดับมาตรฐานการผลิตของอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้หลักการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point : HACCP) ของ Codex ในโครงการมาตรฐานอาหาร Joint FAO/WHO Standards Program ใช้เป็นแนวในการปฏิบัติในเรื่องความปลอดภัยในอาหารและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

งานวิจัยนี้ได้นำหลักการระบบ HACCP เป็นระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยในอาหารมาใช้ในกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีโอกาสการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังนั้นหลักการของระบบ HACCP สามารถวิเคราะห์อันตรายและหามาตรการควบคุมการผลิตสินค้าในแต่ละขั้นตอนการผลิต เพื่อประกันความปลอดภัยของสินค้าตั้งแต่วัตถุดิบจนกระทั่งเป็นสินค้าสำเร็จรูป

### 1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญ อันตรายทางเคมีและ อันตรายทางกายภาพ โดยอ้างอิงมาตรฐานกฎหมายอาหารของไทยหรือ มาตรฐานที่สากลกำหนดไว้ (Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Alimentarius ) โดยจะมีการประเมินความเสี่ยง

โดยจะนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายไปวิเคราะห์เมื่อทราบถึงปัญหาจะนำมาสู่การประเมินในแต่ละช่วงการผลิตตั้งแต่วัตถุดิบกระบวนการ

การผลิต จนกระทั่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย และจัดทำแผนงานระบบ HACCP ดั้งเดิมสำหรับโรงงานผลิตซอสหอยนางรมระดับเล็ก

### 1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม
2. ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา เคมี และ กายภาพของผลิตภัณฑ์
3. ศึกษาอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกี่ยวซอสหอยนางรม
4. ศึกษาผลการเติม โปตัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการเก็บผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้
5. ศึกษาชนิดเชื้อราที่พบในซอสหอยนางรมที่ไม่ได้ใช้โปตัสเซียมซอร์เบท
6. ศึกษาความเข้มข้นของ โปตัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ
7. ศึกษาความผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ
8. ศึกษาการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ต่อซอสหอยนางรมในระดับ โรงงานขนาดเล็ก

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ประวัติความเป็นมาของระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point : HACCP) เป็นระบบการประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหารที่เป็นที่ยอมรับกันว่าสามารถป้องกันอันตราย หรือสิ่งปนเปื้อนทางด้านชีวภาพ เคมี และกายภาพ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นระบบควบคุมการผลิตอาหารที่ผ่านการรับรองโดยคณะกรรมการโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission) เมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2540 (คูวิมล, 2544)

ระบบ HACCP ได้ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในช่วงปี ค.ศ. 1960 เพื่อควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัยสำหรับนักบินอวกาศในโครงการอวกาศ NASA โดยความร่วมมือของบริษัท Pillsbury ห้องปฏิบัติการกองทัพสหรัฐอเมริกา (U.S. Army Laboratories) ที่ Natick และองค์การ NASA (National Aeronautics and Space Agency) แนวคิดที่นำมาใช้ในการควบคุมการผลิตอาหารให้นักบินอวกาศนี้คล้ายคลึงกับ โปรแกรมข้อบกพร่องเป็นศูนย์ (Zero-Defects Program) ซึ่งไม่เน้นการทดสอบผลิตภัณฑ์สุดท้าย กล่าวคือจะเน้นการควบคุมกระบวนการผลิตในจุดหรือขั้นตอนที่สำคัญที่สามารถประยุกต์วิธีการควบคุมเข้าไปใช้ได้ โดยพิจารณาตั้งแต่วัตถุดิบ กระบวนการผลิต การขนส่ง จนถึงผู้บริโภคและได้เรียกระบบควบคุมนี้ว่าระบบ HACCP ซึ่งระบบ HACCP จะเป็นการวางแผนการป้องกันมากกว่าที่จะมาคอยแก้ปัญหา (Mortimore and Wallace, 1994)

บริษัท Pillsbury ได้เสนอแนวความคิดการควบคุมการผลิตอาหารด้วยระบบ HACCP ในการประชุมเกี่ยวกับการป้องกันด้านอาหาร (Food Protection) ในปี ค.ศ. 1971 ซึ่งทำให้องค์กรอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration; USFDA) นำแนวคิดของ HACCP ไปใช้ในการออกกฎหมายสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ (Low Acid Canned Food) ในปี ค.ศ. 1974

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เป็นต้นมา โรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ในสหรัฐอเมริกาได้เริ่มนำระบบ HACCP ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการผลิตและในปี ค.ศ. 1985 องค์การศึกษาวิทยาศาสตร์แห่งชาติสหรัฐอเมริกา (The National Academy of Sciences, U.S.A) ได้แนะนำให้โรงงานอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ นำระบบ HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตเพื่อเป็นหลักประกันความปลอดภัยของอาหารให้แก่ผู้บริโภค จากนั้นความเคลื่อนไหวในเรื่องการใช้ระบบ HACCP จึงเกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง The International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF) ได้จัดทำหนังสือเกี่ยวกับระบบ HACCP และ ในปี ค.ศ. 1989 National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Food (NACMCF) ของประเทศสหรัฐอเมริกาได้

ปรับปรุงและพัฒนาหลักการของ HACCP ขึ้นเป็น 7 หลักการ ทำให้หน่วยงานระหว่างประเทศต่างๆ เช่น ICMSF ; IAMFES (International Association of Milk, Food and Environmental Sanitation) ประกาศให้มีการใช้ระบบ HACCP รวมทั้งคณะกรรมการโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission; CAC) ซึ่งได้ตระหนักถึงความสำคัญของระบบ HACCP ก็ได้แนะนำสมาชิกให้ใช้เป็นแนวทางปฏิบัติโดยการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP (Guide-lines for the Application of the Hazard Analysis and Critical Control Point System) เมื่อเดือนมิถุนายน ค.ศ. 1997 (CAC/RCP 1-1969, Rev .3-1997) โดยกำหนดไว้ในภาคผนวกของหลักการทั่วไปว่าด้วยสุขลักษณะอาหาร (The Codex Alimentarius General Principle of Food Hygiene) ทั้งนี้ เนื่องจากหลักการทั่วไปว่าด้วยสุขลักษณะอาหารเป็นรากฐานสำคัญในการจัดการด้านสุขลักษณะสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต การจัดการด้านสุขลักษณะสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตนี้ อาจเรียกว่า โปรแกรมพื้นฐาน (Pre-requisite Programs) หรือ ในประเทศสหรัฐอเมริกาจะเรียกว่า หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practices; GMP) ซึ่งประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดเป็นกฎหมาย GMP ว่าด้วยสุขลักษณะทั่วไปอยู่ในหัวข้อ 21 CFR part 110 ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นประเทศแรกที่ได้ประกาศให้มีการนำระบบ HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (Fish and Fishery Products) โดยประกาศเป็นมาตรการบังคับและมีผลบังคับใช้กับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่ผลิตตั้งแต่วันที่ 18 ธันวาคม ค.ศ. 1997 เป็นต้นมา (สุวิมล, 2543)

ในขณะที่กระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา (US Department of Agriculture : USDA) โดย Food Safety and Inspection Service; FSIS ก็ได้ประกาศใช้กฎหมาย Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point เมื่อวันที่ 27 มกราคม ค.ศ. 1997 ให้โรงงานผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์ปีก และ ผลิตภัณฑ์ไข่ ไม่ว่าจะ เป็น โรงงานขนาดเล็กหรือ ขนาดใหญ่ จะต้องมีการจัดทำขั้นตอนการปฏิบัติงานด้านสุขาภิบาล (Sanitation Standard Operation Procedure; SSOPs) เป็นลายลักษณ์อักษรและนำไปใช้ในการปฏิบัติงานจริงโดยกำหนดไว้ในหัวข้อ 9 CFR part 416 และให้โรงงานฆ่าสัตว์ทุกโรงจะต้องมีการตรวจเช็คเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระ โดยกำหนดไว้ในหัวข้อ 9 CFR part 310.25 และ part 381.94 ส่วนการบังคับใช้ระบบ HACCP กำหนดไว้ในหัวข้อ 9 CFR part 417 แบ่งเป็น 3 ระยะเวลา (Phase) การบังคับใช้ขึ้นกับขนาดของโรงงานดังนี้

ระยะที่ 1 โรงงานขนาดใหญ่ (คนงานมากกว่า 500 คน) จะต้องมีการใช้ระบบ HACCP ในการควบคุมการผลิตตั้งแต่วันที่ 26 มกราคม ค.ศ. 1998 และจะต้องมีมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Performance Standard) สำหรับการลดปัญหาจากเชื้อ *Salmonella* ซึ่งกำหนดไว้ในหัวข้อ 9 CFR part 310.25 และ part 381.94

ระยะที่ 2 โรงงานขนาดกลาง (คนงาน 10-500 คน) ต้องนำระบบ HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตตั้งแต่วันที่ 25 มกราคม ค.ศ. 1999 และต้องมีมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Performance Standard) สำหรับการลดปัญหาจากเชื้อ Salmonella ด้วย

ระยะที่ 3 โรงงานขนาดเล็ก (คนงานน้อยกว่า 10 คน) ต้องนำระบบ HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตตั้งแต่วันที่ 25 มกราคม ค.ศ. 2000 และต้องมีมาตรฐานการปฏิบัติงาน (Performance Standard) เพื่อลดปัญหาจากเชื้อ Salmonella ด้วย

ในปี ค.ศ. 1999 USFDA ได้เสนอให้มีการใช้ระบบ HACCP ในการควบคุมการผลิตน้ำผักและน้ำผลไม้ จึงเป็นที่คาดการณ์กันว่า USFDA และ USDA จะออกกฎหมายบังคับใช้ระบบ HACCP กับผลิตภัณฑ์อาหารทุกประเภทภายในปี ค.ศ. 2005 คณะกรรมาธิการประชาคมยุโรปหรือ EU ได้ระบุให้มีการใช้ระบบ HACCP ในหัวข้อเรื่อง Hygiene on Food Stuffs ใน Council Directive 93/43/EEC เมื่อวันที่ 14 มิถุนายน ค.ศ. 1996 โดยกำหนดให้ผู้ผลิตอาหารทุกชนิดในทุกระดับของตลาด ตั้งแต่ออกจากฟาร์มจนถึงระดับขายปลีกในสหภาพยุโรปนำระบบ HACCP ไปประยุกต์ใช้ ทำให้มีผลต่อการบังคับใช้ระบบ HACCP ในกฎหมายอาหารของประเทศสมาชิก ดังนั้น ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตในประเทศสมาชิกในสหภาพยุโรปและผลิตภัณฑ์อาหารที่นำเข้าสู่ประเทศสมาชิก จำเป็นต้องผลิตภายใต้การควบคุมด้วยระบบ HACCP (สุวิมล, 2544)

การผลิตอาหารและการจัดเตรียมอาหาร ต้องมีมาตรฐานในเรื่องสุขอนามัย สำหรับประเทศที่มีการนำเข้าและส่งออกสินค้า (Forsythe and Hayes, 1998) สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่นำเข้าสู่ประเทศสมาชิก จะให้เป็นความรับผิดชอบของผู้นำเข้าที่จะต้องดูแลให้สินค้าที่นำเข้ามีความปลอดภัยต่อการบริโภค และผลิตภายใต้ระบบ HACCP ปัจจุบันผู้นำเข้าสินค้าอาหารรายใหญ่ๆ ในสหภาพยุโรปก็ได้มีการควบคุมโดยการว่าจ้างบริษัทที่ได้รับความไว้วางใจในสหภาพยุโรป ให้เข้ามาตรวจสอบระบบการผลิตอาหารเฉพาะในส่วนของสินค้าที่บริษัทจะสั่งซื้อ โดยใช้ระบบการตรวจประเมินที่เรียกว่า EFSIS (European Food Safety and Inspection Service) ซึ่งเป็นระบบที่ผสมผสานระหว่างระบบ HACCP และระบบ ISO 9000 โดยเน้นการควบคุมทางด้านความปลอดภัยของอาหาร เป็นที่คาดการณ์ว่า จะมีความเป็นไปได้ที่บริษัทนำเข้าสินค้าอาหารทั้งหลายในสหภาพยุโรป จะเริ่มมีความเข้มงวดในการนำระบบ HACCP และระบบ ISO 9000 มาใช้เป็นเงื่อนไขบังคับกับสินค้าอาหารที่นำเข้า ประเทศญี่ปุ่น ก็ได้ประกาศให้มีการใช้ระบบ HACCP ในการควบคุมการผลิตอาหารหลายประเภท เช่น นมและผลิตภัณฑ์จากนม เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ และ ผลิตภัณฑ์สุริมิ เป็นต้น โดยประกาศเป็นมาตรการตามความสมัครใจในบทแก้ไขของ Food Sanitation Law ในขณะที่ประเทศเกาหลีใต้และสิงคโปร์ก็ได้ประกาศให้มีการใช้ระบบ HACCP เป็นมาตรการบังคับสำหรับอุตสาหกรรมไส้กรอก แฮม และเนื้อสัตว์ที่นำเข้า จะเห็นว่าการผลักดันให้มีการใช้ระบบ HACCP กำลังดำเนินไปอย่างรวดเร็วทั่วโลก ทั้งในประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป แคนาดา ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และสิงคโปร์ รวมทั้งอีกหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิวซีแลนด์ ซึ่งหลายประเทศเป็นประเทศผู้นำเข้าสำคัญเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรที่สำคัญของประเทศไทย โดยการผลักดันเป็นไปทั้งที่เป็นมาตรการบังคับและมาตรฐานตามความสมัครใจตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

ผู้ผลิตอาหารของประเทศไทยจึงควรตระหนักถึงความสำคัญของการนำระบบ HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตอาหาร เพื่อประโยชน์ต่อทั้งผู้ผลิตเองและต่อผู้บริโภค

## 2.2 สถานการณ์ปัจจุบันของระบบ HACCP ในประเทศไทย

(มอกช, Online 6/4/2007) นับตั้งแต่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกองค์การการค้าโลก (World Trade Organization) ร่วมก่อตั้งร่วมกับประเทศอื่นๆ อีก 80 ประเทศ เมื่อวันที่ 28 ธันวาคม พ.ศ. 2537 มีการบังคับสุขอนามัยและสุขอนามัยของพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary) ที่กำหนดกติกาให้ประเทศต่างๆ ใช้มาตรการด้านมาตรฐานและความปลอดภัยอาหาร ควบคุมการเกษตรและอาหาร ทำให้กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ตระหนักถึงความสำคัญในการแข่งขันของอาหารในต่างประเทศที่จะทวีความรุนแรงมากขึ้น

ความตกลงว่าด้วย การบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยของพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure : SPS) ความตกลงว่าด้วยอุปสรรคทางเทคนิคต่อ (Technical Barrier to Trade : TBT) ภายใต้องค์การการค้าโลก (World Trade Organization) ตกลง 2 ฉบับหลักที่ประเทศสมาชิกมีข้อผูกพันที่จะต้องปฏิบัติ เพื่อให้มั่นใจว่าการนำมาตรการระเบียบทางเทคนิค และ ขั้นตอนการประเมินความสอดคล้องใดๆ จะไม่ก่อให้เกิดอุปสรรคที่ไม่จำเป็นในประเทศ

ในความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้ระบุอย่างชัดเจนมาตรฐานระหว่างประเทศ แนวปฏิบัติ (guideline) และข้อเสนอแนะ (recommendation) กรรมการโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission Codex) องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International des Epizooties for Animal Health : OIE) และอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection : IPPC) เป็นเกณฑ์ตัดสินเพื่อคุ้มครองสุขภาพมนุษย์ สุขภาพสัตว์และสุขอนามัยพืช

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มอกช.) ในฐานะที่เป็นศูนย์ประสานงานของไทยกับ Codex, OIE และ IPPC ได้ปฏิบัติภารกิจอย่างเต็มความสามารถในการร่วมกำหนดองค์กร ดังกล่าวขององค์การการค้าโลก ที่มักเรียกว่า “WTO three sister organization” โดยร่วมมือกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย เพื่อจัดเตรียมแนวทางของประเทศไทย พิจารณาของทั้ง 3 องค์กร ทั้งนี้การกำหนดแนวทางโดยอาศัยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เป็นพื้นฐานสำคัญประเด็นที่อยู่ในความสนใจของผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (<http://www.acfs.go.th/km/index.php>)

(สุประคามา, online 7 April 2007) อุตสาหกรรมอาหารของไทยนับเป็นกลุ่มอุตสาหกรรมที่มีศักยภาพ มีอัตราการขยายตัวด้านการส่งออกอย่างต่อเนื่องและมีแนวโน้มไปในทิศทางที่ดีขึ้น ในแต่ละปีนำเงินตราเข้าประเทศมูลค่ามหาศาล อย่างไรก็ตามในการเติบโตดังกล่าวมีอุปสรรคไม่น้อย เช่น ปัญหามาตรการกีดกันทางการค้าแบบมิใช่กำแพงภาษี ซึ่งนับวันมีรูปแบบใหม่ๆ มากขึ้น ไม่ว่าจะเป็น GMP, HACCP, GAP, BRC และ ISO

ทั้งนี้อุตสาหกรรมอาหารของไทยประมาณ 90% เป็นอุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดย่อม (SMSs) ส่วนใหญ่มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น การบริหารงาน บริหารต้นทุน บุคลากร ความรู้ และการปรับตัวตามมาตรฐานต่างๆ พบว่าบริษัทขนาดกลางและขนาดเล็กล้มประสพปัญหาเรื่องการจัดทำระบบมากพอสมควร ยิ่งถ้าเป็นบริษัทเล็กมากก็ยังมีปัญหามาก ทั้งด้านบุคลากร งบประมาณ ในการจัดทำระบบ และอื่นๆ กระนั้นก็ไม่ได้หมายความว่าบริษัทขนาดเล็กจะจัดทำระบบ HACCP ไม่ได้ กล่าวคือ ถ้าจะจัดทำระบบ HACCP ให้มีประสิทธิภาพ ผู้บริหารต้องมีความเข้าใจระบบดังกล่าวอย่างแท้จริงและประยุกต์ให้เหมาะสมกับธุรกิจของตนให้มากที่สุด รวมทั้งต้องมีทีมงานที่เข้มแข็ง และสามารถประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ได้อย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผล

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารที่มีการจัดทำระบบ HACCP มีเพียง 8 ประเภท คือ โรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับ 1) สัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์น้ำ 2) น้านม 3) สัตว์น้ำ 4) ผัก พืช หรือ ผลไม้ 5) เมล็ดพืช 6) อาหารจากแป้ง 7) ชา กาแฟ โกโก้ ช็อกโกแลต หรือขนมหวาน 8) เครื่องปรุงหรือเครื่องประกอบอาหาร ในโรงงานเหล่านี้มีเพียง 155 โรงงานเท่านั้น ที่มีการรับรองระบบ HACCP ทั้งนี้ เมื่อแยกตามประเภทของอุตสาหกรรมพบว่า โรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับสัตว์น้ำมีการรับรองมากที่สุดประมาณร้อยละ 58 ตามด้วย โรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์น้ำ อีกร้อยละ 11 และ โรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับผัก พืช หรือ ผลไม้ อีกร้อยละ 10 ส่วนที่เหลือเป็นโรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับเครื่องปรุงหรือเครื่องประกอบอาหารกิจการเกี่ยวกับนม และกิจการอื่นๆ อีกร้อยละ 43 และ 14 ตามลำดับ (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการค้าระหว่างประเทศ, 2546)

(กัลยาณี, online 7 April 2005) สำหรับ GMP เฉพาะผลิตภัณฑ์ (Specific GMP) นั้น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้ทำการตรวจสอบจำนวนผู้ประกอบการที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาและสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดทั่วประเทศ ในปี 2546 มีประมาณ 4,000 รายทั่วประเทศ ซึ่งส่วนใหญ่ผู้ประกอบการรายย่อยมีการผลิตโดยไม่คำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงเห็นว่าจำเป็นต้องมีมาตรการและหาวิธีการป้องกันในเรื่องนี้อย่างจริงจังมากขึ้น

สำหรับแนวโน้มในอนาคตและผลกระทบของผลิตภัณฑ์ HACCP นั้น ในปัจจุบันประเทศผู้ซื้อผลิตภัณฑ์อาหารจากประเทศไทยรายใหญ่หลายรายมีการใช้ระบบ HACCP หรือระบบการควบคุมการผลิตอาหารระบบอื่นที่คล้ายคลึงกันเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดให้ต้องใช้ระบบ HACCP ควบคุมผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำตั้งแต่ปี 2540 ประเทศญี่ปุ่นได้มีการ

ประกาศให้ใช้ระบบ HACCP ในการควบคุมการผลิตอาหาร โดยสมัครใจสหภาพยุโรปได้ประกาศเป็นมาตรการบังคับอย่างชัดเจนว่า ผู้ผลิตอาหารต้องมีการวิเคราะห์อันตราย กำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมและสร้างระบบควบคุมการผลิตอาหารให้มีความปลอดภัยในการบริโภคซึ่งใช้หลักการเดียวกับ HACCP แม้จะไม่ได้ประกาศว่าผู้ผลิตต้องใช้ระบบ HACCP ก็ตาม

เนื่องจาก มากกว่าร้อยละ 85 ของโรงงานที่ประกอบกิจการเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารในประเทศไทยเป็นโรงงานขนาดเล็กที่มีสัดส่วนของโรงงานที่ได้รับการรับรอง HACCP น้อยที่สุด การสร้างความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารให้ได้รับการรับรองระบบ HACCP จึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญโดยมีมาตรการดังนี้

1. ให้การศึกษาแก่ผู้ประกอบการเกี่ยวกับระบบ HACCP ระบบ GMPs และมาตรฐานของประเทศคู่ค้าอื่นๆของไทย เช่นมาตรฐาน BRC ของประเทศอังกฤษ
2. ให้การส่งเสริมโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารขนาดกลาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงงานขนาดเล็กให้มีมาตรฐานการผลิตตามระบบ HACCP และระบบมาตรฐานอื่นๆ ที่คล้ายกัน

### 2.3 ประโยชน์ของการจัดทำโปรแกรมพื้นฐานและระบบ HACCP (สุวิมล, 2544)

โปรแกรมพื้นฐานและระบบ HACCP เป็นระบบการจัดการเพื่อผลิตอาหารให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคโดยเน้นการป้องกันและลดความสำคัญของการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุดท้าย ระบบนี้มีประโยชน์ต่อโรงงานหลายประการคือ

1. เป็นหลักประกันความปลอดภัยให้กับผู้บริโภค
2. ทำให้การปฏิบัติงานเป็นระบบมากขึ้น สามารถตอบสนองต่อปัญหาด้านความปลอดภัยของอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ
3. ยกระดับมาตรฐานการผลิตให้กับโรงงาน
4. มีการวิเคราะห์ข้อมูล ทำให้ช่วยลดปริมาณของเสีย สามารถใช้ทรัพยากรได้อย่างมีประสิทธิภาพ
5. ผู้ปฏิบัติงานเกิดความเข้าใจในงานที่ปฏิบัติอย่างถ่องแท้ นำมาซึ่งความเข้าใจซึ่งกันและกัน ทำให้เกิดความสามัคคีกันในหน่วยงานต่างๆ
6. ระบบ HACCP เป็นระบบที่สามารถใช้ควบคุมอันตรายจากจุลินทรีย์ สารเคมีและสิ่งแปลกปลอมได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่สิ้นเปลือง
7. เป็นระบบที่สามารถใช้ร่วมกับระบบคุณภาพอื่น
8. เกิดภาพพจน์ที่ดีต่อองค์กรและผลิตภัณฑ์
9. เพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันด้านการตลาด
10. ยกระดับมาตรฐานการผลิตให้กับโรงงาน
11. เป็นหลักประกันความปลอดภัยให้กับผู้ซื้อสินค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. เกิดการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง
13. พนักงานเกิดความภาคภูมิใจ

#### 2.4 หลักการของระบบ HACCP

รากฐานที่ดีที่สุดสำหรับความสำเร็จในการพัฒนาและนำระบบ HACCP มาใช้คือ การปฏิบัติตามโปรแกรมนำร่องเช่น GMPs (Good manufacturing practices) เนื่องจาก GMPs คือมาตรฐานทางด้านสุขลักษณะ พื้นฐานที่โรงงานผลิตอาหารต้องมีเพื่อจะรองรับระบบ HACCP ได้ GMPs ที่ใช้ในการควบคุมการผลิตในอุตสาหกรรมอาหารมีอยู่ 2 ระบบ คือ ระบบของสหรัฐอเมริกาและระบบ WHO และ FAO (หรือระบบของ Codex) ที่ใช้กันในหลายประเทศทั่วโลก ระบบแรกเน้นในเรื่องอาคารสถานที่ บุคคล และกระบวนการผลิต ตลอดจนข้อกำหนดเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย นอกจากนี้ยังมีมาตรฐานบังคับใช้สำหรับโรงงานอุตสาหกรรมอาหารของประเทศคู่ค้าอื่น ๆ ของไทย เช่น ประเทศอังกฤษที่ใช้มาตรฐาน BRC (Technical Standard for Companies Supplying Retailer Branded Food Products ของ British Retail Consortium)

ภายใต้ Codex Alimentarius Commission (Annex to CAC/RCP-1(1969), Rev.3 (1997)) หรือมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหารและคำแนะนำในการนำไปใช้ มอก.7000-2540 ระบบ HACCP ประกอบด้วยหลักการ (Principles) 7 ข้อ ที่ต้องปฏิบัติตามที่ระบุในมาตรฐานระหว่างประเทศและประเทศสมาชิกได้ยึดถือเป็นแนวทางประยุกต์ใช้โดยสอดคล้องกันทั่วโลก ดังนี้

หลักการที่ 1 ดำเนินการวิเคราะห์อันตราย (Conduct and hazard analysis) ระบุอันตรายที่อาจเกิดขึ้นในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิต โดยการประเมินโอกาสจะเกิดอันตราย ระดับความรุนแรงที่อาจเกิดขึ้นและระบุมাত্রการควบคุมอันตรายเหล่านั้น

หลักการที่ 2 หาจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (Determine the Critical Control Point : CCPs) กำหนดจุดการปฏิบัติขั้นตอนการทำงาน จุดวิกฤติที่ต้องควบคุมอาจมีมากกว่าหนึ่งจุด ในการควบคุมอันตรายชนิดเดียวกัน การกำหนดจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในระบบ HACCP สามารถกระทำโดยใช้หลักการของ Decision tree (แผนภูมิ 2) ซึ่งจะระบุเหตุผลตามอย่างเหมาะสม การประยุกต์ใช้ Decision tree ควรจะยืดหยุ่นให้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการผลิต การฆ่าสัตว์ กรรมวิธีผลิต การเก็บรักษา การจัดส่งสินค้า หรืออื่นๆ Decision tree อาจใช้เป็นแนวทางในการกำหนดจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม หากมีการระบุอันตรายในขั้นตอนซึ่งจำเป็นต้องมีการควบคุมเพื่อความปลอดภัย แต่ยังไม่มีการกำหนดมาตรการควบคุม ณ จุดนั้นหรือจุดอื่น กรณีนี้ต้องมีการปรับเปลี่ยนผลิตภัณฑ์หรือกระบวนการผลิต ณ จุดนั้นๆ หรือที่ขั้นตอนใดๆ ก่อนหรือหลังขั้นตอนนั้น เพื่อให้สามารถกำหนดมาตรการควบคุมอันตรายได้

หลักการที่ 3 กำหนดค่าวิกฤต (Establish Critical Limit) ซึ่งอาจเป็นค่าต่ำสุดหรือสูงสุดก็ได้แล้วแต่กรณี ซึ่งต้องควบคุมให้อยู่ภายใต้เกณฑ์ที่กำหนด เพื่อมั่นใจว่าจุด CCP อยู่ภายใต้การควบคุม ค่าวิกฤตนี้ไม่ใช่ค่าที่เป็นอยู่จริงในกระบวนการปกติ แต่จะต้องวางรากฐานอยู่บนหลักเกณฑ์ทางวิทยาศาสตร์

หลักการที่ 4 กำหนดระบบเพื่อตรวจติดตามการควบคุมวิกฤตที่ต้องควบคุม (Establish a system to monitor of the CCP) กำหนดระบบในการเฝ้าระวัง โดยการกำหนดแผนการทดสอบหรือการเฝ้าสังเกตอยู่ในระดับที่ควบคุมได้หรือไม่ และสร้างระบบเอกสารที่จะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามตรวจสอบในอนาคต

หลักการที่ 5 กำหนดวิธีการแก้ไข เมื่อตรวจพบว่าจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมเฉพาะจุดใดจุดหนึ่งไม่อยู่ภายใต้การควบคุม (Establish the corrective action to be taken when monitoring indicates that particular CCP is not under control)

หลักการที่ 6 กำหนดวิธีการทวนสอบ เพื่อยืนยันประสิทธิภาพการดำเนินงานของระบบ HACCP (Establish procedures for verification to confirm that the HACCP system is working effectively)

หลักการที่ 7 กำหนดวิธีการจัดเก็บเอกสารที่เกี่ยวข้องกับวิธีการปฏิบัติและบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ที่เหมาะสมตามหลักการเหล่านี้ และการประยุกต์ใช้ (Establish documentation concerning all procedures and records appropriate to these principles and their application)

## 2.5 การประยุกต์ใช้ระบบ HACCP (สุวิมล, 2544)

### 2.5.1 ขั้นตอนที่ 1 การจัดตั้งทีมงาน HACCP

คุณสมบัติของบุคคลในกลุ่ม ควรคัดเลือกผู้มีวุฒิการศึกษาในระดับที่เหมาะสมจากหลายๆ แผนกหรือมีอายุงานในหน่วยงานนี้พอสมควรและมีทัศนคติที่ดีต่อองค์กรและนโยบายของบริษัท เพื่อจัดตั้งทีมงาน HACCP กลุ่มบุคคลที่คัดเลือกและแต่งตั้งแล้วจะต้องผ่านการฝึกอบรมเข้าใจหลักการของระบบ HACCP โดยเฉพาะขั้นตอนการระบุอันตราย (Identifying Hazard) การคัดเลือกจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (CCP) และการกำหนดค่าวิกฤตที่ต้องควบคุม (Critical limits) และความเข้าใจในคำจำกัดความต่างๆ ในความหมายเดียวกัน การฝึกอบรมอาจขยายขอบข่ายให้ครอบคลุมในเรื่องการตรวจประเมินระบบคุณภาพ (Quality System Auditing) การทำงานเป็นทีม (Team working) และการแก้ปัญหา (Problem solve) ในกรณีที่ขาดผู้มีความรู้เฉพาะด้าน อาจขอคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญภายนอกองค์กร

หน้าที่ความรับผิดชอบของทีมนควรมีการกำหนดให้ชัดเจน ได้แก่

1. หัวหน้าทีม (HACCP Team Leader)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ต้องทำหน้าที่ควบคุมขอบข่ายและการใช้ระบบ HACCP ให้บรรลุผลในทางปฏิบัติ
- เข้าร่วมและทำหน้าที่ประธานที่ประชุมกลุ่ม
- ตรวจสอบติดตามระบบเอกสารและการบันทึกผล
- ตรวจสอบติดตามโปรแกรมการตรวจประเมินระบบคุณภาพภายใน

## 2. สมาชิกกลุ่ม (HACCP team member)

- จัดทำเอกสารระบบ HACCP
- ทบทวนระบบ HACCP หากมีการเปลี่ยนแปลงสาระสำคัญ เช่น การเปลี่ยนสูตรหรือ ส่วนผสม การปรับค่าวิกฤต
- เป็นผู้ตรวจประเมินระบบคุณภาพภายใน
- ประสานงานการดำเนินงานกิจกรรมระบบ HACCP

### 2.5.2 ขั้นตอนที่ 2 การอธิบายรายละเอียดผลิตภัณฑ์ (Describe Product)

การอธิบายรายละเอียดผลิตภัณฑ์ได้อย่างถูกต้องสมบูรณ์นั้น ทีมงานต้องมีความเข้าใจคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์นั้นเป็นอย่างดี รวมถึงกลุ่มผู้บริโภคถือว่าเป็นกลุ่มที่เสี่ยงต่ออันตรายจากสินค้าชนิดนั้นหรือไม่ ทีมงานสามารถที่จะระบุอันตรายทุกชนิดที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิตนั้นได้อย่างถูกต้อง หากมีรายละเอียดข้อมูลผลิตภัณฑ์ที่ครบถ้วนสมบูรณ์ การอธิบายรายละเอียดผลิตภัณฑ์ทีมงาน HACCP ควรจะได้พิจารณาประเด็นต่างๆ ก่อนจะพิจารณาให้รายละเอียดผลิตภัณฑ์ ดังนี้

#### 1. ชื่อผลิตภัณฑ์

สามารถระบุเป็นสามัญของผลิตภัณฑ์หรือกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่จะจัดทำแผน HACCP

#### 2. ลักษณะสำคัญของผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ระบุปัจจัยที่มีผลต่อความปลอดภัยของอาหาร เช่น

- สูตรหรือส่วนผสมที่ใช้ วัตถุดิบที่ใช้ว่ามีอะไรบ้าง
- เชื้อจุลินทรีย์ที่น่าจะมีอยู่ในวัตถุดิบหรือส่วนผสมในสูตรผลิตภัณฑ์นี้ ถ้ามีเป็นจุลินทรีย์ชนิดใด
- มีการใช้วัตถุเจือปนหรือสารกันบูดหรือไม่ ปริมาณที่ใช้เหมาะสมหรือไม่และระดับที่ใช้เป็นระดับที่เพียงพอต่อการทำหน้าที่ตามวัตถุประสงค์หรือไม่
- ความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์ช่วยระงับหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหรือไม่
- ค่าปริมาณน้ำอิสระ  $a_w$  (water activity)

#### 3. การใช้ผลิตภัณฑ์

ระบุวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ เช่น เป็นผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภค หรือต้องให้ความร้อนก่อนการบริโภคเป็นวัตถุดิบสำหรับเข้าสู่กระบวนการผลิตต่อไป เป็นต้น

#### 4. ภาชนะบรรจุ

ระบุประเภทของบรรจุภัณฑ์ ลักษณะของวัสดุหีบห่อ และสภาวะการบรรจุ เช่นมีการใช้ความกดดันอากาศ (Modified Atmosphere) เป็นต้น

#### 5. อายุการเก็บรักษา

ระบุอายุการเก็บรักษาในสภาวะที่กำหนด เช่น อุณหภูมิ ความชื้นในการเก็บรักษา

#### 6. สถานที่จำหน่าย

ระบุสถานที่จำหน่าย เช่น จำหน่ายให้แก่โรงงานอุตสาหกรรม เพื่อนำไปสู่กระบวนการผลิตต่อไป หรือจำหน่ายให้แก่ผู้นำเข้าเพื่อจำหน่ายในร้านขายปลีก เป็นต้น

#### 7. ข้อเสนอแนะบนฉลาก

ระบุข้อเสนอแนะบนฉลากที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เท่านั้น เช่น ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการใช้ การปฏิบัติระหว่างการขนส่งหรือการเก็บรักษา วัตถุเจือปนอาหารที่เติมในผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

#### 8. การควบคุมจำเพาะระหว่างการกระจายสินค้า

ระบุสภาวะที่จำเป็นต่อการขนส่งและการกระจายสินค้า เช่น อุณหภูมิ การจัดการและการดูแลเป็นพิเศษ (Special Handling) เป็นต้น

#### 9. กลุ่มผู้บริโภค

ระบุกลุ่มประชากรเป้าหมายที่บริโภคผลิตภัณฑ์ หากกลุ่มเป้าหมายเป็นกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงสูง เช่น ผู้สูงอายุ ผู้ที่เป็นโรคภูมิแพ้ หญิงมีครรภ์ และทารกรวมอยู่ด้วย คณะกรรมการต้องพิจารณาอันตรายต่างๆ และมาตรการควบคุมอย่างรอบคอบ

การบรรยายลักษณะและรายละเอียดของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการระบุวัตถุประสงค์ในการใช้ผลิตภัณฑ์จะช่วยให้มีการพิจารณาอันตรายที่มีโอกาสเกิดขึ้นจริงสำหรับผลิตภัณฑ์นั้นๆ

#### 2.5.3 ขั้นตอนที่ 3 การชี้หาวัตถุประสงค์ในการใช้ผลิตภัณฑ์ (Identify intended Use)

การระบุวิธีการใช้และกลุ่มผู้ใช้ เพื่อมั่นใจว่าแผน HACCP ที่จัดเตรียมขึ้นได้มีการพิจารณา กลุ่มเป้าหมายผู้ใช้นั้นๆ เนื่องจากบางกลุ่มผู้ใช้ต้องดูแลเป็นพิเศษ เช่น กลุ่มเด็ก กลุ่มผู้ที่แพ้สารเคมี บางประเภท

#### 2.5.4 ขั้นตอนที่ 4 การจัดทำแผนภูมิกระบวนการผลิต

แผนภูมิกระบวนการผลิตจะช่วยทำให้ทีมงาน HACCP สามารถใช้พิจารณาการปนเปื้อนของอันตรายต่างๆ ในแต่ละขั้นตอนการผลิต การแนะนำมาตรการการควบคุม โดยพิจารณาตามขั้นตอนแผนภูมิที่จัดทำขึ้น การจัดทำแผนภูมิกระบวนการผลิตที่ดีต้องมีรายละเอียดตั้งแต่ การรับเข้าของวัตถุดิบทุกชนิด การแปรรูป การจัดส่ง โดยรวมขั้นตอนการนำผลิตภัณฑ์มาผลิตใหม่ (reprocess หรือ rework) ด้วยหากมีตามลำดับขั้นตอนการปฏิบัติ โดยมีข้อมูลรายละเอียดที่ชัดเจน

เพียงพอ ซึ่งได้จากการสอบถาม การสังเกต หรือจากแหล่งข้อมูลอื่น แต่ละขั้นตอนการผลิตควรมีรายละเอียดข้อมูลต่างๆ อย่างเพียงพอ อาทิ

- ส่วนผสมทุกชนิดและภาชนะบรรจุหีบห่อ
- เขียนแผนภูมิตามลำดับการปฏิบัติจริง รวมทั้งขั้นตอนการรับเข้าวัตถุดิบ
- บันทึกข้อมูลเวลา/อุณหภูมิของวัตถุดิบทุกชนิด ผลกระทบระหว่างการผลิตและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป รวมถึงโอกาสของการล่าช้า
- อธิบายเส้นทางการนำวัตถุดิบไปผลิตหรือนำกลับมาผลิตใหม่
- โครงสร้างของเครื่องมืออุปกรณ์

#### 2.5.5 ขั้นตอนที่ 5 การตรวจสอบความถูกต้องของแผนภูมิกระบวนการผลิต (On-site Verification of Flow Diagram)

ทีมงาน HACCP ทุกคนควรมีส่วนร่วมในการตรวจสอบความถูกต้องของแผนภูมิกระบวนการผลิตที่จัดทำขึ้น โดยการตรวจสอบเปรียบเทียบแผนภูมิกับการปฏิบัติจริงเพื่อยืนยันความถูกต้อง โดยตรวจสอบครอบคลุมถึงจุดที่มีการนำมาใช้ของวัตถุดิบและภาชนะบรรจุด้วย ในระหว่างตรวจสอบทีมงาน HACCP อาจทำการปรับเปลี่ยนแผนภูมิการผลิตให้สอดคล้องกับกระบวนการผลิตจริง

#### 2.5.6 ขั้นตอนที่ 6 ระบุอันตรายทุกชนิดที่อาจเกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต

ทำการวิเคราะห์อันตรายและพิจารณาหามาตรการในการควบคุมอันตรายที่ตรวจพบ ขั้นตอนแรกของการวิเคราะห์อันตราย คือ การระบุอันตรายที่มีโอกาสจะเกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนการผลิต โดยเริ่มตั้งแต่วัตถุดิบจนถึงขั้นตอนสุดท้าย และทำการพิจารณาให้ครอบคลุมอันตรายทั้ง 3 ประเภท ได้แก่

##### 1) อันตรายชีวภาพ

การระบุอันตรายชีวภาพ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในแต่ละขั้นตอนนี้ ต้องระบุชนิดของจุลินทรีย์และลักษณะการมีอยู่ของจุลินทรีย์อย่างชัดเจน พร้อมทั้งสาเหตุหรือแหล่งที่มาของอันตรายชีวภาพนั้นๆ ดังนี้

(1) การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Vegetative Pathogens) เช่น การปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp. จากพนักงานการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* จากน้ำใช้ เป็นต้น

(2) การเจริญเติบโตของ Vegetative Pathogens เช่นการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp. เนื่องจากอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์สูงและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลานาน

(3) การรอดของ *Clostridium botulinum* เนื่องจากกระบวนการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อไม่ถูกต้อง

การระบุนตรายชีวภาพว่าเป็น “เชื้อจุลินทรีย์” โดยไม่ระบุชนิดของเชื้อว่าเป็นเชื้อชนิดใด จะทำให้คณะทำงานประสบปัญหาไม่สามารถหามาตรฐานการควบคุมที่เหมาะสมได้ เพราะเมื่อไม่ทราบว่าเชื้อนั้นคืออะไร ก็จะไม่ทราบว่าควรควบคุมที่อุณหภูมิและเวลาเท่าไร

## 2) อันตรายเคมี

การระบุนตรายเคมีและสาเหตุสามารถระบุที่เกิดขึ้นจาก

(1) สภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต เช่น กรด ด่าง หรือน้ำยา CIP (Clean In Place)

ตกค้างในอุปกรณ์เนื่องจากล้างน้ำออกไม่หมด

(2) สารเคมีในวัตถุดิบ เช่น ยาฆ่าแมลง ยาปฏิชีวนะตกค้าง เนื่องจากแหล่งเพาะปลูกหรือฟาร์มเลี้ยงปฏิบัติไม่ถูกต้องตามหลัก GAP (Good Agricultural Practice)

(3) สารเคมีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ เช่น Histamine, *Staphylococcus aureus* toxin เนื่องจากอุณหภูมิและเวลาในการจัดการกับผลิตภัณฑ์ไม่เหมาะสม

(4) สารเคมีที่เติมลงในอาหาร เช่น โซเดียมไนไตรต์ (Sodium Nitrite) ที่เติมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกตกค้าง เนื่องจากพนักงานชั่งน้ำหนักไม่ถูกต้อง หรือใช้สูตรส่วนผสมไม่ถูกต้อง เป็นต้น

## 3) อันตรายกายภาพ

มีที่มาจากหลายแหล่ง คณะทำงานควรระบุให้ชัดเจนว่าอันตรายกายภavnั้นคืออะไร เช่น เป็นเศษแก้ว เศษไม้ เศษโลหะ เศษพลาสติกแข็ง หิน เป็นต้น พร้อมทั้งระบุแหล่งที่มา เช่น เศษโลหะจากมีด หินในวัตถุดิบ พลาสติกแข็งจากระบบ เป็นต้น ไม่ควรระบุนตรายกายภาพว่าเป็น “สิ่งแปลกปลอม” เพราะไม่ชัดเจนและจะไม่สามารถกำหนดมาตรฐานการควบคุมที่เหมาะสมได้ การปนเปื้อนเกิดขึ้นในวงจรตั้งแต่วัตถุดิบจนถึงมือลูกค้า โดยเกิดจากการปฏิบัติงานที่ไม่ถูกต้อง

อันตรายจากสิ่งแปลกปลอมทางกายภาพ โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 กลุ่มหลัก

(1). สารที่เกิดจากธรรมชาติ เช่น ชิ้นส่วนจากพืช ก้านใบ ใบไม้ และเมล็ดพันธุ์ ขนสัตว์ เส้นผม คราบเชื้อรา แมลง มูลสัตว์ หรือ คราบขี้ถ่ายของสัตว์พาหะ

(2). สิ่งแปลกปลอม เช่น เศษแก้ว โลหะ พลาสติก เศษไม้ เทปกระดาษ สิ่งสกปรก กรวด ปะเก็น ฉนวนหุ้มท่อ กระดุมและเครื่องประดับ ก้นบุหรี่

การพิจารณาโอกาสที่อันตรายทั้ง 3 ประเภท จะเกิดขึ้นและความรุนแรง (Severity) หรือผลที่เกิดจากอันตราย การประเมินความเสี่ยงและความร้ายแรงขึ้นอยู่กับประสบการณ์ของผู้ประเมิน โดยใช้ข้อมูลต่างๆ เช่น การระบาดของเชื้อโรค และข้อมูลด้านเทคนิคต่างๆ กลุ่มผู้จัดทำระบบ

HACCP จะเป็นผู้รับผิดชอบในการตัดสินใจว่าอันตรายในขั้นตอนใดมีความสำคัญและต้องนำมาบันทึกในแผน HACCP

ในการพิจารณาถึงนัยสำคัญของอันตรายอาศัยหลักการพิจารณาถึงความร้ายแรง ( Severity) และ ความเสี่ยง (Risk)

ความร้ายแรง (Severity)

เป็นผลที่เกิดจากอันตราย ซึ่งสามารถแบ่งตามลำดับของความรุนแรง ได้ 3 ระดับ คือ

1. ความรุนแรงต่ำ (Low severity; Moderate or mild)

อันตรายที่มีต่อผู้บริโภคอยู่ในระดับที่ไม่รุนแรง เช่น อาการป่วยที่เกิดจากเชื้อ *C.perfringens*, *S. aureus*, *Bacillus sp.* Norwalk virus, พยาธิ และ parasites ส่วนใหญ่, histamine-like substances โลหะหนักบางชนิด

2. ความรุนแรงปานกลาง (Moderate severity; Severe or Chronic)

อันตรายที่มีต่อผู้บริโภคอยู่ในระดับปานกลางทำให้อาหารเกิดไม่ปลอดภัย เช่น การเจ็บป่วยจาก *Salmonella*, *Shigella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Straptococcus typeA*, *Yersinia enterocolitica*, *Hepatitis A virus*, *mycotoxin*, *ciguatera toxin* เป็นต้น

3. ความรุนแรงสูง (High severity; Life threatment )

อันตรายที่มีต่อผู้บริโภคอยู่ในระดับสูงทำให้อาหารเกิดไม่ปลอดภัย อาจทำให้เกิดอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ อันตรายจากเชื้อ *C. botulismum*, *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli: 0157*, *Vibrio cholerae*, *V. verimificus* และ สารพิษต่างๆ อาทิเช่น Paralytic shellfish poisoning, Amnesic shellfish poisoning เป็นต้น

ความเสี่ยงและความรุนแรงนี้มีความแตกต่างกันน้อย ดังนี้

ความเสี่ยง (Risk)	: High	- มีความเป็นไปได้ที่เกิดสูง
	Medium	- อาจเกิดขึ้น
	Low	- ไม่น่าจะเกิดขึ้น
	Negligible	- ไม่เกิดขึ้นแน่นอน
ความรุนแรง (Severity)	: Critical	- มีผลทำให้สินค้าไม่ปลอดภัยมาก
	Serious	- มีผลทำให้สินค้าไม่ปลอดภัย
	Major	- อาจมีผลไม่ปลอดภัย
	Minor	- ไม่น่าจะมีผลไม่ปลอดภัย

### 2.5.7 ขั้นตอนที่ 7 การหาจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

การตัดสินใจว่าขั้นตอนใดในกระบวนการผลิตเป็นขั้นตอนสำคัญ หรือเป็นจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม เพื่อป้องกันหรือลดอันตรายที่มีต่อความปลอดภัยของสินค้า หรือลดอันตรายดังกล่าวจนถึงระดับที่ยอมรับได้ จุดวิกฤตนี้หมายถึงสิ่งที่มีผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคเท่านั้น โรงงานแต่ละแห่งแม้ว่าจะผลิตสินค้าชนิดเดียวกันก็ไม่มีความจำเป็นที่ต้องมีจุดวิกฤตเหมือนกัน เนื่องจากการมีผังโรงงาน เครื่องมือ การเลือกใช้วัตถุดิบ และส่วนผสมที่แตกต่างกัน จุดวิกฤตที่ต้องควบคุม สามารถจะดำเนินการได้โดยการตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญหรือการใช้หลักการของ decision tree ซึ่งเป็นคำถาม 4 คำถาม, ที่ระบุผลตามลำดับความเหมาะสม การใช้หลักการตาม decision tree ต้องมีความยืดหยุ่นและสามารถใช้ได้กับทุกขั้นตอนในวงจรการผลิต และทุกประเภทอุตสาหกรรมอาหาร และยังสามารถใช้ได้กับอันตรายทั้ง 3 ประเภท โดยไม่มีการจำกัดจำนวนจุดวิกฤต ข้อดีของการใช้ผังการตัดสินใจ decision tree คือ ทำให้คณะทำงานลำดับความคิดอย่างมีขั้นตอนและคณะทำงานทุกคนได้มีส่วนร่วมในการกำหนดจุด CCP รวมทั้งมีการบันทึกเป็นเอกสารที่ชัดเจน สามารถตรวจสอบได้ทั้งหน่วยงานภายในและภายนอก ในการกำหนดให้จุดใด ๆ เป็นจุด CCP นั้น จะต้องสามารถอธิบายได้ด้วยเหตุผลที่มีพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์

### 2.5.8 ขั้นตอนที่ 8 การกำหนดค่าวิกฤต

ค่าวิกฤต คือ ค่าที่ใช้เป็นเกณฑ์แยกแยะระหว่างการยอมรับได้และยอมรับไม่ได้ทางด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เป็นค่าที่ใช้ตัดสินการควบคุมการผลิต ณ จุด CCP นั้นๆ ว่าสามารถ ขจัดลด หรือ ป้องกันอันตรายจนถึงระดับที่ยอมรับได้ และสามารถผลิตสินค้าที่ปลอดภัยได้หรือไม่ ค่าวิกฤตที่กำหนดจะต้องสามารถควบคุมอันตรายที่ระบุได้อย่างมีประสิทธิภาพ จุด CCP หนึ่งๆ อาจมีค่าวิกฤตเพียงค่าเดียวหรือหลายค่าก็ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อความปลอดภัยของสินค้า ในขั้นตอนที่เป็น CCP นั้นๆ ดังนั้นการที่จะกำหนดค่าวิกฤตให้ถูกต้องได้ คณะทำงานจะต้องระบุปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับ CCP นั้นๆ ก่อนแล้วจึงตั้งค่าวิกฤตสำหรับแต่ละปัจจัยนั้นๆ เกณฑ์ที่มักใช้ กำหนดเป็นค่าวิกฤต ได้แก่ อุณหภูมิ เวลา ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าออกเตอร่าแอกติวิตี ( $a_w$ ) ความเป็นกรด (Acidity) ชนิดและปริมาณของสารกันบูด (Preservative) ความเข้มข้นของเกลือ ความหนืด (Viscosity) และ ปริมาณคลอรีนที่ใช้ เป็นต้น

ค่าวิกฤตที่กำหนดขึ้นควรเป็นค่าที่สามารถตรวจวัดได้ หรืออ่านค่าได้ผลอย่างรวดเร็ว ควรหลีกเลี่ยงการตั้งค่าวิกฤตทางจุลชีวะ เช่น การกำหนดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ต้องใช้เวลาานาน ทำให้ไม่สะดวกต่อการแก้ไขปัญหาได้ทันทั่วทั้งและต้องเสียเวลาผลการตรวจวิเคราะห์ทำให้แผนการผลิตต้องล่าช้า จึงอาจทำการกำหนดผลของจุลินทรีย์ในทางอ้อมหากจำเป็น เช่น กำหนดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบแทน ในการกำหนดค่าวิกฤตนั้น ควรคำนึงถึงความง่ายและสะดวกต่อการตรวจติดตามด้วยและควรเป็นค่าที่ทำให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถ

ทราบข้อมูลของการควบคุมกระบวนการผลิตอย่างรวดเร็ว เพื่อสะดวกต่อการแก้ไขให้ทันเมื่อเกิดการเบี่ยงเบน

### 2.5.9 ขั้นตอนที่ 9 การกำหนดการตรวจติดตาม

การตรวจติดตาม หมายถึง การดำเนินกิจกรรมตามลำดับของแผนที่ได้จัดทำไว้เพื่อสังเกตหรือตรวจวัดค่าต่างๆ ที่ต้องควบคุมหรือค่าวิกฤต เพื่อประเมินว่าจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมนั้นๆ อยู่ภายใต้สภาวะการควบคุม การตรวจติดตามเป็นการมอบหมายให้มีผู้รับผิดชอบตรวจสอบตรวจวัดค่าโดยการใช้เครื่องมือที่เหมาะสม หรือใช้ความชำนาญประสบการณ์ของประสาทสัมผัส เช่น การดมกลิ่น การสังเกตโดยสายตาและการบันทึกผลไว้ในแบบฟอร์มที่กำหนดตามช่วงเวลาที่เหมาะสม

วัตถุประสงค์ของการตรวจสอบ

- 1) ใช้ตรวจสอบว่ากรรมวิธีการผลิตในขั้นตอนที่เป็นจุดวิกฤต ว่าอยู่ในสภาวะปกติหรือกำลังจะสูญเสียการควบคุมหรือไม่
- 2) ใช้ตัดสินใจจำเป็นต้องดำเนินการแก้ไข เมื่อพบสิ่งผิดปกติหรือเกิดการเบี่ยงเบนจากค่าวิกฤตที่กำหนด
- 3) เพื่อลดการสูญเสียผลิตภัณฑ์เนื่องจากการควบคุมเกิดการเบี่ยงเบนจากค่าวิกฤต
- 4) ทำให้ได้เอกสารการบันทึกข้อมูลจากการเฝ้าระวัง เพื่อใช้ในการทวนสอบประสิทธิผลของระบบ

ขั้นตอนการตรวจติดตามจะประกอบขึ้นด้วยการกำหนดแผนการตรวจติดตามโดยแผนการตรวจติดตามจะครอบคลุมถึง

- อะไรที่จะทำการตรวจติดตาม (what)
- วิธีการติดตาม ค่าวิกฤตและมาตรการควบคุม (How)
- ความถี่ของการตรวจติดตาม (When)
- ผู้ตรวจติดตาม (Who)

ผู้ที่ได้รับมอบหมายให้ทำหน้าที่ในการตรวจติดตามและบันทึก ควรเป็นผู้ที่ผ่านการฝึกอบรมให้เข้าใจ วิธีการตรวจ ความสำคัญของข้อมูลที่ทำกรบันทึก เป็นผู้ที่มีความตั้งใจให้ความร่วมมือในการบันทึกข้อมูล อย่างถูกต้องไม่บิดเบือน มีความรับผิดชอบและรายงานผู้ที่เกี่ยวข้องทราบทันทีที่พบเหตุผิดปกติ เพื่อลดความเสี่ยงของการที่จะต้องสูญเสียผลิตภัณฑ์ไปหากเกิดการเบี่ยงเบนจากค่าวิกฤต ในการตรวจติดตามที่ดีโรงงานควรติดตามค่าปฏิบัติงาน (operation limits) ซึ่งเข้มงวดกว่าค่าวิกฤตและเมื่อเห็นแนวโน้มว่าจะมีการสูญเสียการควบคุม ผู้ปฏิบัติงานจะได้มีเวลาในการปรับเปลี่ยนกระบวนการผลิตได้ทันทั่วทั้งก่อนที่จะเบี่ยงเบนจากค่าวิกฤต ซึ่งถือว่าเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

### 2.5.10 ขั้นตอนที่ 10 การกำหนดวิธีการแก้ไข

แม้ว่าในแผน HACCP จะมีการกำหนดค่าวิกฤตและการตรวจติดตามระยะเวลาที่กำหนดไว้แล้วก็ตาม แต่ในกระบวนการผลิตในแต่ละวันย่อมมีโอกาสที่จะเกิดการสูญเสียการควบคุมอันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น ความขัดข้องทางไฟฟ้า ความขัดข้องของเครื่องจักรอุปกรณ์ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องกำหนดมาตรการการแก้ไขไว้ล่วงหน้าสำหรับแต่ละขั้นตอนที่เป็น CCP เมื่อจุด CCP จุดใดจุดหนึ่งเกิดการเบี่ยงเบนไปจากค่าวิกฤตแล้วจะต้องทำอย่างไร มาตรการแก้ไขนี้ต้องกำหนดไว้สำหรับทั้งแนวทางการแก้ไขตัวผลิตภัณฑ์และแนวทางการแก้ไขสายการผลิต พร้อมทั้งระบุผู้ที่จะทำหน้าที่แก้ไขเพื่อให้ผู้รับผิดชอบได้ทราบถึงแนวทางปฏิบัติเมื่อเกิดปัญหา เพื่อช่วยให้การปฏิบัติงานเข้าสู่ปกติหรือเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดอีกครั้ง ข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการแก้ไข เมื่อเกิดสิ่งผิดปกติหรือนอกเหนือไปจากเกณฑ์ที่กำหนดแต่ละครั้ง จะต้องมีการบันทึกไว้เพื่อเป็นประโยชน์ในการตรวจสอบต่อไป

แนวทางการกำหนดการแก้ไขสำหรับผลิตภัณฑ์ (Product) ได้แก่

- การกักผลิตภัณฑ์ที่มีปัญหา (Hold product)
- การทำ / ผลิตใหม่ (Rework / Reprocess)
- การทำลายสินค้า (Destroy)
- การปฏิเสธการรับ (Reject)
- เป็นต้น

แนวทางการกำหนดการแก้ไขสำหรับสายการผลิต (line) ได้แก่

- แจ้งฝ่ายจัดซื้อเพื่อการติดต่อ Supplier
- ปรับกระบวนการผลิต
- หยุดสายการผลิต แจ้งฝ่ายซ่อมบำรุงเพื่อตรวจสอบและแก้ไข
- ดักเตือนพนักงานในสายงานการผลิต
- ฝึกอบรมพนักงานใหม่
- เป็นต้น

### 2.5.11 ขั้นตอนที่ 11 การกำหนดวิธีการทวนสอบ

การทวนสอบ หมายถึง การใช้วิธีทำ วิธีปฏิบัติงาน การทดสอบและการประเมินผลต่างๆ เพิ่มเติมจากการตรวจติดตามเพื่อตัดสินใจสอดคล้องกับแผน HACCP

ระบบ HACCP ที่ผ่านการจัดเตรียมมาอย่างถูกต้อง ไม่ได้เป็นเครื่องประกันว่าจะมีประสิทธิผลจากการประยุกต์ใช้แล้วได้ผลดี การทวนสอบเป็นเครื่องมือที่ใช้ประเมินประสิทธิผลและการปฏิบัติตามแผน HACCP เพื่อยืนยันว่าการปฏิบัติการควบคุมตามมาตรการต่างๆ ที่ระบุไว้ในแผน

อย่างครบถ้วนถูกต้องตามรายละเอียดทุกประการ การทวนสอบตามปกติในแต่ละจุดวิกฤตเป็นเพียงส่วนหนึ่งของระบบการทวนสอบ

กิจกรรมการทวนสอบ แบ่งเป็น

1) การทวนสอบความถูกต้องของแผนระบบ

การทวนสอบแผนการ HACCP เป็นการประเมินว่ามีการจัดทำแผน HACCP สำหรับผลิตภัณฑ์โดยมีการระบุและควบคุมอันตรายหรือลดปริมาณอันตรายถึงจุดที่ยอมรับได้ การตรวจสอบนี้เป็นการตรวจสอบโดยอาศัยหลักการด้านวิทยาศาสตร์

2) การตรวจประเมินระบบ

3) การสุ่มตัวอย่างและการทดสอบ

การสุ่มตัวอย่างและการทวนสอบเป็นส่วนหนึ่งของการทวนสอบ โดยต้องมีการทำเป็นช่วงระยะเพื่อสร้างความมั่นใจ ค่าวิกฤตที่กำหนดมีความเหมาะสมและยังสามารถใช้เพื่อตรวจสอบความสามารถของผู้จัดส่งว่าสามารถส่งวัตถุดิบได้ตามข้อกำหนดที่ต้องการหรือไม่

2.5.12 ขั้นตอนที่ 12 การกำหนดวิธีจัดทำเอกสารและการจัดเก็บบันทึกข้อมูล

เอกสารต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบ HACCP ควรจะได้มีระบบการจัดทำและการจัดเก็บเอกสาร โดยการกำหนดอำนาจหน้าที่ผู้จัดทำเอกสารที่ใช้ในระบบ HACCP เอกสารที่เกี่ยวข้อง แบ่งเป็น 2 หมวด คือ

1). HACCP Plan ซึ่งมีรายละเอียดเกี่ยวกับ

(1) รายชื่อผู้ร่วมกลุ่ม HACCP และหน้าที่ความรับผิดชอบของแต่ละบุคคล

(2) รายละเอียดคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์และวิธีการใช้งาน

(3) แผนกรรมวิธีการผลิตพร้อมทั้งระบุจุดวิกฤต

(4) อันตรายที่เกิดขึ้น ในแต่ละจุดวิกฤตพร้อมวิธีการป้องกัน

(5) การกำหนดเกณฑ์ที่จะทำการควบคุม

(6) การเฝ้าระวัง

(7) การแก้ไขปัญหาเมื่อเกิดการเบี่ยงเบนจากเกณฑ์ที่กำหนด

(8) วิธีการเก็บเอกสารกระบวนการสอบทวนระบบ HACCP ที่เกี่ยวข้องกับการติดตามตรวจสอบ CCP จะต้องลงนามโดยบุคคลที่มีหน้าที่ด้านนั้นเฉพาะ รวมทั้งลงนามโดยผู้มีหน้าที่รับผิดชอบของบริษัทควบคู่กันไปด้วย

2). ข้อมูลอื่นที่ต้องทำการเก็บบันทึก เช่น

(1) ข้อมูลเกี่ยวกับส่วนประกอบสินค้า ได้แก่ หนังสือรับรองคุณภาพสินค้าจากผู้จัดส่ง ที่เป็นไปตามข้อกำหนดที่ผู้ผลิตต้องการ ข้อมูลบันทึกการตรวจสอบสถานประกอบการของผู้จัดส่ง

อุณหภูมิการเก็บวัตถุดิบสำหรับวัตถุดิบที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงข้อมูลช่วงเวลาการเก็บวัตถุดิบที่มีอายุการเก็บจำกัด

(2) ข้อมูลเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของสินค้า ต้องบันทึกข้อมูลอย่างเพียงพอ และมีประสิทธิภาพในการคงสภาพสินค้าให้มีความปลอดภัย เช่น ระบุช่วงอายุสินค้าว่าอยู่ในช่วงที่ปลอดภัย โดยเฉพาะเมื่ออายุของสินค้ามีผลต่อความปลอดภัย กำหนดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ ข้อมูลการรับรองกระบวนการผลิตจากหน่วยงานที่มีอำนาจรับผิดชอบ

(3) ข้อมูลที่เกี่ยวกับวิธีการผลิต ได้แก่ ข้อมูลการตรวจและเฝ้าระวังในแต่ละจุดวิกฤต และข้อมูลการสอบทวนของกระบวนการผลิตอย่างต่อเนื่อง

(4) ข้อมูลเกี่ยวกับวัสดุหีบห่อ ได้แก่ ข้อมูลเกี่ยวกับวัสดุหีบห่อและวัสดุที่ใช้ในการปิดผนึกที่เป็นไปตามข้อกำหนดและเป็นไปตามกฎหมาย

(5) ข้อมูลการเก็บรักษาและการขนส่ง ได้แก่ อุณหภูมิของการเก็บและการขนส่งมีข้อมูลที่พิสูจน์ได้ว่าไม่มีการส่งสินค้าที่หมดอายุออกสู่ตลาด

(6) ข้อมูลการเบี่ยงเบนจากเกณฑ์กำหนดและแก้ไขแผน HACCP ที่มีการปรับเปลี่ยน หรือมีการพัฒนา จะชี้ให้เห็นการเปลี่ยนสูตร ส่วนประกอบ กระบวนการผลิต ภาชนะบรรจุ การควบคุมกระจายของสินค้า

(7) ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงการใช้วัตถุดิบ การปรับสูตรหรือกระบวนการผลิต การเปลี่ยนภาชนะบรรจุและการควบคุมการขนส่ง

(8) ข้อมูลเกี่ยวกับการฝึกอบรมพนักงาน การฝึกอบรมของบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการจัดทำระบบ HACCP ในเรื่องหลักการของระบบ HACCP รวมถึงการฝึกอบรมเจ้าหน้าที่ที่มีภาระหน้าที่ ตามที่ได้รับมอบหมายต่างๆ

## 2.6. คุณลักษณะและมาตรฐานของซอสหอยนางรม

### 2.6.1 ผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 1317, 2538)

ซอสหอยนางรม หมายถึง เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสอาหารชนิดหนึ่ง ลักษณะชั้นประกอบด้วยเนื้อซอสหอยนางรม หรือน้ำสกัดซอสหอยนางรม หรือส่วนที่ได้จากการย่อยสลายซอสหอยนางรมด้วยกรดหรือเอนไซม์อย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมกัน เป็นส่วนประกอบสำคัญ และมีส่วนประกอบอื่นรวมทั้งเครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสผสมอยู่ด้วย บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดให้สนิท

ส่วนประกอบหลัก ประกอบด้วย เนื้อซอสหอยนางรม หรือน้ำสกัดซอสหอยนางรม หรือส่วนที่ได้จากการย่อยสลายซอสหอยนางรม เกลือ น้ำตาล แป้ง เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้งคัดแปร ส่วนประกอบอื่นๆที่อาจมีได้ เช่น โปรตีนสกัดจากพืช เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรส เช่น น้ำปลา น้ำซีอิ้ว น้ำซอสปรุงรส

### คุณลักษณะที่ต้องการ

- มีลักษณะขุ่นหนืด ต้องไม่เกิน 18000 เซนติปัวส์ (centipoises)
- มีสีดำเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัว รสชาติเค็ม หวานเล็กน้อย การตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนคะแนนรวมเฉลี่ยของผู้ตรวจสอบทั้งหมดในแต่ละลักษณะไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และต้องไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนนจากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง
- ลักษณะทางเคมี
  - ของแข็งทั้งหมด ร้อยละ ไม่น้อยกว่า 20 วิธีทดสอบ AOAC (1990)
  - เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ร้อยละ ไม่เกิน 13
  - ความเป็นกรด-ด่าง ไม่น้อยกว่า 4.4
- วัตถุกันเสีย อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือ ผสมกัน ไม่เกิน 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วัตถุกันเสียที่นิยมใช้กัน คือ กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก
- ห้ามใช้สีสังเคราะห์ และ สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทุกชนิด เช่น แอ็กคาริน ไชคลาเมต

ตารางที่ 2.1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน

สมบัติที่ตรวจสอบ	ระดับการตัดสิน	คะแนน
สี	สีน้ำตาล สม่ำเสมอดี	4
	สีน้ำตาล ก่อนข้างสม่ำเสมอ	3
	สีไม่สม่ำเสมอ	2
	สีผิดปกติจนไม่เป็นที่ยอมรับ หรือมีสิ่งผิดปกติเห็นเป็นก้อนหรือเม็ดปนอยู่	1
กลิ่น	มีกลิ่นเฉพาะของซอสหอยนางรม ชัดเจน	4
	มีกลิ่นเฉพาะของซอสหอยนางรม ปานกลาง	3
	มีกลิ่นผิดปกติเล็กน้อย แต่ยังเป็นที่ยอมรับ	2
	กลิ่นผิดปกติจนไม่เป็นที่ยอมรับ เช่น กลิ่นหืน เหม็นเปรี้ยวหรือบูคหน้า	1
รส	รสกลมกล่อมดีมาก	4
	รสกลมกล่อมดี	3
	รสไม่กลมกล่อม	2
	รสผิดปกติจนไม่เป็นที่ยอมรับ เช่น รสเปรี้ยว	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

สมบัติที่ตรวจสอบ	ระดับการตัดสิน	คะแนน
ลักษณะปรากฏ	มีเนื้อเนียนและเป็นเนื้อเดียวกันสม่ำเสมอ ไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน ในกรณีที่มีส่วนประกอบที่ไม่ละลายอยู่ด้วย ส่วนนั้นมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ	4
	มีเนื้อเนียนและเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างสม่ำเสมอ ไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน ในกรณีที่มีส่วนประกอบที่ไม่ละลายอยู่ด้วย ส่วนนั้นมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ	3
	เนื้อไม่เนียนหรือไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน ในกรณีที่มีส่วนประกอบที่ไม่ละลายอยู่ด้วย ส่วนนั้นมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ	2
	เนื้อไม่เนียนหรือไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มีการแยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน ในกรณีที่มีส่วนประกอบที่ไม่ละลายอยู่ด้วย ส่วนนั้นมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ	1

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 1317, 2538.

วัตถุปรุงแต่งเหล่านี้ ให้ใช้ได้ ในปริมาณที่เหมาะสมตามกรรมวิธีทำที่ถูกต้อง

1. โมโนโซเดียม แอล-กลูตาเมต โมโนไฮเดรต
2. ไดโซเดียม-5'-อินโนซิเนต (disodium-5'-inosinate) หรือ แคลเซียม-5'-อินโนซิเนต

(calcium-5'-inosinate)

3. ไดโซเดียม-5'-กัวนิเลต (disodium-5'-guanylate) หรือ แคลเซียม-5'-กัวนิเลต

(calcium-5'-guanylate)

- สารปนเปื้อนที่อาจมีได้ ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด

ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [AOAC (1990)] ข้อ 972.25

สารหนู ไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [AOAC (1990)] ข้อ 952.13

ปรอท ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [AOAC (1990)] ข้อ 971.21

- การบรรจุ ให้บรรจุในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และทนทานต่อการกัด

กร่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wong และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษา 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) ในซอส และซอสน้ำมันหอย และประเมินปริมาณการรับประทาน โดยการศึกษาได้กล่าวถึงสาร 3-MCPD ที่สามารถเกิดขึ้นได้จากองค์ประกอบของสารประกอบคลอรีน (chlorination) ที่มีในไขมัน เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูงกับโปรตีนที่มีในผัก (acid-hydrolyzed vegetable protein-acid-HPV) กำหนดไว้หรือรวมถึง acid-HVP ที่อาจจะมียู่ในการที่ใช้กรดสกัดโปรตีนในขณะที่ทำซอสถั่วเหลือง สาร 3-MCPD ได้มีการประกาศจาก European Commission's Scientific Committee for Food (European Commission, 1997) ได้กล่าวว่าสารนี้เป็นสารก่อมะเร็งและสหราชอาณาจักร ได้การแนะนำว่าควรมีการลดปริมาณของสาร 3-MCPD ในอาหารหรือส่วนผสมให้มีปริมาณต่ำกว่า 0.01 mg/kg (Food Advisory Commission, 2000) ในช่วงเดือนพฤษภาคม 2001, The European Commissions Scientific Committee for Food ได้ศึกษาพบว่า มนุษย์สามารถรับสาร 3-MCPD ได้ 2 ug/kg ต่อน้ำหนักตัว (Tolerable Daily Intake : TDI) ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับ The Provisional Maximum Tolerable Daily Intake (PMTDI) ที่ทาง the Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization Expert Committee on Food Additive in June 2001 (JECFA, 2002) ซึ่งได้มีการรายงานในช่วง มกราคม 2000 ถึง เมษายน 2002 ได้มีการตรวจติดตามอย่างต่อเนื่องของระดับสาร 3-MCPD ในซอสถั่วเหลืองและซอสหอยนางรม ก็ยังพบว่า สาร 3-MCPD ที่สามารถรับได้ ในระดับปริมาณ 2 ug/kg ของน้ำหนักตัว

#### 2.6.2 จุลินทรีย์ที่พบในซอสหอยนางรม

จากการสอบถามข้อมูลการวิเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ย้อนหลัง 3 ปี จาก วันที่ 12 พฤษภาคม 2549 ไม่พบปัญหาของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเกินมาตรฐานในซอสหอยนางรม การตรวจติดตามที่องค์การอาหารและยากำหนดไว้และใช้ค่าเหล่านี้ในการตรวจติดตามซอสหอยนางรม โดยเกณฑ์ควบคุมต้องมีความสอดคล้องตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200 พ.ศ. 2543 เรื่อง ซอสในภาชนะบรรจุปิดสนิท โดยมีการตรวจและเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ดังนี้

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงรายการวิเคราะห์และเกณฑ์ของซอสหอยนางรม

รายการ	เกณฑ์คุณภาพ*	วิธีวิเคราะห์
ค่า water activity	-	AOAC 978.18B(a)
จุลินทรีย์รวม/กรัม	น้อยกว่า $1 \times 10^6$	APHA. 201. Compendium.
จำนวนยีสต์และเชื้อรา/กรัม	ยีสต์ น้อยกว่า $1 \times 10^4$ รา น้อยกว่า 500	BAM online. 2001
MPN Coliform / กรัม	น้อยกว่า 500	APHA. 2001. Compendium.
MPN <i>E. coli</i> / กรัม	น้อยกว่า 3	APHA. 2001. Compendium.
เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ		
<i>S. aureus</i> / กรัม	น้อยกว่า 100	BAM online. 2001
<i>C. perfringens</i> / 0.01 กรัม	ไม่พบ	BAM online. 2001
Salmonellae/ 25 กรัม	ไม่พบ	ISO 6579:2002
<i>B. cereus</i> / กรัม	น้อยกว่า 100	BAM online. 2001

\*ที่มา : เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2535)

### 2.6.3. จุลินทรีย์กับการเสื่อมเสียในซอสหอยนางรม

ซอสต่างๆมักเสียเนื่องจากการเจริญของราและยีสต์เพราะมีความเป็นกรดสูง มีเกลือและน้ำตาลเป็นส่วนผสม ยีสต์ทำให้เกิดกระบวนการหมักให้ก๊าซ (สุมาลี, 2535)

Franciska และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษา *Cryptosporidium* และ *Giardia* ในทางการค้า (commercial) และไม่ใช่ทางการค้า (non-commercial) ในหอยนางรม (*Crassostres gigas*) และน้ำที่ได้จาก the Oysterhelde ในประเทศเนเธอร์แลนด์ จากการศึกษาพบว่าปรสิต *Cryptosporidium* และ *Giardia* เป็นเหตุให้เกิดแก๊สในลำไส้ของมนุษย์ และสามารถปนเปื้อนลงสู่ น้ำ นอกจากนี้ เชื้อที่ก่อโรคที่อาจพบในน้ำได้อีก เช่น *Salmonella*, *Vibrio*, *nerovirus* และ *Cryptosporidium* ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ และที่สำคัญในระบบห่วงโซ่อาหาร หอยนางรมมักถูกบริโภคจากสัตว์ทะเลต่างๆ ดังนั้น ปรสิตเหล่านี้จึงอยู่ในลำไส้ของหอย สาธารณสุขจึงแนะนำว่าไม่ควรทานหอยนางรมดิบๆเพราะอาจทำให้เกิดการก๊าสในระบบลำไส้ได้

#### 2.6.3.1 รา (Mould) (สุมาลี, 2541)

ราที่เจริญในอาหารจะมีลักษณะคล้ายฟูฝ้าย บางชนิดมีสีซึ่งทำให้อาหารมีลักษณะไม่น่ารับประทาน ราที่เกี่ยวข้องกับอาหารมีทั้งพวกที่ทำให้อาหารเสีย และพวกที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารบางชนิด เช่นเนยแข็งบางชนิดต้องใช้ราในการบ่มให้เกิดกลิ่นรสได้แก่ เนยแข็งชนิดต่างๆ (Blue, Roquefort, Camembert, Brie, Gammelost) และรายังมีประโยชน์ใน

การทำชีอิ้ว เต้าเจี้ยว ซอนติ (sonti) และอื่นๆ ราบางชนิดสร้างสารที่เป็นพิษออกมาในขณะที่เจริญอยู่ในอาหาร เช่น อะฟลาทอกซิน (aflatoxin)

### 1) ลักษณะทั่วไปของรา

คำว่า “รา” เป็นคำที่ใช้เรียกฟืนใจ (fungi) ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ เมื่อเจริญในอาหารจะเห็นมีลักษณะคล้ายปุยฝ้าย ส่วนใหญ่จะมีสีขาวแต่บางทีก็มีสีสด หรือมีสีหม่นๆ จนถึงดำได้ สีของสปอร์ จะแสดงถึงการเจริญเต็มที่ของราบางชนิด ซึ่งทำให้ราที่เจริญมีสีเพียงบางส่วนหรือทั้งหมด

### 2) ลักษณะการเจริญของรา (Cultural Characteristics)

ลักษณะของราที่ปรากฏเมื่อเจริญในอาหารมักเพียงพอในการแยกสกุลของรา โดยที่ราบางชนิดจะมีลักษณะการเกาะกันของไมซีเลียมเป็นแบบหลวมๆมองเห็นเป็นปุย แต่บางชนิดไมซีเลียมจะเกาะกันแน่น บางชนิดมีลักษณะคล้ายก้อนหนืดอ่อนนุ่ม ในขณะที่บางชนิดมีลักษณะคล้ายแป้งฝุ่น และบางชนิดเปียกและเหนียวคล้ายเจลลาติน ขนาดของโคโลนี (colony) ของราบางชนิดค่อนข้างจำกัด แต่บางชนิดเจริญขยายไปเรื่อยๆ จนเต็มภาชนะที่บรรจุอาหาร โคโลนีของราบางชนิดก็มีลักษณะเป็นวงๆ เช่น *Aspergillus niger* ไมซีเลียมของราอาจจะมีสี แดง ม่วง เหลือง น้ำตาล เทาดำ เป็นต้น เช่นเดียวกับสปอร์ชนิดไม่ใช่เพศจะมีสีเขียว เขียวแกมน้ำเงิน เหลือง ส้ม ชมพู ม่วง น้ำตาล เทาและดำ และลักษณะของราที่ปรากฏให้เห็นที่ก้นจานเพาะเชื้อก็จะแปรเปลี่ยนไปอีก เช่น *Cladosporium* จะมีสีน้ำเงินเกือบดำ และสีดำแกมเขียว

### 3) ลักษณะทางสรีรวิทยา (Physiological Characteristics) (สุมาลี, 2541)

ราต้องการปัจจัยหลายอย่างในการเจริญ ได้แก่

(1) ความชื้น ตามปกติราจะต้องการความชื้นน้อยกว่ายีสต์และแบคทีเรีย ถ้าความชื้นในอาหารต่ำกว่าร้อยละ 14 ถึง 15 เช่น ในแป้ง เมล็ดพืช และในอาหารแห้งต่างๆ จะสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญของราได้

(2) อุณหภูมิ ราวส่วนใหญ่จะเป็นพวกมีโซไฟล์ (mesophiles) คือเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางอุณหภูมิที่เหมาะสมจะประมาณ 25 ถึง 30°C แต่ราบางชนิดเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37°C หรือสูงกว่าเล็กน้อย เช่น *Aspergillus* sp. มีราส่วนหนึ่งที่เป็นพวกไซโครไฟล์ (psychrophiles) คือเจริญได้ดีค่อนข้างดีที่อุณหภูมิต่ำในตู้เย็น และบางชนิดสามารถเจริญได้อย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง เคยมีรายงานการเจริญของราที่อุณหภูมิต่ำ -5 ถึง -10°C มีราเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่เป็นพวกเทอร์โมไฟล์ (thermophiles) โดยต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมค่อนข้างสูง

(3) ออกซิเจนและพีเอช ว่าเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและสามารถเจริญได้ในช่วง พีเอชกว้าง คือ ตั้งแต่ 2 ถึง 8.5 แต่ส่วนใหญ่แล้วเราจะชอบพีเอชที่ค่อนข้างเป็นกรด

(4) อาหาร เราสามารถใช้อาหารได้หลายชนิดตั้งแต่อาหารที่มีองค์ประกอบง่ายๆ จนถึงซับซ้อน ราวทั่วไปมักจะมีเอนไซม์พวกไฮโดรไลติกหลายชนิดและบ้างก็มีเอนไซม์อะไมเลส เพกทิเนส และไลเปส

(5) สารยับยั้งการเจริญ จะมีการสร้างสารยับยั้งขึ้นในราบางชนิด เช่น เพนิซิลลิน (penicillin) จาก *Penicillium crysogenum* และ คลาเวซิน (clavacin) จาก *Aspergillus clavatus* อาจมีสารประกอบเคมีบางชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของราแบบไมโคสเทติก (mycostatic) ได้ เช่น กรดซอร์บิก (sorbic acid) เกลือโพรปิโอเนต (propionates) และอะซิเตต (acetates) เป็นต้น สารประกอบเคมีบางชนิดก็เป็นฟันไจไซด์ (fungicidal) ทำลายพวกเราได้

ในขณะที่เริ่มเจริญเราจะเจริญได้ช้าเมื่อเทียบกับการเจริญของแบคทีเรียหรือยีสต์ดังนั้นถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดแล้วรวมกันจะต้องพ่ายแพ้ในการแข่งขันการเจริญ แต่ถ้าเราเจริญได้แล้ว เราจะเจริญได้เร็วมาก

#### 4) ราที่มีความสำคัญในด้านอุตสาหกรรม (สุมาลี, 2541)

ราที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านอาหาร ซึ่งมีทั้งในแง่ที่เป็นประโยชน์ และในแง่ที่เป็นโทษ ในที่นี้จะขอกล่าวถึงพอสังเขป

##### 1. ราพวกนอนเซพเทต เป็นราที่มีความสำคัญทางอาหาร

###### 1.1 ชั้น Oomycetes: มีสปอร์ชนิดไซเพสเป็นแบบ โอโอสปอร์

###### 1.1.1 อันดับ Saprolegniales (ราน้ำ)

ก. สกุล *Saprolegnia* : *S. parasitica* เจริญบนตัวปลา สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์แรงเจียงและซูโอสปอร์ (zoospore)

###### 1.1.2 อันดับ Peronosporates

ก. สกุล *Pythium* บางชนิดทำให้ผักเน่า บางชนิดทำให้ราพืชเป็นโรค สร้างสปอร์แรงเจียงที่ให้กำเนิดซูโอสปอร์ 4 สปอร์

###### 1.2 ชั้น Zygomycetes สร้างสปอร์ชนิดอาศัยเพศ ที่เรียกว่า ไชโกสปอร์

###### 1.2.1 อันดับ Mucorales มีสปอร์แรงจิโอสปอร์ในสปอร์แรงเจียง

ก. สกุล *Mucor* ทำให้อาหารเสีย สปีชีส์ที่พบได้ทั่วไป คือ *M. racemosus*, *M. rouxii* ซึ่งนำไปเป็นตัวผลิตเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ในกระบวนการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล และยังมีการใช้ *Mucor* ในการบ่มเนยแข็งด้วย

ข. สกุล *Zygothynchus* เป็นราในดินที่มีลักษณะคล้าย *Mucor* มาก แตกต่างกันตรงที่ไชโกสปอร์ซีสเพนเซอร์มีขนาดไม่กัน และเกิดจากไฮฟาเส้นเดียวกัน

ก. สกุล *Rhizopus* ได้แก่ *R. nigricans* หรือที่เรียกว่าราขนมปัง เป็นราที่พบได้ทั่วไป และเป็นสาเหตุในการเสียของผัก ผลไม้ ขนมปัง และอื่นๆ

ลักษณะสำคัญของ *Rhizopus* คือ

- เป็นพวกนอนเซพเทด
- มีสโทลอน และไรซอยด์
- สปอร์แรงจีโอฟอร์เกิดขึ้นที่ข้อ (node) ซึ่งไรซอนด์ก็เกิดขึ้นที่นี้ด้วย
- สปอร์แรงเจียมมีขนาดใหญ่ มักมีสีดำ
- โคลัมเมลลาเป็นรูปครึ่งวงกลม และมีอะโปไฟซิส (apophysis) ซึ่งเป็นฐานของสปอร์แรงเจียมเป็นรูปถ้วย
- มีไมซีเลียมมากลักษณะฟูคล้ายปุยฝ้าย เจริญเต็มภาชนะที่บรรจ
- ไม่มีสปอร์แรงจีโอล

ง. สกุล *Absidia* ลักษณะคล้าย *Rhizopus* ยกเว้น สปอร์แรงจีโอฟอร์ที่เจริญจากปล้อง และสปอร์แรงเจียมมีขนาดเล็กรูปร่างคล้ายลูกแพร์

จ. สกุล *Thamnidium* ได้แก่ *T. elegans* เป็นพวกที่พบในเนื้อแช่เย็น ลักษณะที่สำคัญได้แก่

- เป็นพวกนอนเซพเทด
- มีสปอร์แรงจีโอฟอร์ที่มีสปอร์แรงเจียมขนาดใหญ่อยู่ที่ปลาย ส่วนด้านข้างใกล้ฐานของสปอร์แรงจีโอฟอร์จะมีกลุ่มของสปอร์แรงจีโอล ซึ่งมีสปอร์จำนวน 2-12 สปอร์

## 2. ราพวกเซพเทด (สุมาลี, 2541)

2.1 ชั้น Fungi Imperfecti: ไม่สร้างสปอร์ชนิดอาศัยเพศ มีราเพียงไม่กี่ชนิดที่พบในภายหลังว่ามีการสร้างสปอร์ชนิดอาศัยเพศ แต่เมื่อก้าวถึงระยะที่สร้างสปอร์ชนิดไม่อาศัยเพศมักนิยมคงไว้ในชั้นเดิม

2.1.1 อันดับ Moniliales โคนิดิโอฟอร์เกิดขึ้นได้ทุกบริเวณของไมซีเลียม

2.1.1.1 วงศ์ Moniliaceae ไมซีเลียมใสไม่มีสีหรือมีสีอ่อน

ก. สกุล *Aspergillus* ราพวกนี้พบได้ทั่วไปมักทำให้ อาหารเสียแต่บางชนิดก็มีประโยชน์ในการแปรรูปอาหาร ประกอบด้วยกลุ่มที่สำคัญหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ กลุ่ม *A. glaucus* มี สปีชีส์ที่สำคัญ คือ *A. repens* ซึ่งมักทำให้อาหารเสีย เจริญได้ดีในอาหารที่มีความชื้นต่ำ หรือมีความเข้มข้นของเกลือหรือน้ำตาลสูง โคนิเดียมของราบางชนิดในกลุ่มนี้มีสีเขียว เพอริทีเซีย (perithecia) ซึ่งภายในมีแอสโคที่มีแอสโคสปอร์อยู่จะมีสีเหลืองหรือสีแดง นักจุลชีววิทยาบางท่านจัดราพวกนี้ไว้ในชั้น Ascomycetes สกุล *Eurotium* เมื่อพบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

กลุ่ม *A. niger* ซึ่งมี *A. niger* เป็นสปีชีส์ที่สำคัญ แพร่กระจายอยู่ทั่วไปและมีความสำคัญทางอาหาร ส่วนที่สร้างสปอร์จะมีขนาดใหญ่ มีสีดำ น้ำตาลดำ หรือม่วงออกน้ำตาล โคนิเดียมมีวิหยาบขรุขระ มีสีเป็นแถบๆ มีบางสายพันธุ์สร้างสเคอโรเทียสเททาหรือเทอออคดำ มีการคัดพันธุ์ราพวกนี้นำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตกรดซิตริก กรดกลูโคนิก (gluconic acid) และเอนไซม์บางอย่าง

กลุ่ม *A. flavus-oryzae* มีความสำคัญในอาหารต่างประเทศบางชนิด และการผลิตเอนไซม์บริสุทธิ์ แต่ก็ยังมีหลายชนิดทำให้อาหารเสีย โคนิเดียมมีสีตั้งแต่สีเหลืองถึงเขียวและมีสเคอโรเทียสสีเข้ม ลักษณะที่สำคัญของ *Aspergillus* ได้แก่

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทตและแตกแขนง มักไม่มีสี ส่วนที่จมอยู่ในอาหารจะเป็นเวเจเตเททิฟ ไมซีเลียม ส่วนที่ชูขึ้นบนอากาศจะเป็นเพอร์โทลไมซีเลียม

- โคลอนีมีลักษณะเป็นโซน

- โคนิดิโอฟอร์อาจเป็นแบบเซพเทตหรือไม้ก็ได้เกิดขึ้นที่ฟุตเซล ซึ่งเป็นเซลล์พิเศษในไมซีเลียมที่มีขนาดใหญ่และผนังที่ปลายของโคนิดิโอฟอร์จะบวมเป็นถุงยึดติดกับสเทอริมาที่มีโคนิเดียมหลุดออกไป

- สเทอริมาทาหรือไฟอะลาซด์อาจเป็นแบบเดี่ยวๆ หรือ แบบประกอบก็ได้และมีสีหรือไม่มีก็ได้

- โคนิเดียมเกาะติดกันเป็นลูกโซ่มีสีเขียว น้ำตาล และดำ มากกว่าสีอื่นๆ

- บางสปีชีส์เจริญได้ดีที่ 37°ซ หรือสูงกว่านี้

ข. สกุล *Penicillium* เป็นอีกสกุลหนึ่งที่มีการแพร่กระจายทั่วไปและมีความสำคัญในด้านอาหาร แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่และกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม การแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่จัดตามการแตกแขนงของส่วนที่ติดกับสปอร์ว่ามีการแตกแขนงหรือไม่ แตกแขนงซ้อนกันอย่างไร และแขนงแต่ละข้างเท่ากันหรือไม่ มักจะพบว่าสปีชีส์ที่มีความสำคัญในอาหารจะเป็นพวกแตกแขนงซ้อนกันหลายชั้นและแต่ละข้างไม่เท่ากัน *P. expansum* เป็นสปีชีส์ที่มีส่วนที่ติดกับสปอร์เป็นแบบที่เรียกว่า โครีเมีย (coremia) คือ โคนิดิโอฟอร์เกาะกลุ่มรวมกันเป็นมัดมีโคนิเดียมสีน้ำตาลเงินเขียวทำให้ผลไม้เน่าและ *P. digitatum* ซึ่งมีโคนิเดียม สีเขียวจนถึงสีเขียวออกเหลือง เป็นสาเหตุที่ทำให้ผลไม้ตระกูลส้มเน่าและ *P. italicum* มี โคนิเดียม สีเขียวออกน้ำตาลเงิน ทำให้พืชตระกูลส้มเน่าและได้เหมือนกัน *P. camemberti* มีโคนิเดียมสีเทา มีประโยชน์ในการบ่มเนยแข็ง และ *P. ropueforti* ซึ่งมีโคนิเดียมสีเขียวกม่น้ำเงินก็ช่วยในการบ่มเนยแข็งเช่นกัน มีไม้ที่สปีชีส์ที่สร้างแอสโคไคที่มีแอสโคสปอร์ภายในคลิสโทธีเซีย (cleistothecia) และบางสปีชีส์ก็สร้างสเทอโรเทีย จึงมักทำให้เกิดปัญหาในอาหารกระป๋องที่เป็นกรด

ลักษณะที่สำคัญของ *Penicillium* คือ

- มีเซพเทดไมซีเลียซึ่งมีการแตกแขนงมักจะไม่มีการมีสี
- มีโคนิโคอิฟอร์เป็นแบบเซพเทดซูขึ้นสู่อากาศตั้งฉากกับอาหาร อาจจะแตกแขนงหรือไม่ก็ได้
- ส่วนที่ติดกับสปอร์มีลักษณะคล้ายแปรง ประกอบด้วยกลุ่มของสเทอริกมาทาหรือไฟอะลาซด์และสายของโคนิโคอิฟอร์ที่เกิดบนสเทอริกมาแต่ละอัน
- โคนิโคอิฟอร์ของบางสปีชีส์จะมีสีเขียวเมื่ออายุยังน้อย แต่พออายุมากขึ้นจะเป็นสีน้ำตาล

ก. สกุล *Trichothecium* ได้แก่ *T. roseum* เป็นราสีชมพูที่เกิดบนไม้ กระดาษ ผลไม้ เช่น แอปเปิล และผัก เช่น แตงต่างๆ รานี้มีลักษณะที่เด่น คือ มีโคนิโคอิฟอร์ที่มี 2 เซลเกาะกลุ่มกันอยู่ที่ปลายโคนิโคอิฟอร์ที่มีลักษณะเป็นท่อนตรงค่อนข้างสั้น ในจำนวน 2 เซลของโคนิโคอิฟอร์จะมีขนาดไม่เท่ากัน คือเซลล์ที่อยู่ติดกับโคนิโคอิฟอร์จะมีขนาดเล็กกว่าอีกเซลล์หนึ่ง

ง. สกุล *Geotrichum* ในสกุลนี้ได้รวมราที่มีลักษณะคล้ายยีสต์เอาไว้ บางสปีชีส์มีสีขาว เหลือง ส้ม หรือแดง การเจริญในตอนแรกมีลักษณะแข็ง แต่ตอนหลังจะอ่อนและมีสีครีม

จ. สกุล *Monilia* (*Neurospora*) *Neurospora* เป็นชื่อที่เรียกในระยะเวลาที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งนิยมเรียกกันมากกว่าชื่อ *Monilia* ที่ใช้เรียกในระยะสร้างสปอร์ชนิดไม่อาศัยเพศ *N. sitophila* เป็นสปีชีส์ที่สำคัญที่สุดในอาหาร บางครั้งเรียกกันว่า ราขนมปังแดง (red bread mold) เนื่องจากมีสีชมพูเจริญในขนมปัง หรืออาหารอื่นๆ ไม่ค่อยพบระยะที่สร้างแอสโคสปอร์

ลักษณะสำคัญของ *N. sitophila* คือ

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทด ซึ่งตอนหลังจะแตกออกเป็นเซลล์
- ไมซีเลียมเจริญขึ้นสู่อากาศมีลักษณะเป็นร่างแหหลวมๆ
- ไฮฟีที่ชูขึ้นสู่อากาศจะมีโคนิโคอิฟอร์รูปร่างกลมสีชมพู ส้ม แดง แตกแขนงออกไปมากมายให้เนื้อเป็นจุดขาวๆ

ลักษณะที่สำคัญของ *S. carnis* คือ

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทด ใส
- โคลอนีมียีสต์ครีม โดยตอนแรกจะมีลักษณะเปียกและเปลี่ยนเป็นผงคล้ายแป้งฝุ่นในตอนหลัง
- โคนิโคอิฟอร์มีขนาดเล็ก มีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ บางชนิดก็กลม เกิดที่ด้านข้างหรือที่ปลายของโคนิโคอิฟอร์ โคนิโคอิฟอร์มักอยู่เดี่ยวๆ แต่บางครั้งก็พบว่ามีเกาะกลุ่มเป็นกลุ่มเล็ก

ข. สกุล *Botrytis* มีเพียงสปีชีส์เดียวเท่านั้นที่มีความสำคัญทางอาหาร คือ *B. cinerea* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในองุ่น และอาจเจริญในอาหารอื่นๆ ได้

ลักษณะที่สำคัญของ *Botrytis* คือ

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทต มีสีอ่อน หรือสีฝุ่น
- โคนิไดโอฟอร์ยาวและแข็ง มีการแตกแขนงที่ปลายพร้อมกับมีกลุ่มของโคนิเดียมติดอยู่ที่ปลายสุด
- โคนิเดียมเป็นรูปไข่มีขนาดเล็ก
- สร้างสเคอโรเทียมที่มีสีเขียวยาวและจะเปลี่ยนเป็นสีดำในที่สุด

ข. สกุล *Cephalosporium* ได้แก่ *C. acemonium* เป็นสปีชีส์ที่พบได้เสมอ ลักษณะที่สำคัญของ *C. acemonium* คือ

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทต
- โคนิไดโอฟอร์เป็นแท่งตรงสั้น นอนเซพเทต เกิดได้จากทุกส่วนของเพอร์ไทลไฮฟี
- โคนิเดียมมักเป็นรูปยาว ไม่มีการเกิดที่ปลายของโคนิไดโอฟอร์ ซึ่งจะปล่อยของเหลวออกมาทำให้โคนิเดียมติดกันเป็นกลุ่มคล้ายลูกบอลขนาดเล็ก

ค. สกุล *Trichoderma* ได้แก่ *T. viride* เป็นสปีชีส์ที่พบได้ทั่วไป ราที่เต็มที่จะมีสีเขียวสดเนื่องจากโคนิเดียมที่มีสีเขียวถูกตรึงเข้าด้วยกัน จนคล้ายลูกบอลด้วยยางเหนียว และมีปุยของไฮฟีสีขาวช่วยคลุมไว้อีกทีหนึ่ง

ลักษณะที่สำคัญของรา *T. viride* นี้คือ

- ไมซีเลียมเป็นแบบเซพเทต
- โคนิไดโอฟอร์ซึ่งเป็นแบบเซพเทตแตกแขนง และแขนงอันสุดท้ายคือสเทอริกมาซึ่งอยู่ติดกับโคนิเดียมที่มีลักษณะเป็นรูปไข่สีเขียวสด และมีเมือกเหนียวยึดโคนิเดียมเข้าด้วยกันจนคล้ายลูกบอล

ง. สกุล *Scopulariopsis* ได้แก่ *S. brevicaulis* เป็นสปีชีส์ที่พบเสมอ ในสกุลนี้อาจจะสับสนกับ *Penicillium* ได้เพราะมีส่วนที่ยึดติดกับสปอร์คล้ายกันคือมีลักษณะคล้ายแปรง และสปอร์เรียงติดกันเป็นสายโซ่ แต่ที่แตกต่างกันคือโคนิเดียมของ *Scopulariopsis* ไม่เคยมีสีเขียว โคนิไดโอฟอร์อาจแตกแขนงหรือไม่ก็ได้และแขนงจะเป็นแบบง่ายๆ หรือซับซ้อนก็ได้ โคนิเดียมมักมีสีน้ำตาลออกเหลืองรูปคล้ายผลมะนาว มีผนังหนาและมีหนามที่ชี้ทางด้านเดียวกัน ส่วนด้านตรงข้ามจะเป็นวงหนา โคลอนีมีสีน้ำตาลลักษณะคล้ายปุยฝ้าย

ก. สกุล *Pullularia* มีโคนิเดียมรูปไข่ใส เกิดขึ้นที่ด้านข้างของไมซีเลียมใต้ทุกจุด ลักษณะคล้ายหน่อ โคลอนีมีสีอ่อนเป็นเมือกคล้ายยีสต์เมื่ออายุน้อย และจะเปลี่ยนเป็นสีคล้ำๆ เมื่ออายุมากขึ้น สปีชีส์ที่รู้จักกันทั่วไป คือ *P. pullulans*

2.1.1.2 วงศ์ Dematiaceae ไมซีเลียมมีสีเข้ม (ดำ น้ำตาล เทา หรือเขียวมะกอก) โคนิเดียมมักสีเข้มด้วย ทำให้เห็นกลุ่มของไมซีเลียมมีสีดำ แต่ถ้าดูจากไฮฟีแต่ละเส้นด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีสีเข้มไม่มากนัก

ก. สกุล *Cladosporium* มี *C. herbarum* เป็นสกุลที่สำคัญ ทำให้เกิดจุดสีดำบนอาหาร โคลอนีของ *C. herbarum* จะเจริญในวงแคบมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ มีสีเขียวมะกอกหรือสีเขียวแกมเทา และที่ด้านใต้ของโคลอนีจะมีสีดำแกมน้ำเงินจนถึงสีดำแกมเขียว

ลักษณะสำคัญ ได้แก่

- ไมซีเลียมมีสีเข้มและเป็นแบบเซพเทต
- ส่วนที่ติดกับสปอร์จะประกอบด้วยกลุ่มของโคนิเดียมสีเข้ม จับกลุ่มคล้ายต้นไม้ คล้ายกับ *Neurospora* แต่สีไม่เหมือนกัน
- โคนิเดียมเกิดจากการแตกหน่อมีรูปไข่สีเข้ม ซึ่งมีเพียงเซลล์เดียวเมื่ออายุน้อย และเมื่ออายุมากขึ้นอาจมี 2 เซลล์

ข. สกุล *Helminthosporium* มีหลายสปีชีส์ในสกุลนี้เป็นสาเหตุของโรคพืช แต่อาจจะเจริญแบบแซปโรไฟต์ (saprophyte) ในผักได้

ลักษณะสำคัญ ได้แก่

- ไมซีเลียมมีสีเข้ม เป็นแบบเซพเทต
- โคนิเดียมมีขนาดค่อนข้างยาว ประกอบด้วย 4-6 เซลล์ มีสีเข้ม เจริญแบบเดี่ยวๆหรือรวมกันเป็นช่อ บางครั้งช่อมีลักษณะคล้ายการเรียงตัวของกล้วยในหวี อยู่ที่ปลายของโคนิดิโอฟอร์ที่มีขนาดสั้น

ค. สกุล *Alternaria* ราในสกุลนี้มักทำให้อาหารเสีย เช่น *A. tenuis* และ *A. brassicae* ซึ่งพบได้ทั่วไป กลุ่มของไมซีเลียมมีสีเขียวแกมเทา แต่ไฮฟีมักจะไม่มีสีเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โคนิเดียมมีหลายเซลล์สีน้ำตาลอยู่ติดกันเป็นลูกโซ่บนโคนิดิโอฟอร์

ลักษณะสำคัญ ได้แก่

- ไมซีเลียเป็นแบบเซพเทตเป็นรูปมีสีเขียวแกมเทา
- โคนิเดียมมีขนาดใหญ่ เป็นรูปไข่มีหลายเซลล์ มีผนังกันเซลล์ตามขวางและตามยาว สีน้ำตาลแกมเขียว หรือน้ำตาลเข้ม

- โคนิดีโอฟอร์ยัดติดกับโคนิเดียที่เรียงตัวกันเป็นลูกโซ่ โดยด้านข้างของโคนิเดียจะชี้ทางไมซีเลียม และด้านตรงข้ามเป็นด้านแหลม โคนิดีโอฟอร์อาจแตกแขนงหรือไม่ก็ได้

ง. สกุล *Stemphylium* เป็นสกุลที่พบเสมอ โคนิเดียประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ แต่จำนวนน้อยกว่า *Alternaria* มีสีเข้ม และโคนิเดียมีลักษณะเป็นรูปไข่

ลักษณะสำคัญ ได้แก่

- ไมซีเลียเป็นแบบเชพเทด
- โคนิเดียมีรูปไข่ ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ มีผนังกันตามขวางและตามยาว มีสีเข้มมาก
- มีการรวมกลุ่มของโคนิเดียเป็นกลุ่มเล็ก ๆ อยู่บน โคนิดีโอฟอร์

2.1.1.3 วงศ์ *Tuberulariaceae* มีโคนิดีโอฟอร์สั้นรวมกันเป็นกลุ่ม

ก. ส. สกุล *Furarium* ราเนื้อมักเจริญในอาหารเสมอ มีลักษณะผันแปรได้ง่าย

ลักษณะสำคัญ ได้แก่ แม็กโครโคนิเดีย (macroconidia) ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ ซึ่งอาจมีสี่หรือไม่มีสีก็ได้ แต่ไม่เคยมีสีเข้ม และมีไมโครโคนิเดีย (microconidia) ที่ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว รูปร่างกลมอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่ติดกันเป็นลูกโซ่ พบได้เสมอ ถ้ามีการสร้างสปอร์ชนิดใช้เพศจะจัดไว้ในสกุล *Gibberella*

2.1.1.4 วงศ์ *Cryptococcaceae* เป็นราที่มีลักษณะคล้ายยีสต์หรือที่เรียกว่ายีสต์เทียม สืบพันธุ์ได้โดยการแตกหน่อ อาจมีไมซีเลียมหรือไม่ก็ได้ ได้แก่สกุล *Candida*, *Cryptococcus*

2.1.1.5 วงศ์ *Rhodotorulaceae* เป็นยีสต์เทียมไม่สร้างสปอร์ มีสีส้ม หรือแดง ได้แก่สกุล *Rhodotorula*

2.1.2 อันดับ *Melanconiales* โคนิดีโอฟอร์ไม่เป็นอิสระจะมีการรวมกลุ่ม และมีโครงสร้างคล้ายผนังมาปกคลุมโคนิดีโอฟอร์ทั้งหมด สกุลที่สำคัญทางอาหาร โดยเฉพาะผลไม้ ได้แก่ *Colletotrichum* และ *Geosporium* (ทำให้เกิดโรคแอนแทรักษ์โนสในพืช) และ *Pestalozia* (ทำให้เกิดโรคโคนเน่าในผัก และผลไม้)

2.1.3 อันดับ *Sphaeropsidales* โคนิเดียอยู่ในโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายคนโท เรียกว่า ปิกนินิเดีย (pycnidia)

ก. สกุล *Phoma* เป็นสาเหตุของโรคเน่าในต้นบีต มะเขือเทศ โคนิเดีย ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว และเกิดในปิกนินิเดียมสีเข้ม

ข. สกุล *Diplodia* ทำให้เกิดโรคเน่าโดยเฉพาะโคนต้นเน่า ในพืชผักและผลไม้ โคนิเดียมีสีประกอบด้วยเซลล์ 2 เซลล์

2.2 ชั้น *Ascomycetes* : สปอร์ชนิดอาศัยเพศคือ แอสโคสปอร์ บางสกุลของ *Ascomycetes* ได้อธิบายไว้แล้วในชั้น *Fungi Imperfici* เช่น *Neurospora*, *Eurotium*, และ *Gibberella* สกุลอื่นที่มีความสำคัญทางอาหารได้แก่

ก. สกุล *Endomyces* เป็นราที่มีลักษณะคล้ายยีสต์ สร้างไมซีเลียมและอาร์โธรสปอร์ บางสปีชีส์ทำให้เกิดโรคเน่าในผลไม้

ข. สกุล *Monascus* โคลินีของ *M. purpureus* จะบาง และแผ่ขยายไปได้ มีสีม่วงหรือสีม่วงแดง พบในผลิตภัณฑ์นมและในข้าวแดงของจีน (ang-khak)

ค. สกุล *Sclerotinia* บางสปีชีส์เป็นสาเหตุของโรคเน่าในผัก และผลไม้ เมื่ออยู่ในระยะการสร้างโคนิเดีย โคนิเดียมีรูปร่างคล้ายผลมะนาวอยู่ติดกันเป็นลูกโซ่ โดยมีจุกเป็นตัวยแยก

### 2.6.3.2 ยีสต์และราที่มีลักษณะคล้ายยีสต์ (Yeast and yeast like fungi) (สุมาลี, 2541)

ยีสต์เป็นฟืนใจที่อยู่ในแอสโคไมซีตที่ไม่มีการเจริญแบบเส้นสาย แต่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีรูปร่างๆเป็นรูปไข่หรือกลม ยีสต์มีทั้งประโยชน์และโทษในอาหาร กระบวนการหมักของยีสต์มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมของอาหารหลายอย่าง เช่นขนมปัง เบียร์ ไวน์ น้ำส้มสายชู เป็นต้น การผลิตเอนไซม์หรืออาหารหลายชนิดก็ได้จากการเจริญของยีสต์ ในทางตรงกันข้ามยีสต์จะเป็นโทษเนื่องจากเป็นตัวทำให้อาหารหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลีคอง น้ำผลไม้ น้ำเชื่อม เยลลี่ เนื้อสัตว์ ไวน์ และอื่นๆเสียหาย

#### 1) ลักษณะรูปร่างของยีสต์

ลักษณะรูปร่างของยีสต์ศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์มีรูปร่างกลมถึงรูปไข่ มะนาว ลูกแพร์ ทรงกระบอก สามเหลี่ยม หรือมีเซลล์เรียงกันเป็นเส้นสายคล้ายไมซีเลียม ยีสต์มีขนาดแตกต่างกัน โครงสร้างที่มองเห็น ได้แก่ผนังเซลล์ (cell wall) ไซโทพลาสซึม แวกิวโอล เม็ดไขมัน และเกล็ดอื่นๆ เช่น เมทาโครมาติกเกล็ด เม็ดไขขาว และเม็ดแป้ง ถ้าต้องการดูนิวเคลียสจะต้องใช้วิธีย้อมสีพิเศษ

## 2) ลักษณะการเจริญของยีสต์

การเจริญของยีสต์มักขึ้นบริเวณผิวหน้าของอาหารเหลวจะบอกได้ว่าเป็นออกซิเคทีฟหรือฟิล์มยีสต์ การสร้างรงควัตถุพวกคาโรทีนอยด์ในยีสต์ สกุล *Rhodotorula* จะเกิดจุดสีบนอาหารเป็นการแยกที่จะแยกลักษณะโคโลนีของยีสต์กับแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากกันด้วยตาเปล่าได้ จึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจดูเท่านั้น โคโลนีของยีสต์ที่มีอายุน้อยจะขึ้นมากหรือเป็นเมือกส่วนใหญ่จะมีสีขาว คริมและชมพู บางโคโลนีเมื่ออายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ในขณะที่บางโคโลนีจะเริ่มแห้งและขุ่น

## 3) ลักษณะทางสรีรวิทยา

ยีสต์ทั่วไปจะเจริญได้ดีในที่ที่มีความชื้นเพียงพอ แต่เนื่องจากยีสต์หลายชนิดสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงได้มากกว่าแบคทีเรียซึ่งอาจสรุปได้ว่ายีสต์มีความต้องการความชื้นน้อยกว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามยีสต์ต้องการความชื้นมากกว่าเรา อาจจำแนกยีสต์ได้เป็น 2 พวกตามความต้องการความชื้นของยีสต์ ได้แก่ พวกยีสต์ทั่วไปกับพวกออสโมฟิลิก (*osmophilic yeasts*) พวกยีสต์ทั่วไปต้องการความชื้นสูง พบว่ามี  $a_w$  ขั้นต่ำอยู่ระหว่าง 0.88 ถึง 0.94 เช่นยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ (*beer yeast*) ยีสต์จากนมชั้นหวาน และยีสต์ใช้ในการทำเบเกอรี่ (*baker's yeast*) จะต้องการ  $a_w$  ขั้นต่ำ 0.94, 0.90, และ 0.905 ตามลำดับ ในขณะที่ออสโมฟิลิกยีสต์เจริญอย่างช้าๆ ในน้ำเชื่อมที่ค่า  $a_w$  ต่ำตั้งแต่ 0.62 ถึง 0.65 แต่มีออสโมฟิลิกยีสต์บางชนิดจะหยุดการเจริญในเนื้อเค็มและน้ำเชื่อมที่มี  $a_w$  0.78 ยีสต์แต่ละชนิดจะมี  $a_w$  เฉพาะตัว

ยีสต์เจริญในช่วงอุณหภูมิเดียวกับรา ช่วงที่เหมาะสมอยู่ที่ 25-35°C และอุณหภูมิขั้นสูงที่เจริญได้คือ 35-47°C ยีสต์บางชนิดเจริญได้ที่ 0°C หรือต่ำกว่า ยีสต์เจริญได้ดีที่พีเอช 4-4.5 และเจริญได้ไม่ดีในอาหารที่เป็นด่าง การเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเป็นไปได้ดีมาก ในขณะที่พวกเฟอร์เมนเททีฟจะเจริญอย่างช้าๆในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน กลุ่มต่างๆของยีสต์ได้มีการแบ่งยีสต์ ออกเป็นกลุ่มๆ ได้แก่

(1) ฟิล์มยีสต์ ได้แก่ยีสต์ที่อยู่ในสกุล *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Debaryomyces*, และ *Trichosporon* ซึ่งเจริญบนผิวหน้าของอาหารที่เป็นกรด เช่น ผักดอง จะออกซิโดซ์กรดอินทรีย์ต่างๆ และลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทนกรด *Debaryomyces* ทนเกลือได้ดีจึงเจริญได้ในเนยแข็งที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 24 ฟิล์มยีสต์อาจผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลได้เล็กน้อยหรือไม่ได้เลย

(2) ยีสต์ที่มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว ได้แก่ *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Nadsonia*, และ *Kloeckera* ซึ่งจะเป็นตัวทำให้ไวน์มีกลิ่นรสไม่ดี มีแอลกอฮอล์ต่ำและมีกรดระเหย (*volatile acid*) สูง

(3) ออสโมฟิลิกยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces rouxii* และ *S. mellis* เจริญได้ดีในสภาวะแวก-

ลิ่มที่มีแรงดันออสโมซิสสูง เช่น ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล เกลือ หรือตัวถูกละลายอื่นๆสูง ทำให้ผลไม้แห้ง น้ำผลไม้เข้มข้น น้ำผึ้ง และอื่นๆเสียได้

(4) ยีสต์ทนเค็ม สามารถเจริญได้ในเนื้อเค็ม และปลาเค็ม ซีอิ๊ว และซอสอื่นๆ พวกฟิล์มยีสต์ที่ทนเค็มได้มากที่สุดจะอยู่ในสกุล *Debaryomyces* เช่นเดียวกับยีสต์ *Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis* sp., *Brettanomyces* sp. ก็สามารถเจริญในอาหารเค็มได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Saccharomyces rouxii* มีความสำคัญในการผลิตแอลกอฮอล์ และสารแต่งกลิ่นรสในอาหารเค็มด้วย

## 2.7. การเสียบของธัญพืชและผลิตภัณฑ์ (สุมาลี, 2541)

ปกติเมล็ดพืชและแป้งมักไม่ค่อยเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ถ้ามีการเตรียมและการเก็บรักษาไว้อย่างเหมาะสม เนื่องจากมีความชื้นต่ำเกินกว่าที่จุลินทรีย์จะเจริญได้ แต่ถ้าอาหารเหล่านี้มีความชื้นสูงขึ้นจนถึงระดับที่จุลินทรีย์เจริญได้ ก็จะเกิดการเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ การเพิ่มความชื้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเราก็สามารถเจริญได้ และถ้าความชื้นเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยยีสต์และแบคทีเรียก็สามารถเจริญได้ เมล็ดพืชและแป้งจะประกอบด้วยแป้ง (starch) น้ำตาลบางชนิด และสารประกอบไนโตรเจนต่างๆ เกลือแร่ และสารช่วยในการเจริญอยู่ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นอาหารของจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้เอนไซม์อะไมเลสในเมล็ดพืชเมื่อมีความชื้นก็เริ่มจะทำงาน ทำให้มีน้ำตาลมากขึ้น และเอนไซม์โปรตีนสลายย่อยโปรตีนทำให้ได้สารประกอบไนโตรเจนมากขึ้น ภาวะเจริญขึ้นที่บริเวณผิวของอาหารซึ่งจะมีออกซิเจนแทรกซึมเข้าไปได้

ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเสียบของเมล็ดพืชที่เก็บไว้โดยการกระทำของราต่างๆ ได้แก่

- 1) จำนวนราที่ปนเปื้อนอยู่
- 2) ระดับความชื้นที่สูงกว่าร้อยละ 12 ถึง 13
- 3) ความเสียหายทางกายภาพ และ
- 4) อุณหภูมิ ราหลายชนิดอาจเป็นสาเหตุของการเสียได้

แต่ส่วนมากจะเป็นราในสกุล *Aspergillus* *Penicillium* และ *Fusarium* ราพวกนี้สามารถสร้างสารพิษขึ้นได้ ดังนั้น การเสียบของเมล็ดพืชเนื่องจากราจึงเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์

แป้งชนิดละเอียด การทำความสะอาดเมล็ดพืชก่อนนำไปโม่หรือบดเป็นแป้งนั้น จะช่วยลดปริมาณของจุลินทรีย์ลง แต่ถ้าการผลิตแป้งยังไม่ได้มาตรฐานเพียงพอจะทำให้แป้งเกิดการเสียได้ เช่นเดียวกับการเสียบของเมล็ด

แป้งสาลีขาวซึ่งจะถูกฟอกสีโดยการใช้สารบางอย่าง เช่นออกไซด์ของไนโตรเจน คลอรีน ไนโตรซิลคลอไรด์ (nitrosylchloride) หรือเบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ (benzoylperoxide) กรรมวิธีในการฟอกสีจะทำให้จุลินทรีย์ลดจำนวนลง ถ้าแป้งมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 13 จะป้องกันการเจริญของ

จุลินทรีย์ได้ดี จากการศึกษาพบว่า ความชื้นในแป้งถั่วมีร้อยละ 15 ว่าจะเจริญได้ดี ในขณะที่ความชื้นร้อยละ 17 จะช่วยให้ทั้งราและแบคทีเรียเจริญได้ ดังนั้น ถ้าแป้งมีความชื้นเพียงเล็กน้อยจึงมักเสียเนื่องจากรา การเสียของแป้งอาจเกิดขึ้นได้หลายแบบ เช่น ถ้ามีแบคทีเรียที่สร้างกรดปนเปื้อนมากก็จะเกิดกระบวนการหมักได้กรดออกมาและตามด้วยกระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยการกระทำของยีสต์ถ้ามียีสต์อยู่ด้วย หรือถ้ามีแบคทีเรียพวก Acetobacter ก็จะมีการผลิตกรดอะซิติกจากแอลกอฮอล์อีกทีหนึ่ง กระบวนการต่างๆที่กล่าวถึงนี้มักจะเกิดกับแป้งใหม่มากกว่าแป้งเก่า เพราะจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในแป้งเก่าจะลดลงในการเก็บรักษา ถ้าไม่มีแล็กติกแอซิดแบคทีเรียและโคลิฟอร์มแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ จะพบว่า micrococci จะทำให้แป้งเปรี้ยวโดยการสร้างกรดขึ้น หรือถ้าไม่มี micrococci, Bacillus สปีชีส์ ต่างๆก็อาจเจริญได้ซึ่งจะให้กรดแล็กติก ก๊าซแอลกอฮอล์ acetoin และเอสเทอร์กับสารประกอบพวกอะโรมาติก (aromatic compounds) จึงทำให้เกิดกลิ่นกรดอะซิติก

## 2.8 สารกันบูดในอุตสาหกรรมอาหาร (ไพบูลย์, 2532)

ในระยะเริ่มต้น วิธีการเก็บรักษาอาหารจะครอบคลุมการทำแห้ง จากการศึกษาประวัติศาสตร์พบว่า อาหารที่ใช้ถนอมส่วนใหญ่เป็นธัญพืชและแป้ง นอกจากนี้ยังเป็นพวกปลา เนื้อเค็ม หรือเนื้อหมัก ต่อมากรรมวิธีการถนอมอาหาร ได้ขยายออกไปโดยการใช้แอลกอฮอล์ การรมควัน การใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคตริก เป็นต้น

วิธีการถนอมอาหารได้เปลี่ยนไปพร้อมๆกับการเริ่มต้นอุตสาหกรรม ความต้องการในการเก็บรักษาอาหารเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมนุษย์ก็เริ่มมีความพิถีพิถันในการเก็บรักษาอาหารมากขึ้น จึงทำให้มีการพัฒนาการใช้สารกันบูด องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ให้ความหมายของสารกันบูดว่า สารเคมีใดๆ เมื่อเติมในอาหารแล้วจะสามารถป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสีย ซึ่งไม่รวมถึงเกลือทั่วไป น้ำตาล น้ำส้มสายชู เครื่องเทศ หรือน้ำมันเครื่องเทศ สารที่เติมในอาหารซึ่งได้จากการสัมผัสโดยตรงกับควันของไม้ หรือสารจำพวกที่มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง (FDA, 1979) จากคำนิยามนี้สารกันบูดจึงรวมถึงวัตถุกันหืน สารที่ช่วยรักษาสีและกลิ่นรส สารที่ช่วยทำให้สารอาหารมีความคงตัว และสารที่มีปฏิกริยากับจุลินทรีย์เท่านั้น

ไม่มีสารกันบูดตัวไหนที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรียได้อย่างเท่าเทียมกัน โดยทั่วไปสารกันบูดที่มีความสามารถทำลายเชื้อรา และ ยีสต์ และมีสารกันบูดอีกจำนวนหนึ่งที่จะไม่มีผลในการทำลายเชื้อแบคทีเรียเลย ทั้งนี้เพราะว่าสารกันบูดดังกล่าวไม่มีฤทธิ์ที่ค่าพีเอชเป็นกลาง ตารางที่ 3 แสดงให้เห็นถึงชนิดสารกันบูดที่มีผลต่อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

จุลินทรีย์บางตัว สามารถพัฒนาให้มีความต้านทาน สารกันบูดในระยะเวลาหนึ่ง การสร้างความต้านทานของจุลินทรีย์ต่อสารกันบูด จะทำให้เกิดการสูญเสียในแง่เศรษฐกิจและสุขภาพของผู้บริโภค ฉะนั้นต้องศึกษาถึงชนิดของจุลินทรีย์และความเข้มข้นของสารกันบูดที่ใช้ แต่อย่างไรก็

ตาม จุลินทรีย์ที่มีความต้านทานต่อสารชนิดหนึ่งจะมีความไวและการถูกทำลายได้ง่าย ด้วยสารกันบูดอีกชนิดหนึ่ง

### 2.8.1 การใช้สารกันบูดร่วมกับสารตัวอื่น

ในทางการแพทย์ได้มีการนำสารต่างๆ มาผสมกันเพื่อทำให้ประสิทธิภาพดีขึ้น และมีปฏิกิริยา กว้างขวางขึ้น ฉะนั้นในอุตสาหกรรมจึงได้นำสารชนิดต่างๆ มาผสมกัน โดยมีวัตถุประสงค์

2.8.1.1 ทำให้สารกันบูดมีขอบเขตการทำลายกว้างขวางมากขึ้น จากที่ได้กล่าวไว้ว่าไม่มี สารกันบูดใดที่จะมีผลการทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดได้ ฉะนั้นเพื่อแก้จุดอ่อนดังกล่าว จึงได้มีการนำ สารกันบูดชนิดต่างๆ มาใช้ร่วมกัน เช่นการใช้ร่วมกันของกรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิก ซึ่งจะทําให้สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้ดีกว่าการใช้กรดซอร์บิกหรือกรดเบนโซอิก เพียงอย่างเดียว ในทางปฏิบัตินิยมใช้กรดซอร์บิก หรือกรดเบนโซอิกร่วมกับสารที่ต่อต้านแบคทีเรีย เช่นการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ร่วมกับกรดซอร์บิกหรือกรดเบนโซอิก เป็นต้น

ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดของสารกันบูดที่มีผลต่อจุลินทรีย์ต่างๆ

ชนิดของสาร	แบคทีเรีย	ยีสต์	รา
ไนไตรด์	++	-	-
ซัลไฟด์	++	+	+
กรดฟอร์มิก	+	++	++
กรดไพรฟอนิก	+	++	++
กรดซอร์บิก	+	+++	+++
กรดเบนโซอิก	++	+++	+++
พารา-ไฮดรอกซีเบนโซอิก	++	+++	+++
แอซิด เอสเทอร์ ไดฟีนิล	-	++	++

หมายเหตุ - แสดงว่า ไม่มีผล

+ แสดงว่า มีผลบ้างเล็กน้อย

++ แสดงว่า มีผลปานกลาง

+++ แสดงว่า มีผลมาก

ที่มา : Lueck (1980)

2.8.1.2 ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาต่อต้านจุลินทรีย์ การใช้สารกันบูดตั้งแต่สอง ชนิดหรือมากกว่ามาผสมกัน อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาที่มีต่อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งอาจสรุปได้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เป็นผลจากการเพิ่ม ซึ่งได้จากฤทธิ์ของสารกันบูดแต่ละตัว
- เป็นผลจากการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (synergism) หมายความว่า ความสามารถในการทำลายของสารผสมกัน จะเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นของสารเมื่อใช้เพียงลำพัง
- เป็นผลจากภาวะปฏิบัติ มีความหมายตรงกันข้ามกับข้อข้างบนดังกล่าว คือความเข้มข้นของสารผสมที่ใช้จะต้องใช้สูงกว่าความเข้มข้นของสารเมื่อใช้เพียงลำพัง

## 2.8.2 การใช้สารกันบูดร่วมกับวิธีทางกายภาพ

การใช้สารกันบูดร่วมกับวิธีการถนอมอาหารทางกายภาพ ได้ปฏิบัติและการยอมรับโดยทั่วไป ทั้งนี้เพราะว่าสามารถที่จะลดหรือหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นได้จากการใช้สารเคมีกันบูด การใช้สารกันบูดร่วมกับวิธีการแปรรูปทางกายภาพนี้ เรียกว่า Hurdle concept หลักการนี้ไม่เพียงหมายถึงเฉพาะการแปรรูปทางกายภาพเท่านั้น ยังรวมถึงการทำสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเน่าเสียด้วย เช่น การลดค่า water activity ( $a_w$ ) การปรับอุณหภูมิที่ใช้การเก็บรักษา การเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือการทำให้จุลินทรีย์เริ่มต้นน้อย เป็นต้น พอสรุปได้ดังนี้

2.8.2.1 การใช้สารกันบูดร่วมกับความร้อนอุณหภูมิและเวลาที่ต้องการใช้สำหรับการทำลายจุลินทรีย์ในการแปรรูปที่เติมสารกันบูดโดยวิธีการใช้ความร้อนนั้น จะพบว่าต้องการใช้เวลาน้อยกว่าตัวอย่างอาหารที่ไม่มีสารกันบูดที่อุณหภูมิเดียวกัน เช่น เวลาที่ใช้ทำลายเชื้อยีสต์สามารถประหยัดเวลาได้ถึงร้อยละ 30-80 ถ้ามีกรดซอร์บิกหรือกรดเบนโซอิกอยู่ในอาหารด้วย หรือกรณีทำลายเชื้อ *Byssochlamys* ในอาหารที่มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์อยู่จะสามารถลดค่า-D (D-value) ลงได้ครึ่งหนึ่ง

2.8.2.2 การใช้สารกันบูดร่วมกับความเย็น โดยหลักการมีลักษณะคล้ายคลึงกับวิธีแรกนี้ กล่าวมาแล้วปริมาณสารกันบูดที่ใช้สามารถลดลงได้ ถ้ามีการใช้ความเย็นร่วมด้วย

2.8.2.3 การใช้สารกันบูดร่วมกับการอบรังสี ปัญหาการใช้รังสีในอาหาร ได้แก่ ปริมาณรังสีที่ใช้จะต้องไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค ฉะนั้นเพื่อลดปริมาณรังสีที่ใช้กับอาหาร จึงได้การเติมสารกันบูดในอาหารอบรังสี ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในอาหารจะเป็นลักษณะของการเสริมฤทธิ์ ระหว่างสารกันบูดกับรังสีที่แตกตัว เช่น การเติมกรดซอร์บิกในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ หรือในผลิตภัณฑ์นม การเติมคลอโรเตตราไซคลินในผลิตภัณฑ์ปลา เป็นต้น

## 2.8.3 การใช้สารกันบูดป้องกันจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ

ปัจจุบันได้มีการใช้สารกันบูดป้องกันจุลินทรีย์ชนิดสร้างสารพิษ โดยเฉพาะเชื้อรามากขึ้น เช่น การใช้กรดซอร์บิกเพื่อยับยั้งเชื้อราที่สร้างไมโคทอกซิน หรือการใช้ซอร์บออล พาล์มิเตดเพื่อยุคการสร้างอะฟลาทอกซิน เป็นต้น

#### 2.8.4 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อฤทธิ์ของสารกันบูด

คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และส่วนผสมของอาหารที่เก็บรักษาจะมีผลกระทบต่อฤทธิ์ของสารกันบูด นอกจากนี้สารประกอบตามธรรมชาติของอาหารเองก็มีผลกระทบต่อฤทธิ์ของสารกันบูดได้ และบางครั้งสารประกอบตามธรรมชาติของอาหารมีคุณสมบัติการเป็นสารกันบูดได้เช่นกัน

2.8.4.1 ผลกระทบกระเทือนจากค่าพีเอช สารกันบูดที่มีแนวโน้มแตกตัวในสารละลายเอควิวสออกเป็นไฮโดรเจนไอออนหรือจะเป็นกรดไม่แตกตัวง่าย จะเป็นส่วนที่รับผิดชอบต่อการต่อต้านจุลินทรีย์ที่แท้จริง ตัวอย่างเช่น กรดอะซิติก ซึ่งแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนทำให้ค่าพีเอชลดลง จึงจะทำให้แบคทีเรียไม่สามารถจะมีชีวิตอยู่ได้ สารกันบูดชนิดนี้จะต้องใช้ในปริมาณค่อนข้างสูง เพื่อที่จะให้ค่าพีเอชของอาหารลดลง (Lueck, 1980)

สำหรับกรดซอร์บิก องค์ประกอบของกรดที่ไม่แตกตัวจะมีผลต่อต้านจุลินทรีย์ เพราะสารประกอบ ของส่วนที่ไม่แตกตัว จะเคลื่อนผ่านผนังเนื้อเยื่อชนิดกึ่งยอมให้ผ่านของเซลล์จุลินทรีย์ และไปทำให้เกิดผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์ ปริมาณของสารกันบูดที่ใช้จะมีค่าประมาณต่ำกว่าร้อยละ 1 ปริมาณของกรดที่ไม่แตกตัวลดลง เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น สารกันบูดที่มีแนวโน้มแตกตัวได้ง่าย จะมีประสิทธิภาพสูงขึ้น เมื่อความเป็นกรด-ด่างมีค่าต่ำ สัดส่วนของส่วนที่ไม่แตกตัว สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\alpha = \frac{H^{\circ}}{H^{\circ} + D}$$

เมื่อ  $\alpha$  คือ ปริมาณของกรดที่ไม่แตกตัว

$H^{\circ}$  คือ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน

$D$  คือ ค่าความแตกตัวของ

ฉะนั้น ถ้าสามารถเปลี่ยนค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เป็นกรด ประสิทธิภาพของสารกันบูดก็จะเพิ่มขึ้น แต่การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารมีขอบเขตจำกัดด้วยเหตุผลของรสชาติของอาหารจะเปลี่ยนแปลงไป

2.8.4.2 ผลกระทบกระเทือนจากค่าสัมประสิทธิ์การละลาย ค่าสัมประสิทธิ์นี้ หมายถึงอัตราส่วนของค่าการละลายในไขมันต่อค่าการละลายในส่วนเอควิวส ค่าสัมประสิทธิ์การละลายนี้มีความสำคัญต่อการถนอมอาหารที่ประกอบด้วยไขมันสูง เช่น อิมันชั่น อาหารประเภทนี้จุลินทรีย์สามารถเจริญในส่วนของเอควิวส และถ้าหากสารกันบูดเคลื่อนที่เข้าไปในส่วนไขมันจะถือเป็นส่วนสูญเสียไป ดังนั้นสารกันบูดที่จัดว่าประสิทธิภาพสูงนั้นจะต้องมีค่าสัมประสิทธิ์การละลายต่ำ เนื่องจากว่าสารกันบูดมีความสามารถละลายในไขมันต่างกัน ฉะนั้นสัมประสิทธิ์การละลายจึง

ขึ้นกับชนิดของไขมัน เกลือ น้ำตาล และสารละลายได้อื่นๆ สัมประสิทธิ์การละลายลดลงเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น เพราะส่วนประกอบที่ไม่แตกตัวของสารกันบูดเท่านั้นที่จะละลายในส่วนไขมันได้

2.8.4.3 ผลกระทบกระเทือนจากค่า  $a_w$  การเติมสารในอาหารเพื่อลดค่า  $a_w$  จะทำให้กิริยาการต่อต้านจุลินทรีย์ของสารกันบูดดีขึ้น สารที่ใช้เติมได้แก่ เกลือ น้ำตาล กลีเซอริน และไกลคอลล

2.8.4.4 ผลกระทบกระเทือนจากปัจจัยทางกายภาพและเคมีของอาหาร เช่น ศักย์ไฟฟ้าของรีดอกซ์ ความดันย่อยออกซิเจน การเติมสารหรือส่วนผสมที่สามารถไปเปลี่ยนค่าของปัจจัยดังกล่าวจะมีผลต่อกิริยาของสารกันบูดที่เติม

2.8.4.5 ผลกระทบกระเทือนจากส่วนผสมอาหาร สารที่เป็นสารประกอบของอาหารเอง หรือสารที่เติมเพื่อวัตถุประสงค์อื่นนอกเหนือจากการรักษาอาหารแล้วปรากฏว่าสารที่จะมีผลกระทบกระเทือนต่อกิริยาของสารกันบูดนั้นได้แก่ เกลือ คาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์

## 2.8.5 การสลายตัวของสารกันบูด

โดยทั่วไป สารกันบูดเป็นสารที่อยู่ตัวในระหว่างการรักษา ยกเว้นสารกันบูดชนิดอนินทรีย์บางชนิด เช่น ไนไตรต์ ซัลไฟต์ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ โอโซน และสารประกอบอินทรีย์ที่ใช้เป็นสารกันบูดบางตัว เช่น ไพโรคาร์บอนเนต เอสเทอร์ และยาปฏิชีวนะ การสลายตัวของสารกันบูดในบางครั้งก็ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ และบางครั้งก็เป็นส่วนหนึ่งของปฏิกิริยา เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ บางครั้งการสลายตัวก็เป็นสิ่งที่ต้องการ เพื่อว่าในผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะได้ไม่มีสารกันบูดเหลืออยู่ เช่น สารไพโรคาร์บอนเนต เอสเทอร์

## 2.8.6 ชนิดของสารกันบูด

สารกันบูดสามารถใช้กับอาหารแปรรูปเกือบทุกชนิด และกับอาหารสดบางชนิด ปริมาณการใช้ได้เพิ่มขึ้นทุกปี

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต กรดซอร์บิกเป็นกรด ไขมันโมโนคาร์บอกซิลิกอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ในการถนอมอาหาร กรดซอร์บิกและโพแทสเซียมซอร์เบตเป็นสารกันบูดที่ใช้กันและเป็นที่ยอมรับว่าเป็นสารกันบูดที่ปลอดภัยสำหรับใช้กับอาหาร (Sinskey, 1980) มีจำหน่ายในท้องตลาดในรูปของกรดอิสระและเกลือ โซเดียม โพแทสเซียมและแคลเซียมของกรดนี้ มีลักษณะเป็นผงเกล็ดหรือสารละลาย มีกลิ่นเฉพาะตัวและมีรสเปรี้ยว หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 132-135°C ที่อุณหภูมิห้อง กรดซอร์บิก 0.16 กรัม สามารถละลายได้ในน้ำ 100 กรัม และ 0.07 กรัม ในสารละลายเกลือเข้มข้น 10% 100 กรัม กรดซอร์บิก 13 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ที่ปราศจากน้ำ 100 กรัม ความสามารถในการละลายในน้ำมันมีค่าประมาณ 0.5-1.0 กรัมต่อ 100 กรัม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมัน (Lueck, 1980) โพแทสเซียมซอร์เบต มีน้ำหนักโมเลกุล 152.22 เป็นผงสีขาวหรือเป็นเกล็ดสีขาว เป็นสารที่ละลายได้รวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง โพแทสเซียมซอร์เบต 139 กรัม ละลายได้ในน้ำ 100 กรัม ที่ 20°C หรือ สารละลายเกลือ 10% จำนวน 100 กรัม จะละลายโพแทสเซียมซอร์เบตได้ 54 กรัม

มีการจดลิขสิทธิ์กรดซอร์บิกเป็นสารทำลายเชื้อราในอาหารและวัตถุห่อหุ้มอาหารและเกลือซอร์เบทใช้เป็นสารป้องกันและควบคุมเชื้อราและยีสต์ แต่จากการศึกษาเมื่อเร็วๆ นี้ ได้แสดงให้เห็นว่าเกลือซอร์เบทสามารถเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์จำพวกที่จะทำให้เกิดพิษในอาหารได้ เช่น *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* (Robach, 1980) กิริยาการต่อต้านจุลินทรีย์ของซอร์บิก ได้แก่ การไปยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์ในเซลล์ เช่น เอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แลคเตต ดีไฮโดรจิเนส นอกจากนี้กรดซอร์บิกยังไปรบกวนและขัดขวางอย่างรุนแรงในวงจรของ ซิตริก กรดซอร์บิกจะไปรวมตัวกับกลุ่ม -SH ในเอนไซม์สร้างพันธะโควาเลนต์ขึ้น ทำให้กลุ่ม -SH ไม่มีปฏิกิริยา นอกจากนี้กรดซอร์บิกยังมีผลต่อเอนไซม์อะคะเลส และเพอร์ออกซิเดส

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบท ได้อนุญาตให้ใช้เป็นสารกันบูดในอาหารหลายชนิดทั่วประเทศ ปริมาณที่ใช้อยู่ระหว่าง 0.1 – 0.2% และจะให้ได้ประสิทธิภาพของการใช้สูงสุดจะต้องใช้ที่ค่าพีเอชที่เหมาะสม ที่ 6.5 ทั้งประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศอังกฤษอนุญาตให้ใช้ได้ตามกฎหมายกำหนด ดังตารางที่ 2.4 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ตารางที่ 5 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ ตารางที่ 6 แสดงค่าความเข้มข้นของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อรา และทั่วโลกยังยอมให้ใช้กรดซอร์บิกแทนสารกันบูดอื่นๆ ที่ยังไม่ผ่านการทดสอบได้

ตารางที่ 2.4 ความเข้มข้นต่ำของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดแบคทีเรีย	ค่าพีเอช	ความเข้มข้นขั้นต่ำ ส่วนในล้านส่วน ppm
<i>Pseudomonas</i> sp.	6.0	100
<i>Micrococcus</i> sp.	5.5- 6.4	50-150
<i>Lactobacillus</i> sp.	4.3 – 6.0	200 - 700
<i>Escherichia coli</i>	5.2 – 5.6	50 - 100
<i>Bacillus</i> sp.	5.5 – 6.3	50 – 1,000
<i>Clostridium</i> sp.	6.7 – 6.8	100 – 1,000
<i>Salmonella</i> sp.	5.0 – 5.3	50 – 1,000

ที่มา : Rehm (1961) และ Lueck (1980)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณขั้นต่ำของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์

ชนิดเชื้อยีสต์	ค่าพีเอช	ความเข้มข้นขั้นต่ำ ส่วนในล้านส่วน ppm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3.0	25
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	3.5	50 – 200
<i>Saccharomyces sp.</i>	3.2 – 5.7	30 – 100
<i>Hansenula anomala</i>	5.0	500
<i>Brettanomyces versatills</i>	4.6	200
<i>Byssochlamys fulva</i>	5.5	50 – 250
<i>Rhodotorula sp.</i>	4.0 – 5.0	100 – 200
<i>Torula lipolytica</i>	4.6	400
<i>Kloeckera apiculata</i>	3.5 – 4.0	100 - 200
<i>Candida krusei</i>	3.4	100
<i>Candida lipolytica</i>	5.0	100

ที่มา : Rehm (1961) และ Lueck (1980)

ตารางที่ 2.6 ความเข้มข้นขั้นต่ำของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อรา

ชนิดเชื้อรา	ค่าพีเอช	ความเข้มข้นขั้นต่ำ ส่วนในล้านส่วน ppm
<i>Rhizopus sp.</i>	3.6	120
<i>Mucor sp.</i>	3.0	10 -100
<i>Geotrichum candidum</i>	4.8	1,000
<i>Oospora lactis</i>	3.5 – 4.5	25 -200
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-	100
<i>Penicillium sp.</i>	3.5 – 5.7	20 -100
<i>Penicillium digitatum</i>	4.0	200
<i>Penicillium glaucum</i>	3.0	100 - 250
<i>Aspergillus sp.</i>	3.3 - 5.7	20 -100
<i>Aspergillus flavus</i>	-	100
<i>Aspergillus niger</i>	2.5 – 4.0	100 - 500
<i>Botrytis cinerea</i>	3.6	120 - 250
<i>Fusarium sp.</i>	3.0	100
<i>Cladosporium sp.</i>	5.0 – 7.0	100 - 300

ที่มา : Rehm (1961) และ Lueck (1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมันหอย

#### 3.1.1 วัตถุดิบในการผลิตซอสหอยนางรม

1. น้ำปลา ตรา ใต้ต้น
2. เกลือ ตรา เกลือไทย
3. น้ำตาลแดง ตรา มิตรผล
4. ผงชูรส ตรา Red Leaf
5. โปตัสเซียมซอร์เบท
6. เบะแซ ตรา กระต่าย
7. น้ำตาลไหม้ ตรา BFI
8. น้ำตาลทรายขาว ตรา ผึ้ง
9. แป้งมันสำปะหลังคัดแปร ตรา Penford
10. I&G “Disodium 5'-inosinate 50%, Disodium Guanylate 50%” ตรา Miwon
11. สารแต่งกลิ่น Oyster flavour (concentration) ตรา Givaudan

#### 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม

1. หม้อต้มซอสหอยนางรม
2. ไม้พาย
3. ตาชั่งชั่งสาร
4. ตะแกรง
5. ถังใส่ส่วนผสมที่ซั่งไว้แล้ว
6. ขวดแก้วสำหรับบรรจุ
7. กระจกตวง
8. กรวยกรอก

### 3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) temp 37–45 °C (Memmert)
2. เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์รุ่น Dragon 3002 (Mettler Toledo)
3. เครื่อง Laminar flow Type CLF 460 EC (Clean air Woerden)
4. หม้อนึ่งความดันฆ่าเชื้อ (Autoclave) SS-245 (Tomy)
5. เครื่องอบความร้อน (Hot air oven) (Memmert)
6. เครื่องอ่างน้ำ (Water bath) (Memmert)
7. จานเพาะเชื้อ sterile
8. ขวดบรรจุน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาณ 225 มิลลิลิตร
9. หลอดทดลองขนาด 20x150 มิลลิลิตรสำหรับเจือจางปริมาณ 9 มิลลิลิตร
10. ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
11. หลอดดักแก๊ส
12. Mixer

### 3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Peptone 0.1% (Merck)
2. Plate Count Agar (Marck)
3. Potato Dextrose Agar (Merck)
4. Potato Dextrose Broth (Himedia)
5. Tartaric acid (Merck)

## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 ศึกษาความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม

#### 3.2.1.1 ศึกษาคุณสมบัติของวัตถุดิบ

##### 1) แป้งมันที่ใช้ในการผลิต

การเตรียมตัวอย่างแป้ง ส่งตรวจค่าทางจุลชีววิทยาตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยทำการบรรจุใส่ถุงพลาสติกที่สะอาด น้ำหนักประมาณ 200 กรัม จำนวน 3 ถุง ส่งตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยรวม ยีสต์ และรา โคลิฟอร์ม *E. coli* *S. aureus* *B. cereus* *C. perfringens* *Salmonellae* โดยเกณฑ์มาตรฐานของจุลินทรีย์ที่ตรวจมีเกณฑ์ดังนี้

เกณฑ์และวิธีการที่ใช้ในการตรวจจุลินทรีย์แต่ละประเภทที่ทางกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ใช้ในการวิเคราะห์

จำนวนจุลินทรีย์ (cfu / กรัม)	APHA. 2001. Compendium
จำนวนยีสต์และรา (cfu / กรัม)	BAM online. 2001
MPN Coliform bacteria	APHA. 2001. Compendium
เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	
<i>S. aureus</i> (cfu / กรัม)	BAM online. 2001
<i>C. perfringens</i> (cfu / 0.01 กรัม)	BAM online. 2001
Salmonella (cfu / 25 กรัม)	ISO 6579-2002
<i>B. cereus</i> (cfu / กรัม)	BAM online. 2001

## 2) น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต

การเตรียมตัวอย่างน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อส่งตรวจทางฟิสิกส์ และทางเคมี ให้ทำการบรรจุน้ำในขวดพลาสติกใส ฝาเกลียวพลาสติก ขนาดบรรจุ 1.5 ลิตร จำนวน 4 ขวด ส่วนการตรวจทางจุลินทรีย์ให้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำในขวดแก้วปราศจากเชื้อ บรรจุ 500 มิลลิลิตร จำนวน 1 ขวด

ในการตรวจคุณภาพน้ำทั้งทางฟิสิกส์ ทางเคมี และ ทางกายภาพ ทำการวิเคราะห์โดยส่งตัวอย่างตรวจที่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยเกณฑ์ที่ใช้สอดคล้องตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 โดยมีเกณฑ์การตรวจคุณภาพของน้ำมีรายละเอียดดังนี้

การตรวจทางด้านเคมี ทำการตรวจ

ทางฟิสิกส์

ค่าความเป็นกรด - ด่าง

APHA 2005(4500H-B)

ทางเคมี (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ปริมาณสารทั้งหมด

APHA 2005(2540 B)

ความกระด้างทั้งหมด

โดยคำนวณเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต

APHA 2005(2340 C)

คลอไรด์ โดยคำนวณเป็นคลอไรด์

APHA 2005(4110 B)

ไนเตรต โดยคำนวณเป็นไนโตรเจน

APHA 2005(4110 B)

ฟลูออไรด์ โดยคำนวณเป็นฟลูออรีน

APHA 2005(4110 B)

เหล็ก

APHA 2005(3111 B)

ตะกั่ว

APHA 2005(3111 B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การตรวจทางจุลชีววิทยา

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด / มิลลิลิตร	APHA 2005(9215 A-B)
MPN Coliform bacteria / 100 มิลลิลิตร	APHA 2005(9221 A-C)
<i>E. coli</i> / 100 มิลลิลิตร	APHA 2005(9221E, 9225D)
<i>S. aureus</i> (cfu/100 มิลลิลิตร)	APHA 2005(9221B) และ AOAC 2000(987.09 F)
Salmonella (cfu/100 มิลลิลิตร)	ISO 6340 : 1995
<i>C. perfringens</i> (cfu/100 มิลลิลิตร)	APHA 2005 (9030 B.15) และ BAM online2001 (Chap.16)

### 3.2.2 ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา เคมี และ กายภาพของผลิตภัณฑ์

1) นำซอสหอยนางรมที่ผลิตจากวัตถุดิบในล็อตเดียวกันไปทำการตรวจหาค่าทางจุลชีววิทยา เคมี และ กายภาพ โดย ซอสหอยนางรมถูกบรรจุในขวดแก้ว ปิดสนิทเรียบร้อย ขวดละ 600 กรัม ส่ง 6 ขวด ส่งทั้งหมด 3 ครั้ง ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการตรวจครั้งนี้เกณฑ์ที่ใช้ตรวจหาค่าทางจุลินทรีย์ ตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200 พ.ศ. 2543 เรื่อง ซอสในภาชนะบรรจุปิดสนิท

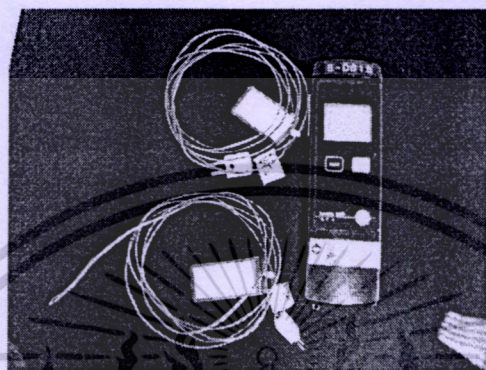
#### การตรวจทางจุลชีววิทยา

จำนวนจุลินทรีย์ / กรัม	APHA. 2001. Compendium
จำนวนยีสต์และรา / กรัม	BAM online. 2001
MPN Coliform bacteria	APHA. 2001. Compendium
MPN <i>E. coli</i>	APHA. 2001. Compendium
เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	
<i>S. aureus</i> / กรัม	BAM online. 2001
<i>C. perfringens</i> / 0.01 กรัม	BAM online. 2001
Salmonella / 25 กรัม	ISO 6579-2002
<i>B. cereus</i> / กรัม	BAM online. 2001

ในการศึกษานี้ให้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการของ ภาควิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบวิธีการ และ ตรวจสอบติดตามในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมภายหลังการเปิด

### 3.2.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกี่ยวชอยหอยนางรม

โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ดิจิตอลที่มีการสอบเทียบทำการใส่ลงในหม้อต้มซอสโดยใช้หัววัด (probe) ในกึ่งกลางหม้อ จะจับเวลาทุกๆ 20 นาที และอ่านอุณหภูมิในเวลานั้น มาทำการเขียนกราฟที่เกิดขึ้นว่า การต้มซอสหอยนางรมใช้ เวลา และ อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต และ นำซอสที่ได้ไปทำการตรวจสอบเชื้อทาง จุลินทรีย์ตามวิธีการข้อ 3.2.2



รูปที่ 3.1 เทอร์โมมิเตอร์ดิจิตอลสำหรับวัดอุณหภูมิในการเกี่ยวชอยหอยนางรม



รูปที่ 3.2 ป้ายแสดงการสอบเทียบของอุปกรณ์ที่นำมาใช้

### 3.2.4 ศึกษาผลการเติมโปรตีนเคซีนที่มีผลต่อการเก็บผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้

การทดลองนี้จะทำการนำซอสหอยนางรมที่ผลิตได้ในข้อ 3.2.3 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ จุลินทรีย์ที่อาจมีการปนเปื้อน คือ จุลินทรีย์โดยรวม เชื้อยีสต์ และ เชื้อรา โดยตรวจภายในห้องปฏิบัติการทางจุลินทรีย์ ของภาควิชาโภชนาการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยนำซอสหอยนางรมที่ไม่เติมและแบบที่เติมโปรตีนเคซีน 0.08% มาหาเชื้อยีสต์ รา โดยตรวจเชื้อ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อดูจำนวนเชื้อที่เกิด

ตัวอย่างที่นำมาศึกษา คือ swab ในส่วนของคอขวด และเนื้อซอสหอยนางรมทำการตรวจทุกๆ 7 วัน ที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ทำ ทั้งหมด 3 ครั้ง

### 3.2.5 ศึกษาชนิดเชื้อราที่พบในซอสหอยนางรมสูตรไม่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบท

โดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราที่พบในซอสหอยนางรมที่ไม่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบท ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDA) 5 มิลลิลิตร ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เพื่อแยกประเภทของเชื้อรา

### 3.2.6 ศึกษาความเข้มข้นของโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ

นำเชื้อราแต่ละประเภทที่ได้จากการศึกษา 3.2.5 มาทำการทดสอบกับ โปรตีนเชื่อมซอร์เบท ที่ความเข้มข้นที่ต่างกัน คือ ที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยทำ 3 ซ้ำ โดยนำเชื้อราที่เพาะไว้ในหลอดทดลอง นำมาปรับความเข้มข้น (dilution) และ หยดลงไปที่กึ่งกลางของ จานเพาะเชื้อที่  $10^6$  cfu/g และตรวจติดตามผลการเจริญเติบโต หรือ การยับยั้งเชื้อราในแต่ละประเภทและในความเข้มข้นของโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่ต่างกัน

### 3.2.7 ศึกษาผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ

นำเชื้อที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.5 ที่เลี้ยงไว้ใน slant PDA 5 มิลลิลิตร มาผสมกับ 9 PDB มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นที่ระดับ 1:10 ทำการปรับความเข้มข้น ให้ได้  $10^4$  และหยด 0.01 (จะเป็นปริมาณ  $10^6$ ) ลงใน PDA และ spread plate เพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น ในขั้นตอนของการศึกษา ถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีความเข้มข้นของเชื้อรา ใน PDB ที่ 1:10 ลงในหลอด PDB อย่างเดียวและหลอด PDB ที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบท ในปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ตามลำดับ นำ ทั้ง 5 หลอดนี้ไปต้ม ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อราที่ลดลงทุก 15 นาที ด้วยวิธีการ spread plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง นำปริมาณเชื้อที่เกิดขึ้นและนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงและหามาตรการควบคุมในช่วงที่การวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤต (HACCP Plan)

### 3.2.8 ศึกษาการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ต่อซอสหอยนางรมในระดับโรงงานขนาดเล็ก

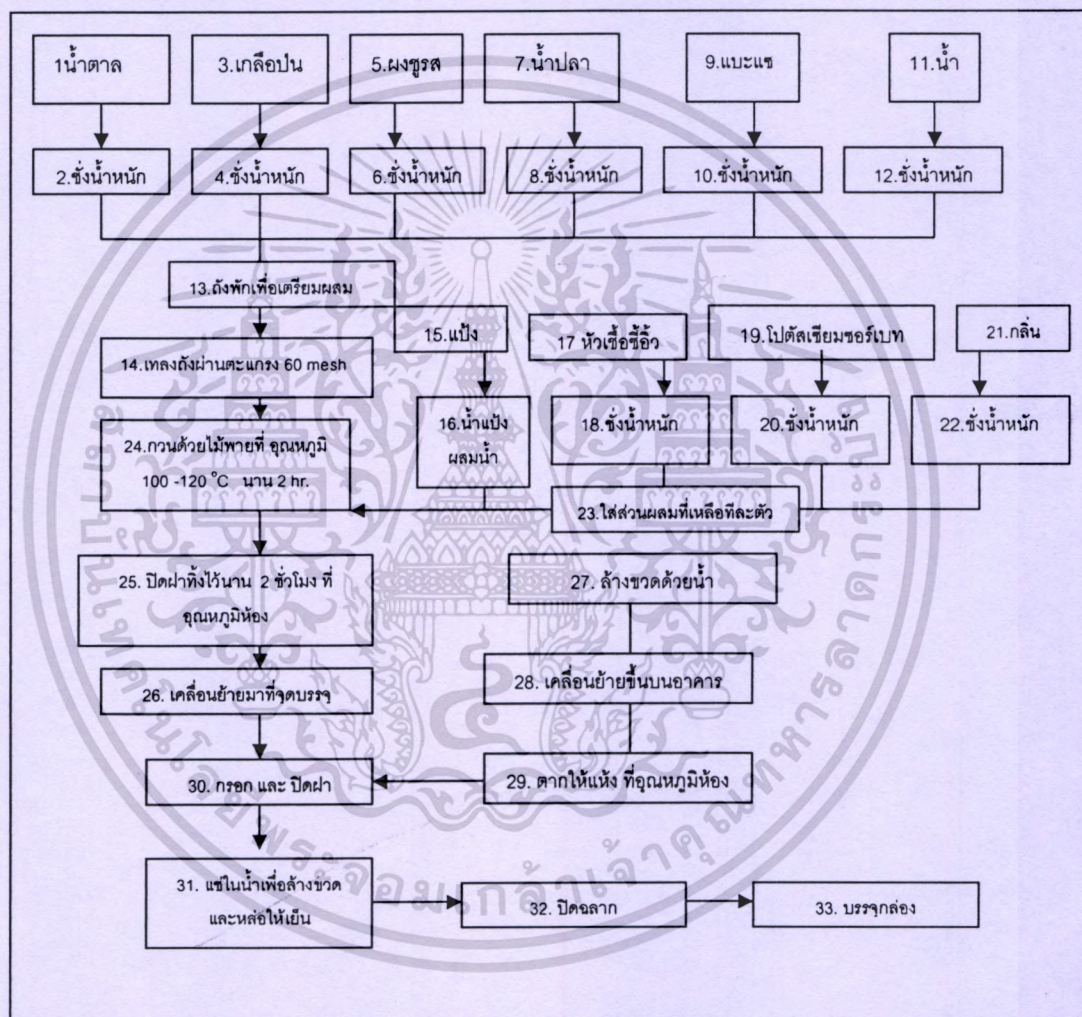
ศึกษาการผลิต ตั้งแต่วัตถุดิบจนกระทั่งผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

- 1) ทวนสอบแผนภูมิ ดังรูปที่ 3.1 และ นำไปทวนสอบกับปฏิบัติการจริง เพื่อยืนยันผลการทดลองว่าเป็นจริงตามที่ทำการทดสอบได้
- 2) วิเคราะห์อันตราย 3 ชนิด ตามเกณฑ์ของ codex โดยอันตรายทางกายภาพ โดยการศึกษาจากการตรวจสอบวัตถุดิบ และกระบวนการผลิตที่เชื่อว่ามีโอกาสเกิดอันตรายทางกายภาพในอาหาร หรือไม่ อันตรายทางเคมี ทำการศึกษาการวิเคราะห์จากผู้ส่งสินค้า และ ประเมินความเสี่ยงที่มีโอกาสจะเกิด ส่วนอันตรายทางจุลินทรีย์ ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
- 3) ศึกษามาตรการในระบบสุลักษณะที่ดีในกระบวนการผลิตของโรงงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4) วิเคราะห์จุดวิกฤติ โดย วิธี decision tree และการประเมินความเสี่ยง
- 5) หาค่าควบคุมในแต่ละขั้นตอน
- 6) หาวิธีการตรวจติดตามในแต่ละขั้นตอน
- 7) หาวิธีการแก้ไขหากมีการเบี่ยงเบน
- 8) จัดทำแผนการทวนสอบ

ความน่าเชื่อถือของระบบ HACCP (Validation HACCP) ทำการประเมินระบุอันตรายหรือความเสี่ยงจากสิ่งปนเปื้อนที่จะเกิดขึ้นในกระบวนการผลิต ตามรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.3 แผนภูมิกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงชนิดของเชื้อที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของซอสหอยนางรม ที่เติมและไม่เติม โปดัสเซียมซอร์เบท
- 2) ทราบถึงอายุการเก็บซอสหอยนางรมที่ใส่และไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบทที่ 0, 7, 14, 28 วัน
- 3) ทราบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บซอสหอยนางรมที่ใส่และไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท
- 4) ทราบถึงอันตรายทางชีวภาพ ทางเคมี และ ทางกายภาพ ของกระบวนการผลิตซอสหอยนางรมและวิธีการควบคุมการเกิดอันตรายต่างๆ
- 5) ทราบถึงมาตรการการควบคุมที่จุดวิกฤติ
- 6) ได้แผนงานระบบ HACCP ต้นแบบสำหรับ โรงงานผลิตซอสหอยนางรมของโรงงานระดับเล็ก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 การประเมินความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม

ซอสหอยนางรมที่ผลิตขึ้นมาประกอบด้วย น้ำ, เกลือ, น้ำปลา, น้ำตาลแดง, น้ำตาลทรายขาว, แปะแซ, แป้งมันสำปะหลัง, ผงชูรส, โปตัสเซียมซอร์เบท และ หัวเชื้อซีอิ๊ว ตามลำดับ จึงนำวัตถุดิบเหล่านี้มาประเมินความเสี่ยง เพื่อหาโอกาสจะเกิดความเสี่ยงการเสื่อมเสียด้านจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและความรุนแรงของเชื้อที่อยู่ในแต่ละวัตถุดิบต่างๆ

การประเมินความเสี่ยงด้านความปลอดภัยในอาหาร แบ่งออกเป็นความเสี่ยงและความรุนแรง มีความแตกต่างกันอยู่ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสในการเกิดอันตรายและความรุนแรงของอันตราย

สูง	Satisfy	Minor	Major	Critical
ปานกลาง	Satisfy	Minor	Major	Major
น้อย	Satisfy	Minor	Minor	Minor
ละเอียด	Satisfy	Satisfy	Satisfy	Satisfy
ละเอียด	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	

ความรุนแรงของอันตรายที่เกิดขึ้น

เมื่อนำตารางที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวมาประเมินความเสี่ยงในวัตถุดิบทุกตัวที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม จะได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางประเมินความเสี่ยงทางด้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในวัตถุดิบที่ใช้ทำซอส

หอยนางรม

วัตถุดิบ	อันตราย	ความรุนแรง	ความเสี่ยง	ผลการประเมินความเสี่ยง	หมายเหตุ
น้ำ	<i>S. aureus</i>	Moderate	Moderate	Minor	
	<i>E. coli</i>	Moderate	High	Major	
น้ำปลา	<i>Pseudomonas</i> sp.	Low	Low	Minor	เนื่องจากเชื้อเหล่านี้ไม่มี การสร้างสปอร์และ สามารถควบคุมได้ ถ้ามีการควบคุมสภาวะการเก็บ และการหมักปลาเพื่อนำ น้ำปลาจะมีการสร้างกรด ฟอรั่มิก, กรดอะซิติก, กรดโปรรีโอนิก กรดไอโซบิวทริก และมีการต้ม ก่อนมีการกรองใส่ขวด
	<i>Staphylococcus</i> sp.	Low	Low	Minor	
	<i>Micrococcus</i> sp.	Low	Low	Minor	
	<i>Flavobacterium</i> sp.	Low	Low	Minor	
	<i>Moraxella</i> sp.	Low	Low	Minor	
	<i>Vibrio</i> sp.	High	Low	Minor	
น้ำตาลทรายแดง / น้ำตาลทรายขาว / แป้งแซ	<i>Leuconostoc</i> sp.	Low	Low	Minor	ปกติน้ำตาลมีความชื้นต่ำ จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ และขี้กระบวน การผลิตน้ำตาลมีการระเหยน้ำ การตกผลึก การปั่น และการกรอง รวมทั้งการฟอกสี จึงมีโอกาสน้อยมากที่จะพบการเสื่อมเสีย ยกเว้น ถ้ามีความชื้นสูงขึ้น
	<i>Bacillus</i> sp.	Low	Low	Minor	
	<i>Saccharomyces</i> sp.	Low	Low	Minor	
แป้งมันสำปะหลัง	<i>Bacillus cereus</i>	Moderate	High	Major	เนื่องจากพบว่าแป้งมี โอกาสพบสปอร์ของ จุลินทรีย์ของแบคทีเรีย และเชื้อราได้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสปอร์ของ <i>Bacillus cereus</i> ทนความร้อนได้สูง จึงมีความเสี่ยงมากที่จะเหลือ หรือ ปนเปื้อนของสปอร์ของ เชื้อนี้ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้
	<i>Achromobacter</i> sp.	Low	High	Minor	
	<i>Flavobacterium</i> sp.	Low	High	Minor	
	<i>Aspergillus</i> sp.	Moderate	High	Major	
	<i>Penicillium</i> sp.	Moderate	High	Major	
	<i>Alternaria</i> sp.	Moderate	High	Major	
	<i>Cladosporium</i> sp.	Moderate	High	Major	
ผงชูรส	ไม่มีอันตรายทาง จุลินทรีย์ที่ก่อโรค	Negligible	Negligible	Negligible	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

วัตถุดิบ	อันตราย	ความรุนแรง	ความเสี่ยง	ผลการประเมินความเสี่ยง	หมายเหตุ
โปดัสเซียมซอร์เบท	ไม่มีอันตรายทางจุลินทรีย์ที่ก่อโรค	Negligible	Negligible	Negligible	
หัวเชื้อซีอิ๊ว	ไม่มีอันตรายทางจุลินทรีย์ที่ก่อโรค	Negligible	Negligible	Negligible	ซึ่งเป็นสารตั้งเคราะห์ที่เลียนกลั่น จึงไม่มีโอกาสจะเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์
น้ำเกลือ / เกลือ	<i>Micrococcus sp.</i>	Low	Low	Minor	เนื่องจากเกลือเกิดจากการตกผลึก และเกลือมีคุณสมบัติไปลดปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์นำไปใช้ แต่อาจเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์พวกฮาโลฟายล์ เนื่องจากปริมาณที่ใช้ ใช้เพียง 2.5% และผ่านความร้อนอีกครั้ง จึงมีอันตรายน้อย
	<i>Pseudomonas sp.</i>	Low	Low	Minor	
	<i>Serratia salinaria</i>	Low	Low	Minor	

จากตารางที่ 4.2 เรื่องการประเมินความเสี่ยง พบว่าแป้งมันสำปะหลังคัดแปรและน้ำที่ใช้ในการผลิตมีโอกาสเสี่ยงต่อการพบจุลินทรีย์ก่อโรคมีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยในอาหาร (major) มากกว่าวัตถุดิบตัวอื่นๆ จึงนำวัตถุดิบ 2 ชนิดนี้ มาวิเคราะห์ เพื่อตรวจติดตามและยืนยันผลของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีความเสี่ยงต่อผลิตภัณฑ์สุดท้าย ผลการตรวจสอบจะนำไปสู่การพิจารณาหามาตรการควบคุมใน HACCP plan ต่อไป ส่วนวัตถุดิบชนิดอื่นที่มีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยในอาหารน้อย (Minor) จะทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุดท้ายแทน (verify) และประเมินหามาตรการควบคุมมาวิเคราะห์ลงใน HACCP plan ต่อไป

การวิเคราะห์นี้ใช้เกณฑ์ของสำนักงานคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีกรตรวจวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200 พ.ศ. 2543 เรื่องขอสในภาชนะบรรจุปิดสนิท

น้ำ ตรวจสอบประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61

แป้ง ตรวจสอบ เกณฑ์ตามมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

#### 4.1.1 ศึกษาคุณสมบัติทางจุลินทรีย์ในแป้งมันสำปะหลัง

จากผลการวิเคราะห์แป้งมันที่ใช้ในการผลิต โดยการส่งตรวจทั้งหมด 3 ครั้ง ผลการวิเคราะห์แป้งมันสำปะหลังตัดแปลงนี้ แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์แป้งมันสำปะหลังตัดแปรที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม

หัวข้อการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	ผลการวิเคราะห์		
		1	2	3
Water activity		0.61	0.57	0.57
จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) (cfu/ กรัม)	$<1 \times 10^6$	20	$1.4 \times 10^3$	$< 10$
จำนวนยีสต์ (cfu/ กรัม)	$<1 \times 10^4$	$<10$	$<10$	$<10$
จำนวนรา (cfu/ กรัม)	$<500$	$< 10$	20	$<10$
โคลิฟอร์ม MPN / กรัม	$<3$ MPN	$<3$	$<3$	$<3$
อี. โคไล (cfu/ กรัม)	$<3$ MPN	$<3$	$<3$	$<3$
<i>S. aureus</i> (cfu/ กรัม)	$< 100$	$<10$	$<10$	$<10$
<i>C. perfringens</i> (cfu/ 0.01 กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Salmonella (cfu/25 กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>B. cereus</i> (cfu/ กรัม)	$< 100$	$<10$	$<10$	$<10$

จากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4.3 สรุปได้ว่า ค่า water activity ( $a_w$ ) ที่วิเคราะห์ได้มีค่าอยู่ในช่วง  $0.58 \pm 0.02$  ซึ่งมีความเสี่ยงของสปอร์จุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ เพราะแบคทีเรียจะเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี  $a_w$  ประมาณ 1.00 (เช่น 0.995 ถึง 0.998) แต่อาจมีแบคทีเรียบางชนิดเจริญได้ที่  $a_w$  ต่ำกว่า 0.9 แต่ถ้าเป็นรา จะเจริญได้ใน  $a_w$  ที่แตกต่างกันได้ เพราะ ช่วงของ  $a_w$  ที่ใช้ในการออกของสปอร์แบบไม่ใช้เพศ (asexual spores) ช่วงของ  $a_w$  ที่ราเจริญได้จะกว้างขึ้นเมื่อมีอุณหภูมิและอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการออกของสปอร์ สปอร์ราบางชนิดสามารถออกได้ต่ำกว่า 0.62 ในขณะที่บางชนิดต้องการ  $a_w$  สูงถึง 0.93 ราแต่ละชนิดมี  $a_w$  ที่เหมาะสมและช่วงกว้างของ  $a_w$  ที่ราเจริญได้แตกต่างกัน ค่า  $a_w$  ที่ทำให้ราไม่สามารถเจริญได้อาจต่ำถึง 0.62 ถึงแม้ว่า  $a_w$  ที่ต่ำกว่า 0.70 ก็สามารถยับยั้งการเจริญของราส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสียได้แล้ว  $a_w$  ที่ต่ำกว่า 0.94 จะสามารถยับยั้งการเจริญของรากลุ่ม *Rhizopus* และ ถ้า  $a_w$  ต่ำกว่า 0.85 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus* sp. ได้ การทำให้  $a_w$  ในอาหารลดต่ำลงจากค่าที่เหมาะสมที่ราต้องการ จะช่วยชะลอการออกของสปอร์ และลดอัตราการเจริญของราด้วย จึงเป็นปัจจัยในการถนอมอาหาร (สุมาลี, 2541) ดังนั้น แป้งจะต้องมีการควบคุมปริมาณ  $a_w$  ไม่ให้สูงกว่า เพราะจะทำให้มีการเจริญของแบคทีเรีย

มากขึ้นด้วย ทางด้านผลทางจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ได้ในแป้งมีค่า จุลินทรีย์โดยรวม มีค่าที่สูงสุดที่  $1.4 \times 10^3$  cfu / กรัม ค่าน้อยที่สุดอยู่ที่ น้อยกว่า 10 cfu/กรัม ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้ที่  $1 \times 10^6$  cfu / กรัม ส่วนปริมาณเชื้อราที่ตรวจพบ สูงสุดพบที่ 20 cfu / กรัม ส่วนปริมาณเชื้อตรวจสอบไม่พบ ได้แก่ ยีสต์ coliform *S. aureus* *C. perfringens* Salmonella และ *B. cereus* ซึ่งสอดคล้องตามเกณฑ์ที่กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารที่ทางกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดไว้ สำหรับ ผลการทดลองในครั้งที่ 2 มีค่า ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม(TPC) สูงกว่า 2 ครั้งที่เหลือ นั้นอาจเกิดจากการสุ่มตัวอย่างที่ไม่ถูกสุขลักษณะหรือวัตถุดิบมีการปนเปื้อนอย่างไรก็ตามค่าที่ได้ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด

#### 4.1.2 การศึกษาคุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรม

จากการตรวจประเมินในตารางที่ 4.4 พบว่าน้ำเป็นวัตถุดิบที่มีโอกาสพบจุลินทรีย์ก่อโรคในระดับสูง จึงได้ทำการเก็บน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตมีการส่งตรวจทั้งหมด 3 ครั้ง เกณฑ์ที่ใช้ในการตรวจอ้างอิงตามมาตรฐานน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 และ ฉบับที่ 135 พ.ศ. 2534 ผลการตรวจพบ ปรากฏดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางฟิสิกส์ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยา ของน้ำที่ใช้ในการผลิต

หัวข้อการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	ผลการวิเคราะห์		
		1	2	3
<b>ทางฟิสิกส์</b>				
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ที่ 25°C)	6.5-8.5	7.4	7.2	7.2
<b>ทางเคมี (มิลลิกรัมต่อลิตร)</b>				
ปริมาณสารทั้งหมด (%)	< 500.0	37	35	42
ความกระด้างทั้งหมด (คำนวณเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต)	< 100.0	8	8	8
คลอไรด์ (คำนวณเป็นคลอไรน)	< 250.0	27	32	44
ไนเตรต (คำนวณเป็นไนโตรเจน)	< 4.0	<0.5	<0.5	<0.5
ฟลูออไรด์ (คำนวณเป็นฟลูออรีน)	< 1.5	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<b>ทางฟิสิกส์</b>				
เหล็ก	< 0.3	0.005	0.005	0.005
ตะกั่ว	< 0.05	<0.003	<0.003	<0.003

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

หัวข้อการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	ผลการวิเคราะห์		
		1	2	3
<b>ทางจุลชีววิทยา</b>				
จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) cfu / มิลลิลิตร	-	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
โคลิฟอร์ม MPN / 100 มิลลิลิตร	<2.2	<1.1	<1.1	<1.1
<i>E. coli</i> MPN / 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>S. aureus</i> cfu / 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>C. perfringens</i> cfu / 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Salmonella cfu / 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์ทางฟิสิกส์ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยาของน้ำ พบว่า ค่าความเป็นกรดค่าที่ 25°C มีคุณสมบัติเป็นกลาง ค่าทางเคมี และค่าจุลชีววิทยา อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งจากผลการทดลองในด้านการวิเคราะห์ทางฟิสิกส์ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยาของวัตถุดิบหลักของการผลิตซอสหอยนางรม คือ แป้ง และน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต พบว่าวัตถุดิบหลักทั้งสอง มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด และไม่มีอันตรายที่เกิดจากการใช้วัตถุดิบทั้งสองก่อนเข้าสู่ผลิตภัณฑ์

#### 4.2 ศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ เคมี และ กายภาพของผลิตภัณฑ์

เมื่อนำแป้งมันสำปะหลังคัดแปรลือตเดียวกันมาทำการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมโดยมีการส่งวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ครั้ง ผลการวิเคราะห์ที่ได้ ดังตารางที่ 4.5

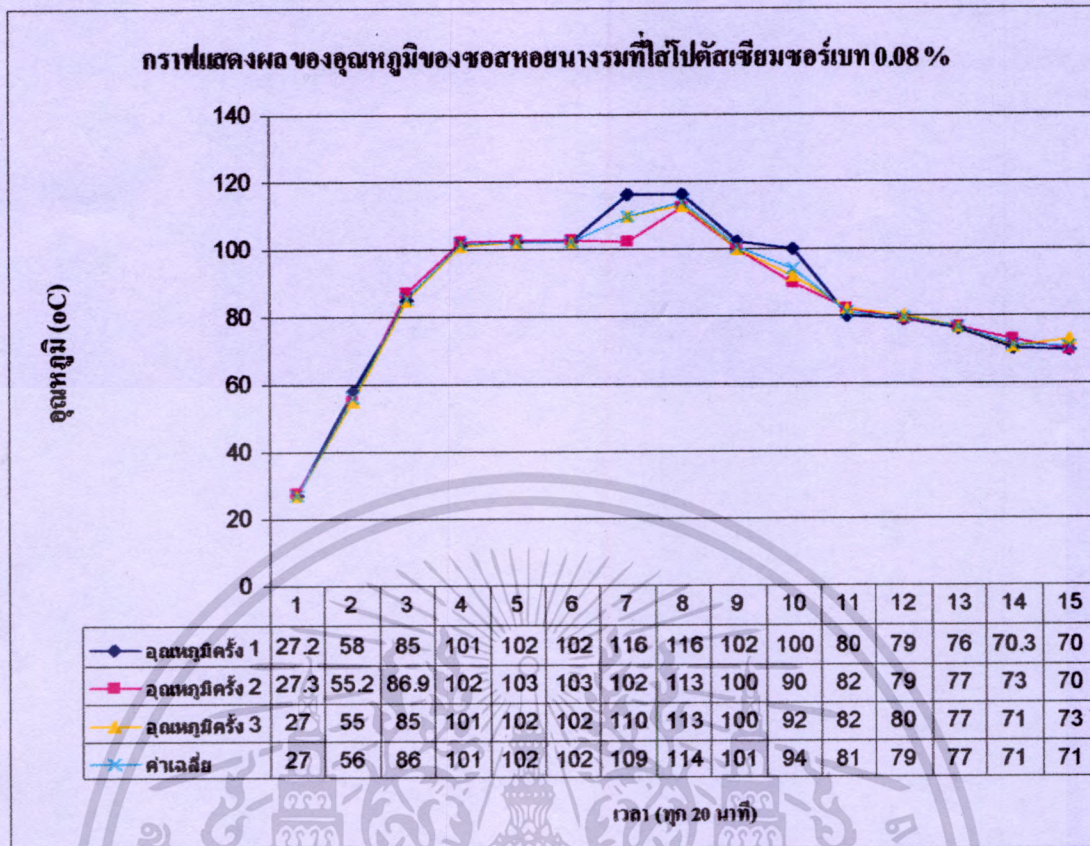
ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ผลทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมสูตรปกติ ที่เติมโปตัสเซียมซอร์เบต 0.08%

หัวข้อการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	ผลการวิเคราะห์		
		1	2	3
Water activity		0.93	0.95	0.95
จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) (cfu/กรัม)	$<1 \times 10^6$	10	$4.5 \times 10^4$	$< 10$
จำนวนยีสต์ (cfu/กรัม)	$<1 \times 10^4$	$<10$	$<10$	$<10$
จำนวนรา (cfu/กรัม)	$<500$	$< 10$	$<10$	$<10$
โคลิฟอร์ม MPN / กรัม	$<3$ MPN	$<3$	$<3$	$<3$
<i>E. coli</i> (cfu/กรัม)	$<3$ MPN	$<3$	$<3$	$<3$
<i>S. aureus</i> (cfu/กรัม)	$< 100$	$<10$	$<10$	$<10$
<i>C. perfringens</i> (cfu/0.01 กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Salmonella (cfu/ 25 กรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>B. cereus</i> (cfu/ กรัม)	$< 100$	$<10$	$<10$	$<10$

จากผลการทดสอบ ค่าทางกายภาพ มีการตรวจสอบ ค่า  $a_w$  ในช่วง  $0.94 \pm 0.01$  ซึ่งมีความเสี่ยงที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ เพราะ แบคทีเรียเจริญได้ดีที่  $a_w$  อยู่ ประมาณ 1.00 เช่น 0.995 ถึง 0.998 (สุมาลี, 2541) และทางจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดอย่างสม่ำเสมอ แสดงว่าวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิตรวมถึงความสะอาดในการล้างภาชนะ น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และสุขลักษณะของพนักงานที่ผลิตนั้น ทำอย่างถูกต้องปลอดภัยต่ออาหาร ดูได้จากผลการวิเคราะห์ที่ได้ ดังตารางที่ 4.5 พบว่า ไม่มีจุลินทรีย์ก่อโรคเกินจากมาตรฐานที่กำหนดไว้

#### 4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการเคี้ยวซอสหอยนางรม

ในขณะที่ทำการทดลอง ได้นำเทอร์โมมิเตอร์ดิจิตอลที่ได้รับสอบเทียบเรียบร้อยแล้ว มาติดตั้งในหม้อต้มซอสหอยนางรม โดยให้หัววัด (probe) อยู่จุดกึ่งกลางหม้อ ในระหว่างการต้มมีการให้บันทึกอุณหภูมิทุก 20 นาที ค่าอุณหภูมิที่ได้เป็นสภาวะจริงที่ผู้ปฏิบัติงานใช้ควบคุมแก๊สให้การต้มเดือดของซอสหอยนางรม โดยการบันทึกอุณหภูมินี้ได้จากการผลิตของซอสหอยนางรมสูตรปกติ และสูตรไม่ใส่โปตัสเซียมซอร์เบต หลังจากเสร็จกระบวนการเคี้ยว ต้มเดือด ได้เก็บตัวอย่างซอสหอยนางรมมาทำการวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ เพื่อเป็นตรวจสอบผลหลังจากการศึกษา ผลของการบันทึกอุณหภูมิดังแสดงในรูปที่ 4.1

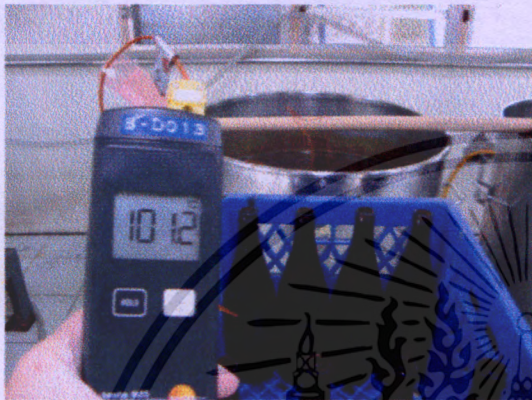


รูปที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างในการผลิตซอสหอยนางรมสูตรปกติ

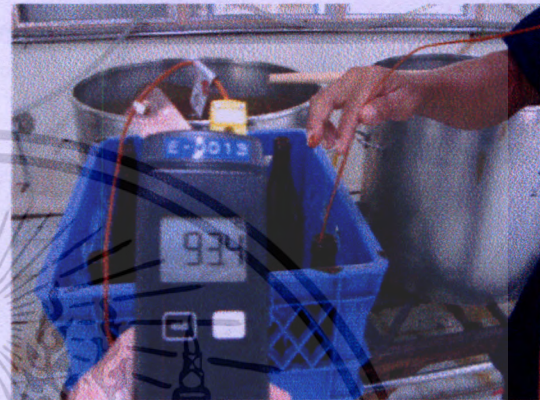
จากภาพที่ 4.1 ในช่วงที่มีการเทส่วนผสมในช่วงแรก ส่วนผสมยังอยู่ในสถานะของเหลว เมื่ออุณหภูมิของซอสหอยนางรมเพิ่มขึ้นถึง 100 องศาเซลเซียส และคัมมานประมาณ 1 ชั่วโมง อุณหภูมิเริ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจาก ในซอสมีปริมาณของแข็งอยู่ ทำให้จุดเดือดของซอสสามารถสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เนื่องจากไม่ใช่น้ำบริสุทธิ์ เมื่อเดือดได้ที่พร้อมกวนอย่างสม่ำเสมอ ลักษณะของซอสหอยนางรมเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง ลักษณะเป็นของเหลว เริ่มข้นหนืดขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะ อุณหภูมิที่ใช้ในการต้มเดือดของซอส ใช้อุณหภูมิตั้งแต่ 100 องศาเซลเซียส ถึง 114 องศาเซลเซียส และ นานกว่า 2 ชั่วโมง ทั้งนี้เป็นเพราะ เนื่องจากความร้อนจะช่วยให้พันธะไฮโดรเจนที่ยึดโครงสร้างภายในเม็ดแป้งแตกออก เม็ดแป้งดูดซึมน้ำได้มากขึ้นเป็นผลให้เกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง และสูญเสียลักษณะของไพริฟรินเจนส์ สารละลายใสและมีความหนืดเพิ่มขึ้น กระบวนการนี้เรียกว่า เจลาติไนเซชัน (gelatinization) (Osmam, 1967) จึงทำให้ซอสหอยนางรมเกิดเป็นเจลขึ้นหนืด และ ใส หลังจากนั้นทำการปิดไฟเตาแก๊ส พร้อมปิดฝา แต่เมื่อวัดอุณหภูมิหลังต้มจะพบว่า อุณหภูมิจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ ทั้งไว้ในหม้อ ประมาณ 2 ชั่วโมงเพื่อรอการกรอกลงขวด อุณหภูมิของซอสหอยนางรมอยู่ในช่วง 90 - 105 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.2) พนักงานต้องกรอกขณะร้อน เพราะ น้ำแป้งที่เป็นส่วนผสมผ่านกระบวนการเจลาติไนเซชัน ยังไม่เข้าสู่ การเกิดรีโทรกราเดชัน (Smith, 1979) คือ การที่น้ำแป้งสุกเย็นตัวลง อะมิโลส อะมิโลเพคติน สามารถจับตัวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

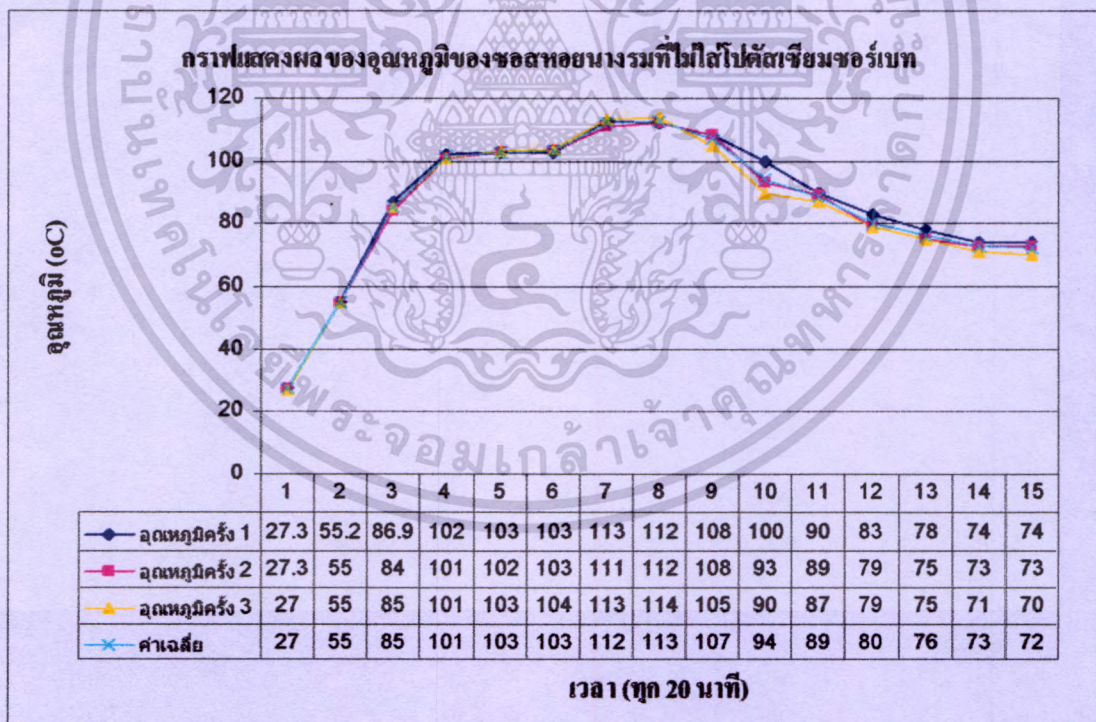
ใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้น้ำแข็งสุกมีความหนืดเพิ่มสูงขึ้น ซอสหอยนางรมจะข้นขึ้นแต่ยังสามารถที่จะกรอกลงขวดได้ แต่ถ้าหาก กรอกที่อุณหภูมิของซอสต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส ซอสจะไม่สามารถกรอกลงในขวดได้ เพราะ ซอสหอยนางรมจะเกิดการข้นหนืด และ เมื่อกรอกลงขวดจะทำให้เกิดฟองอากาศแทรกอยู่ในเนื้อซอส หลังจากการกรอกทำการปิดขวดขณะร้อน อุณหภูมิที่กรอกลงขวดแล้วจะอยู่ในช่วง 88–95 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.2 อุณหภูมิในหม้อก่อนกรอกลงขวด



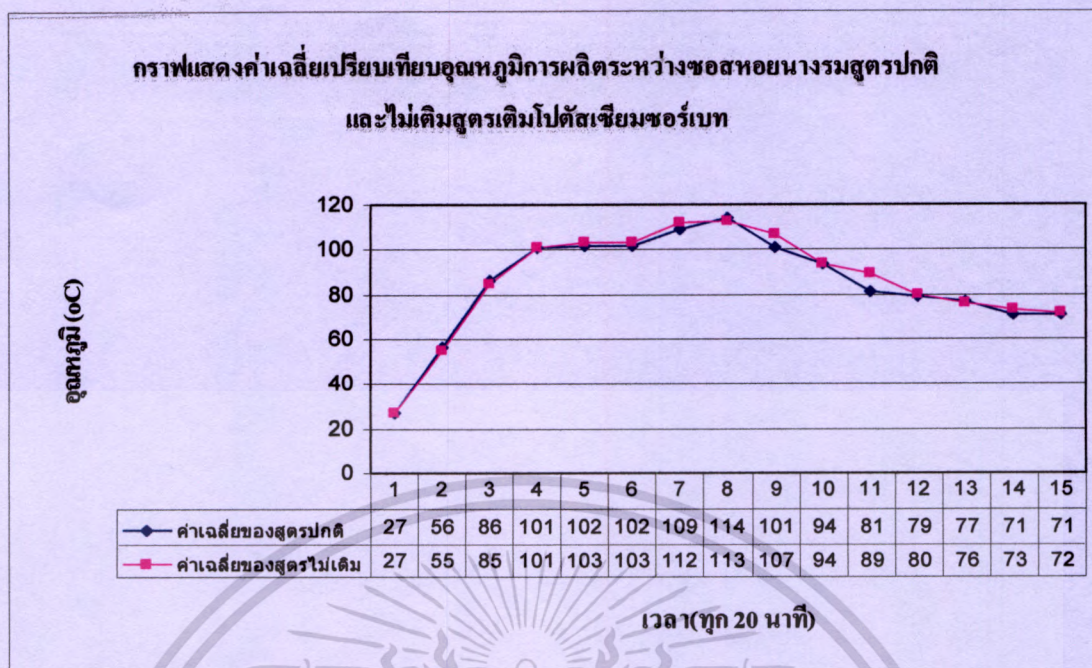
รูปที่ 4.3 อุณหภูมิของซอสในขวด



รูปที่ 4.4 แสดงอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรมสูตรไมโสโปดัสเซียมซอร์เบท

กราฟนี้แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาในการผลิตซอสหอยนางรม โดยมีสูตรไมโสโปดัสเซียมซอร์เบท ลักษณะการเกิดมีลักษณะคล้ายกับสูตรปกติ ดังรูปที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตซอสหอยนางรมสูตรไม่ใส่โปตัสเซียมซอร์เบทและสูตรปกติ

จากรูปที่ 4.5 จะแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิของซอสหอยนางรมเริ่มสูง ถึง 100 องศาเซลเซียส ที่เวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง ทั้งสูตรปกติและสูตรไม่ใส่โปตัสเซียมซอร์เบท ทั้งนี้เป็นเพราะคุณสมบัติของแป้งที่ใช้ในการผลิต ดังนั้น โปตัสเซียมซอร์เบท ไม่ได้ให้ผลการแตกต่างในการเกิดการขึ้นหนืดของแป้งหากใส่ในปริมาณเล็กน้อย (ศศิเกษม, 2530)

#### 4.4 ศึกษาผลของโปตัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้

โดยการทดลองนี้ได้มีการทดลองผลิตซอสหอยนางรมทั้งหมด 2 สูตร โดยมีสูตรปกติ คือ มีปริมาณโปตัสเซียมซอร์เบท 0.08% และสูตรที่ไม่มีการเติมโปตัสเซียมซอร์เบท โดยมีการตรวจ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อดูปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น หากพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เกินจากมาตรฐานที่กำหนดไว้ ก็แสดงว่า อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์หลังเปิดขวดไม่สามารถใช้ได้

ในการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการของภาควิชาสาขาวิชาอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทำการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดตามมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 200 พ.ศ. 2543 เรื่องซอส ในภาชนะบรรจุปิดสนิท

เนื่องจากการทดสอบนี้จัดทำที่ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาของสถาบันฯ จึงต้องทำการเปรียบเทียบวิธีการและความแม่นยำของผู้ทดสอบ โดยการทดสอบตัวอย่างจาก การนำตัวอย่างที่ผลิตจากฐานการผลิตเดียวกันมาทำการตรวจทั้ง 2 ที่ คือกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาของสถาบัน โดยส่งตรวจสูตรปกติอย่างเดียว ผลที่ได้รับ คือ ไม่มีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าที่ได้จากห้องปฏิบัติการของสถาบันฯ ได้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการวิเคราะห์ซอสหอยนางรมสูตรปกติ

หัวข้อการวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน	ผลการวิเคราะห์เฉลี่ยจากกรมวิทย์	ผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
<b>ทางเคมี</b>			
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	6.7	6.7
<b>ทางจุลินทรีย์</b>			
จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) / กรัม	$<1 \times 10^6$	<10	<10
จำนวนยีสต์ / กรัม	$<1 \times 10^4$	<10	<10
จำนวนรา / กรัม	<500	10	<10
โคลิฟอร์ม MPN / กรัม	<3 MPN	<3	<3
อี.โคไล MPN / กรัม	<3 MPN	<3	<3
<i>S. aureus</i> cfu / กรัม	< 100	<10	<10
<i>C. perfringens</i> cfu / 0.01 กรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> cfu / 25 กรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>B. cereus</i> cfu / กรัม	< 100	<10	<10

หมายเหตุ สอดคล้องตามประกาศกระทรวงที่ 200 พ.ศ. 2543

จากการศึกษาพบว่า วิธีการ ผู้ทำการวิเคราะห์ อุปกรณ์ ไม่มีผลทำให้มีความแตกต่างการส่งวิเคราะห์กรมวิทยาศาสตร์ และวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตรใน วัตถุประสงค์ วิธีการผลิต สินค้าสำเร็จรูป ไม่พบค่าของ Coliforms, *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens*, *Salmonella*, *B. cereus* ดังนั้นจึงหยุดการตรวจติดตาม ประกอบกับ การทดลองนี้เป็นการเปรียบเทียบระหว่างการผลิตซอสหอยนางรมสูตรใส่โปแตสเซียมซอร์เบท กับ สูตรที่ไม่ใส่โปแตสเซียมซอร์เบท ซึ่งโปแตสเซียมซอร์เบทเป็นวัตถุดิบเสียที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา (สุมาลี, 2541) และ เมื่อนำผลที่ได้มาประกอบกับเปรียบเทียบกับอุณหภูมิในการต้ม ถือว่าอุณหภูมิในการผลิตที่ใช้อยู่ไม่ทำให้ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์มีปัญหาในเรื่องของ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค คืออุณหภูมิที่ใช้ มากกว่า 100 องศาเซลเซียส และ นานมากกว่า 2 ชั่วโมง

หลังจากผ่านช่วงกระบวนการผลิต ให้นำซอสหอยนางรมที่ผลิต มาทดสอบอายุการเก็บรักษาของซอสหอยนางรมที่มีโปแตสเซียมซอร์เบท และ ไม่มีโปแตสเซียมซอร์เบท จะมีการเสื่อมเสียอย่างไรและอายุการเก็บนานเท่าไร จึงนำมาวิเคราะห์ผลของจุลินทรีย์โดยรวม(TPC), ยีสต์ และ รา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

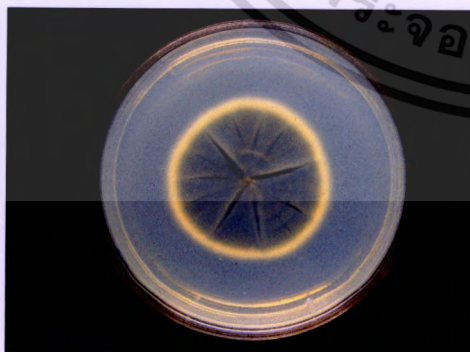


รูปที่ 4.6 ภาพของเชื้อราที่ปรากฏที่ปากขวด

จากการทดลองพบว่าซอสหอยนางรมสูตรที่ไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบทสามารถอยู่ได้มากกว่า 4 สัปดาห์ แต่ถ้าซอสหอยนางรมสูตรที่ไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบทอยู่ได้เพียง 7 วันก็มีการเกิดของเชื้อราที่ผิวหน้าของซอสหอยนางรมที่อยู่ในขวดและเกาะตามผิวด้านในของขวด จึงได้ทำเชื้อราที่พบจากการศึกษาทั้งหมดไปศึกษาหาชนิดของเชื้อราในขั้นต่อไป

#### 4.5 ศึกษาชนิดของเชื้อราที่พบในซอสหอยนางรมที่ไม่ได้ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท

จากการศึกษาซอสหอยนางรมที่ไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท ได้พบว่ามีเชื้อราเกิดขึ้นหลายชนิด จึงทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราที่เกิดขึ้นบนอาหารแข็ง ลงใน หลอดทดลองที่มี potato dextrose agar (PDA) ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีทางชีวภาพแห่งประเทศไทยเพื่อแยกประเภทของเชื้อรา ที่สามารถพบได้ในน้ำซอสหอยนางรม จากการวิเคราะห์ พบว่ามี *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., และ *Eurotium* sp. ดังรูปที่ 4.7 – 4.34



รูปที่ 4.7 *Cladosporium* sp. ยังไม่สร้างสปอร์

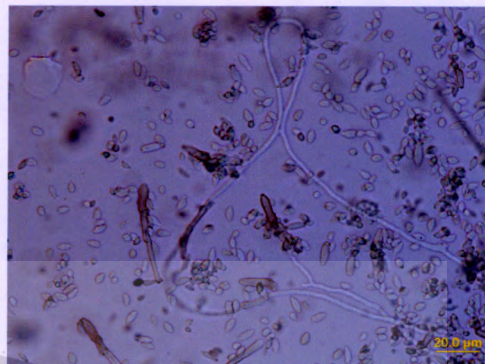


รูปที่ 4.8 *Cladosporium* sp. สร้างสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 *Cladosporium* sp. เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 4.10 *Cladosporium* sp.



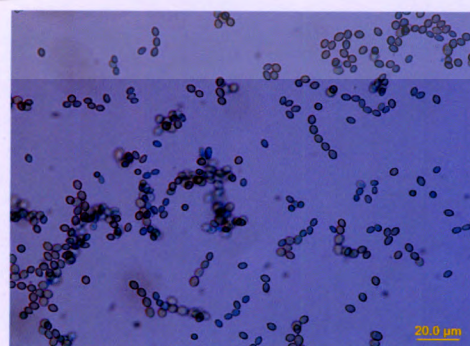
รูปที่ 4.11 *Penicillium* sp. ยังไม่สร้างสปอร์



รูปที่ 4.12 *Penicillium* sp. สร้างสปอร์

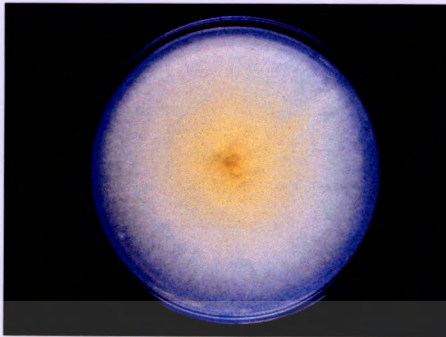


รูปที่ 4.13 *Penicillium* sp.

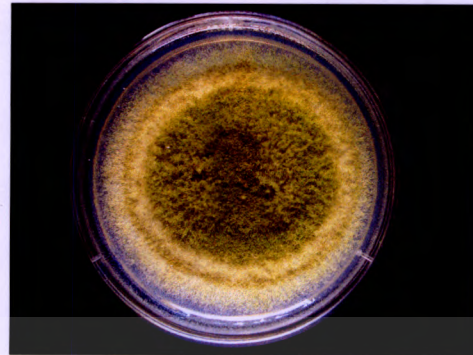


รูปที่ 4.14 *Penicillium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 *Aspergillus* sp. ยังไม่สร้างสปอร์



รูปที่ 4.16 *Aspergillus* sp. สร้างสปอร์

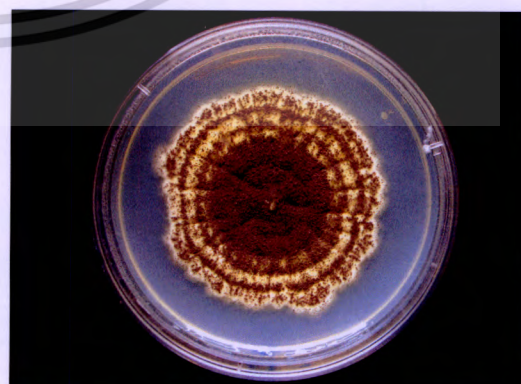


รูปที่ 4.17 *Aspergillus* sp.

รูปที่ 4.18 *Aspergillus* sp.

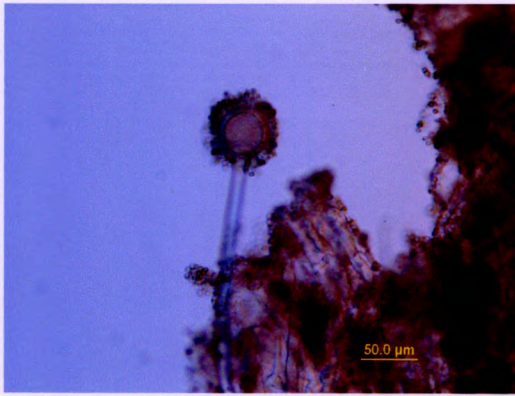
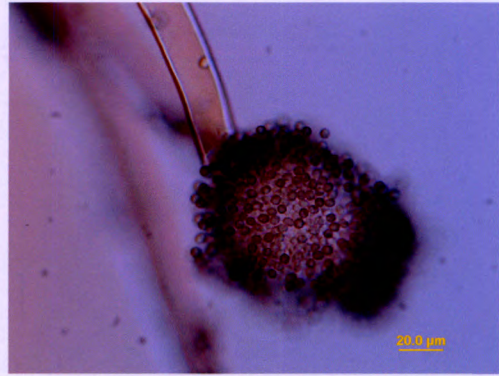
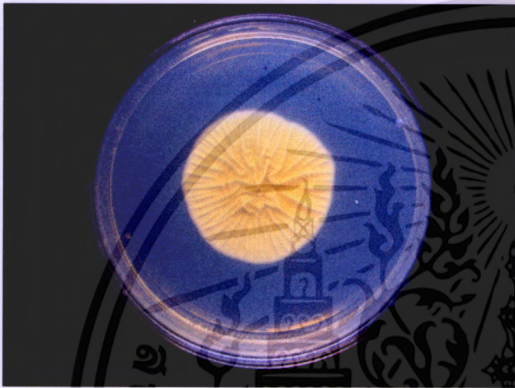


รูปที่ 4.19 *Aspergillus japonicus* ยังไม่สร้างสปอร์

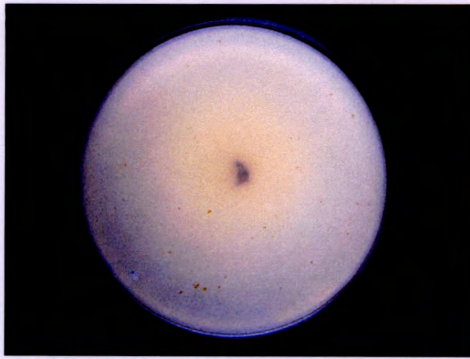
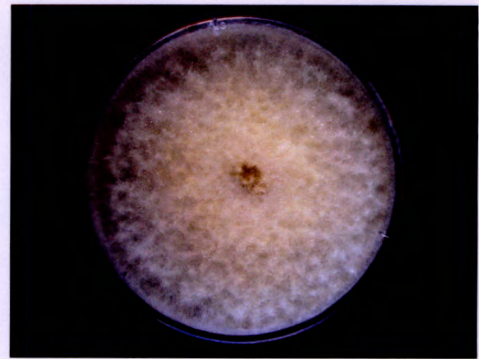
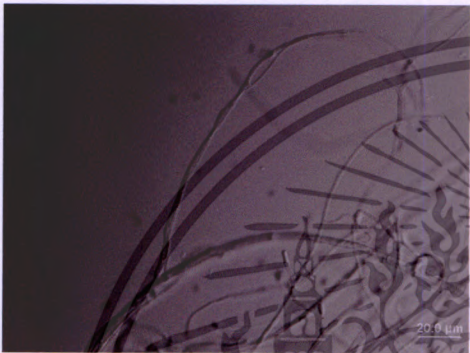
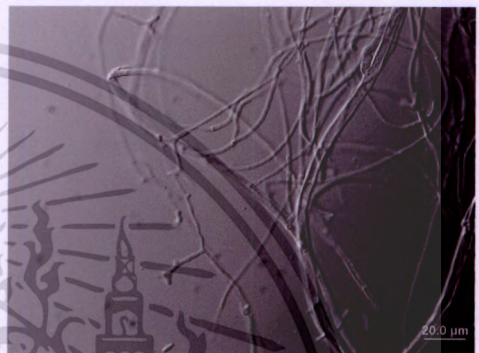
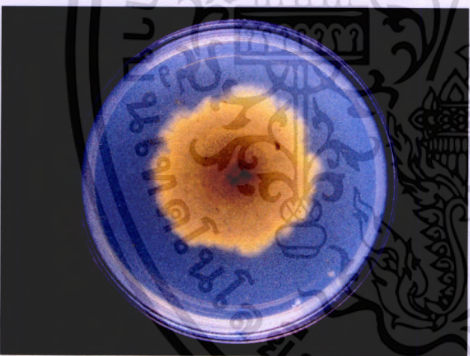
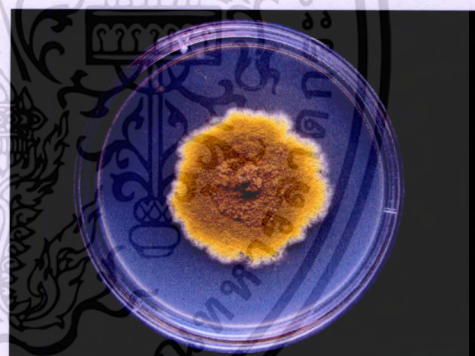
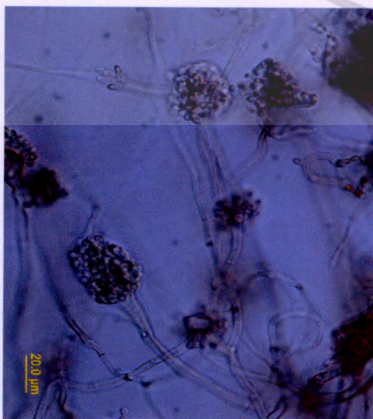
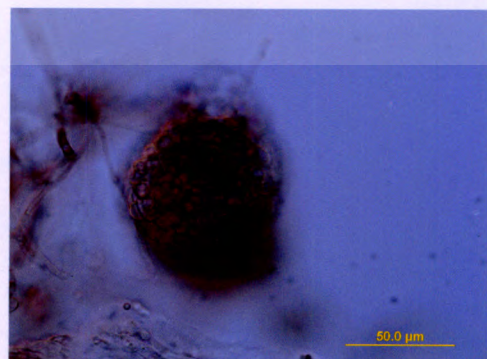


รูปที่ 4.20 *Aspergillus japonicus* สร้างสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.21 *Aspergillus japonicus*รูปที่ 4.22 *Aspergillus japonicus*รูปที่ 4.23 *Penicillium* sp. ยังไม่สร้างสปอร์รูปที่ 4.24 *Penicillium* sp. สร้างสปอร์รูปที่ 4.25 *Penicillium* sp.รูปที่ 4.26 *Penicillium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.27 *Acremonium* sp.รูปที่ 4.28 *Acremonium* sp.รูปที่ 4.29 *Acremonium* sp.รูปที่ 4.30 *Acremonium* sp.รูปที่ 4.31 *Eurotium* sp.รูปที่ 4.32 *Eurotium* sp.รูปที่ 4.33 *Eurotium* sp.รูปที่ 4.34 *Eurotium* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้คุณลักษณะของซอสหอยนางรมที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อราจะพบเชื้อราที่ผิวหน้าของซอสและผิวภาชนะด้านใน ส่วนของซอสจะมีลักษณะที่เหลวขึ้นอย่างมาก และมีกลิ่น คล้ายแอลกอฮอล์ เนื่องจาก เชื้อรา มีการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต (Grishuin, 2006) ทำให้ สภาพของการเกิดเจลาตินในสัมีการเปลี่ยนสภาพ ไปอันเนื่องจากเชื้อมีการย่อยสลายโครงสร้างให้สายพันธะสั้นลง สภาพข้นหนืดหมดสภาพไป จึงสรุปได้ว่า ถ้า ซอสหอยนางรมที่ใช้อุณหภูมิในการต้มอย่างเดียวยังไม่สามารถที่จะยับยั้งเชื้อราได้ แต่ถ้าซอสหอยนางรมที่มีการใส่โปแตสเซียมซอร์เบต จะพบว่า ไม่พบเชื้อรา และ ยีสต์ ถึงจะเปิดขวดซอสหอยนางรมไว้นานถึง 1 เดือน แต่อาจพบปริมาณ แบคทีเรียมีพบอยู่บ้าง แต่ยังไม่เกินจากมาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้

#### 4.6 ศึกษาความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบต ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ

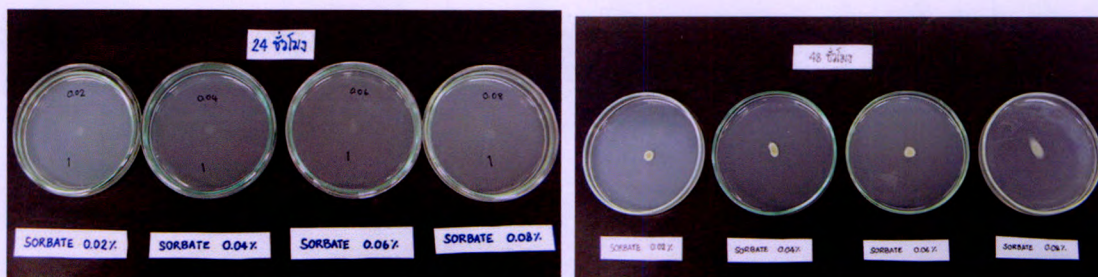
เมื่อได้เชื้อราจากการทดลองที่ 4.5 จึงนำเชื้อราในแต่ละประเภทมาทำการทดสอบกับโปแตสเซียมซอร์เบต ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ ที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำ 3 ซ้ำ โดยนำเชื้อราที่เพาะไว้ในหลอดทดลอง นำมาปรับความเข้มข้น และ หยดลงไปที่กึ่งกลางของ จานเพาะเชื้อ ในปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร ถ้าเปรียบเทียบความเข้มข้นของเชื้อ คือ  $10^6$  พบว่า มีผลไปในทิศทางเดียวกันคือ เชื้อราทั้ง 7 ชนิดสามารถเกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบตที่แตกต่างกัน ตัวควบคุมที่ใช้คือ PDA ที่ไม่ใส่โปแตสเซียมซอร์เบต ทำการนับเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นทั้งหมด ที่ ความเข้มข้น  $10^4$  ผลการทดลองปรากฏในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลของเชื้อราทั้ง 7 ชนิด กับ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปแตสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้นแตกต่างกันที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08%

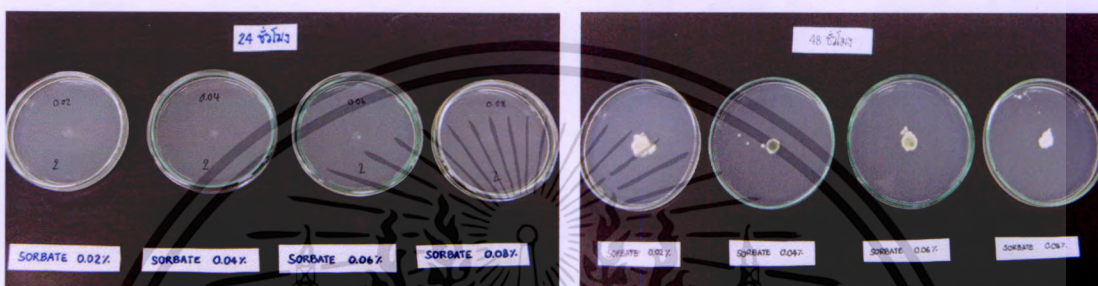
ชนิดของเชื้อรา	ตัวควบคุม	ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบต			
		0.02%	0.04%	0.06%	0.08%
ตัวควบคุม	0				
1. <i>Cladosporium</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
2. <i>Penicillium</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
3. <i>Aspergillus</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
4. <i>Aspergillus japonicus</i>	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
5. <i>Penicillium</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
6. <i>Acremonium</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ
7. <i>Eurotium</i> sp.	TNTC	พบ	พบ	พบ	พบ

หมายเหตุ TNTC = To number too count

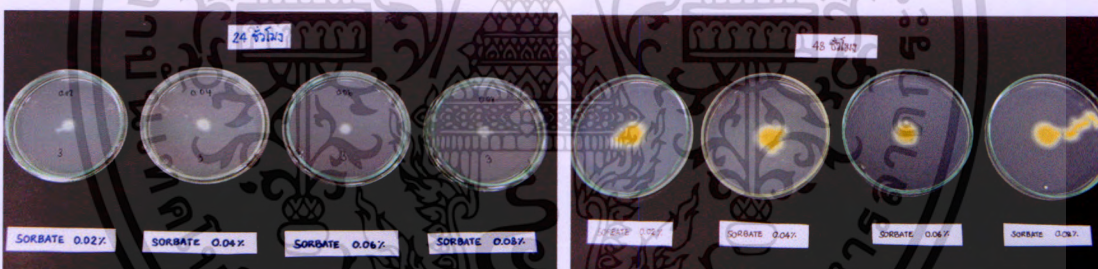
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



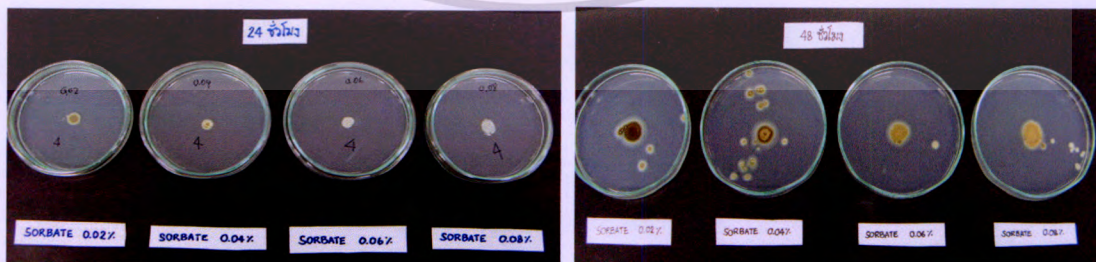
รูปที่ 4.35 ผลของเชื้อรา *Cladosporium* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.36 ผลของเชื้อรา *Penicillium* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง

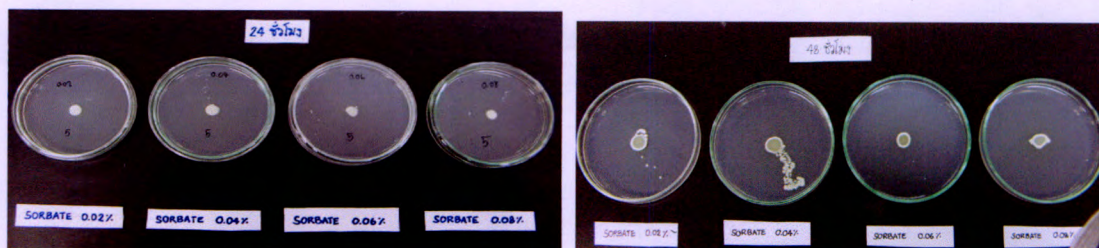


รูปที่ 4.37 ผลของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง

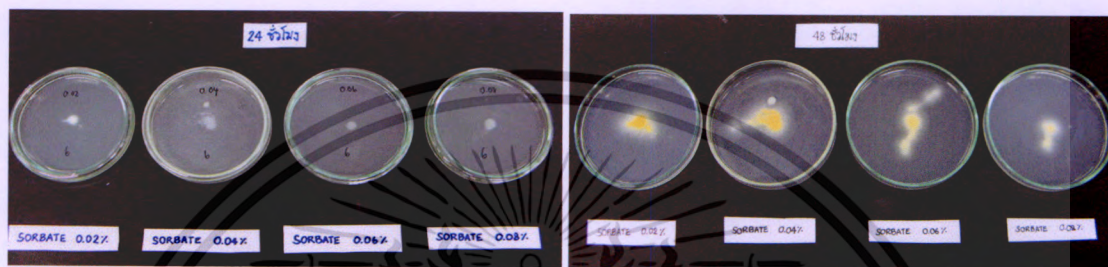


รูปที่ 4.38 ผลของเชื้อรา *Aspergillus japonicus* ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.39 ผลของเชื้อรา *Penicillium* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.40 ผลของเชื้อรา *Acremonium* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.41 ผลของเชื้อรา *Eurotium* sp. ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีความเข้มข้นที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง

จากการทดลองพบว่าเชื้อราทั้ง 7 ชนิดนี้ไม่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตโดยโปตัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่างเดียว เพราะ สามารถพบเห็นเชื้อราเกิดขึ้นบนอาหารที่มีโปตัสเซียมซอร์เบททั้งความเข้มข้นที่ 0.02% จนถึง 0.08% แต่จะพบว่าเห็นว่ามี เมื่อ เวลาที่ 24 ชั่วโมง จะเริ่มเห็นความขุ่นของเชื้อรา *Aspergillus japonicus* มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าเชื้อราชนิดอื่นๆ ที่นำมาทดลอง และเชื้อรา *Eurotium* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าเชื้อราชนิดอื่นๆ ที่นำมาทดลอง ดังนั้น หากอ่านผลในเวลา 48 ชั่วโมง จะไม่สามารถเห็นอัตราการเติบโตที่แตกต่างกัน ดังนั้น การทดลองนี้พบว่าโปตัสเซียมซอร์เบท สามารถชะลอการเติบโตของเชื้อราได้ในช่วงแรก แต่ถ้าหากปริมาณเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์มากขึ้นทำให้ ความสามารถของโปตัสเซียมซอร์เบทที่มีอยู่ในอาหารลดลงและไม่สามารถชะลอการเติบโตได้ ดังนั้นความเข้มข้นของโปตัสเซียมซอร์เบท มีผลต่อการชะลอการเติบโตของเชื้อราในช่วงแรกเท่านั้น อย่างไรก็ตาม ในการผลิตซอสหอยนางรมนี้ เราจะไม่เอกลำนี้เป็นเอกลำที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถใช้ โปดัสเซียมซอร์เบทอย่างเดี่ยวได้ จึงจะต้องหาวิธีการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ให้ลดลง ด้วยจึงได้มีการนำเชื้อราที่ได้ไปศึกษาเรื่องของอุณหภูมิและความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราเป็นเพราะ โปดัสเซียมซอร์เบทจัดเป็นสารกันบูดที่มี องค์ประกอบของกรดที่ไม่แตกตัวจะมีผลต่อต่อต้านจุลินทรีย์ เพราะว่าสารประกอบของส่วนที่ไม่แตกตัว จะเคลื่อนผ่านผนังเนื้อเยื่อชนิดกึ่งยอมให้ผ่านของเซลล์จุลินทรีย์ และไปทำให้เกิดผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์ (ไพบูลย์, 2532)

โปดัสเซียมซอร์เบทจัดเป็นสารกันบูดชนิดหนึ่งจะไปชะงักปฏิกิริยาของเอนไซม์บางตัว หรือ การสังเคราะห์เอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งยังมีผลให้ไปชะงักเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึม หลัก ของเซลล์ หรือ การสังเคราะห์ส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ เช่น การสังเคราะห์โปรตีนหรือการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก สารกันบูดอาจจะสามารถไปชะงักกิจกรรมต่างๆในเซลล์ร่างกายของมนุษย์ได้เช่นกัน แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารกันบูดที่มีผลต่อเอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์จะมีอันตรายต่อมนุษย์หรือไม่ ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญที่ใช้ประเมินผลดังกล่าวได้แก่ ความเข้มข้นของสารกันบูดที่ใช้ ซึ่งปกติพบว่า ปริมาณที่ใช้กับจุลินทรีย์มีค่าต่ำกว่าที่จะไปมีผลต่อมนุษย์ นอกเสียว่าสารกันบูดนั้นเป็นสารชนิดที่สามารถสะสมในร่างกายมนุษย์ได้ แต่สารกันบูดส่วนใหญ่ เช่น กรดซอร์บิกจะสลายตัวในร่างกายได้รวดเร็วและถูกขับออกจากร่างกาย จึงไม่มีผลตกค้างอยู่ในร่างกาย (Lueck, 1980)

#### 4.7 ศึกษาผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบ

ในการทดลอง นำเชื้อราทั้ง 7 ชนิด ผสมในอาหารเหลวที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และ นำคัมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ ตรวจสอบเชื้อรา (การเตรียมตัวอย่าง แนบใน ภาคผนวก ข.) โดยการดูอาหารเหลวที่มีการผสมเชื้อราและ โปดัสเซียมซอร์เบท มาวิเคราะห์เชื้อทุก 15 นาที โดยทำ 3 ซ้ำ แสดงผลในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Cladosporium* sp. ในสารละลายที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$4.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	3000	<100	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในสารละลายที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$2.75 \times 10^7$	$2.75 \times 10^7$	$2.75 \times 10^7$	$2.75 \times 10^7$	$2.75 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	2600	150	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

ตารางที่ 4.11 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ในสารละลายที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	3000	<100	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Aspergillus japonicus*. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	2500	<100	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

ตารางที่ 4.13 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Penicillium* sp. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$3.65 \times 10^7$	$3.65 \times 10^7$	$3.65 \times 10^7$	$3.65 \times 10^7$	$3.65 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	25000	1625	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	3000	125	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

ตารางที่ 4.14 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Acremonium* sp. ในสารละลายที่มีโปรตีนเชื่อมซอร์เบทที่แตกต่างกันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$2.8 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$
15 นาที ( $1 \times 10^2$ )	250	<100	<100	<100	<100
30 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
45 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 นาที ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงปริมาณของเชื้อรา *Eurotium* sp. ในสารละลายที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่แตกต่างกัน  
กันในการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เก็บมาวิเคราะห์ทุก 15 นาที

เวลา \ ความเข้มข้น	0% SB	0.02% SB	0.04% SB	0.06% SB	0.08% SB
	ปริมาณเชื้อรา cfu/ กรัม				
0 นาที ( $1 \times 10^2$ )	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$
15 min ( $1 \times 10^2$ )	600	<100	<100	<100	<100
30 min ( $1 \times 10^2$ )	120	<100	<100	<100	<100
45 min ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100
60 min ( $1 \times 10^2$ )	<100	<100	<100	<100	<100

จากผลการศึกษาพบว่าโปดัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่างเดียว หรือ ใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถยับยั้ง เชื้อราทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus japonicus*., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., และ *Eurotium* sp. เนื่องจาก การใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวจะได้ผลดีในช่วงแรกเท่านั้น จากการทดลองพบว่า สปอร์เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในอากาศไม่ว่าจะเป็น *Bacillus* sp. หรือ เชื้อรา สามารถกลับมาปนเปื้อนภายใน 7 วัน หลังการเปิดขวด ทำให้อายุการเก็บรักษาของซอสหอยนางรมเก็บไว้ได้ไม่นาน หรือหากใช้โปดัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่างเดียวฤทธิ์ของโปดัสเซียมซอร์เบท ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากกระบวนการผลิตได้แต่อาจจะลดการเจริญแต่ไม่ยับยั้งเชื้อราที่มีการปนเปื้อนได้ แต่ถ้าหากจุลินทรีย์เริ่มต้นมีปริมาณที่สูงโดยเฉพาะเชื้อรา จะทำให้ฤทธิ์ของโปดัสเซียมซอร์เบทจะลดลง และไม่สามารถต้านทานการปนเปื้อนภายหลังได้ ทำให้การเก็บรักษาซอสหอยนางรมเก็บไว้ได้ไม่นาน แต่ถ้าหากใช้ปัจจัยต่างรวมกัน ทั้ง อุณหภูมิ เวลา และโปดัสเซียมซอร์เบท จะทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และการเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยอุณหภูมิที่สูงมากกว่า 100 องศาเซลเซียส นาน มากกว่า 2 ชั่วโมง จะทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบและกระบวนการผลิตให้หมดไป และ โปดัสเซียมซอร์เบท จะช่วยชะลอการเกิดเชื้อราที่มีโอกาสปนเปื้อนจากอากาศหลังจากเปิดใช้ ทำให้อายุของซอสหอยนางรมอยู่ยาวนานมากขึ้น เป็นเพราะ การใช้โปดัสเซียมซอร์เบทซึ่งเป็นสารกันบูดชนิดหนึ่ง เมื่อใช้ร่วมกับความร้อน อุณหภูมิและเวลาที่ต้องการใช้สำหรับการทำลายจุลินทรีย์ในการแปรรูปที่เติมสารกันบูดโดยวิธีการใช้ความร้อน จะพบว่าต้องการใช้สารน้อยกว่าตัวอย่างอาหารที่ไม่มีสารกันบูด จุลินทรีย์ในอาหารที่มีสารกันบูด จะถูกทำลายได้เร็วกว่าตัวอย่างอาหารที่ไม่มีสารกันบูดที่อุณหภูมิเดียวกัน (ไพบูลย์, 2532)

#### 4.8 การประเมินขั้นตอนของ การวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม ในกระบวนการผลิตน้ำมันหอย

นำผลการวิเคราะห์และมาตรการควบคุมมาพิจารณาหาจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมโดยใช้ Decision tree ช่วยในการตัดสินใจ ดังแสดงในตารางที่ 4.16



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต่อควบคุม (CCP) ในวัตถุดิบและขั้นตอนการผลิตน้ำมันหอย

หมายเลข	ชื่อวัตถุดิบ/ส่วนผสม	Go to Q2		CCP		Go to Q3		Go to Q4		มาตรการป้องกัน	มาตรการเฝ้าระวัง	มาตรการแก้ไข	หมายเหตุ
		ใช่	ไม่ใช่	ใช่	ไม่ใช่	ใช่	ไม่ใช่	ใช่	ไม่ใช่				
1	น้ำตาก	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
2	ซังน้ำตาก	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
3	เมล็ดป่าน	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
4	ซังเมล็ดป่าน	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
5	ผงชูรส	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
6	ซังผงชูรส	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
7	น้ำปลา	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
8	ซังน้ำปลา	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
9	โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง	C		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
10	ซังโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง	C		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
11	น้ำ	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP
12	ซังน้ำ	B		ไม่	การปนเปื้อนจากถังเก็บน้ำตากที่รวมไว้ซึ่งสามารถเปิดหรือเพิ่มจำนวนของภาชนะที่เชื่อมกันได้หรือไม่	ไม่		ไม่		ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	CCP

เอกสารนี้เป็นเอกสารเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ตารางที่ 4.16 (ต่อ)

ปี	Q1		Q2		Q3		Q4		หมายเหตุ
	ใช่	Go to Q2 หมายเหตุ*	ใช่	CCP Go to Q3	ใช่	การไปเยือนจากต่างประเทศ ว่าขึ้นสามารถเกิดหรือเห็น จำนวนและช่วงการรับที่ยอมรับ ได้ หรือไม่	ใช่	มีบันทึกต่อไปที่จะกำจัดหรือลด อันตรายให้อยู่ในระดับที่ยอมรับ หรือไม่	
ปี	วัตถุประสงค์/ กิจกรรมของ ภาควิชา/ คณะกรรมาธิการ	ปี	ปี	ปี	ปี	ปี	ปี	ปี	ปี
22	รังคิน	-	-	-	-	-	-	-	-
23	ผสมส่วนผสมโดยผ่านตะแกรง กรวด 60 mesh	P	เสนอแผนการทางวัสดุ	ไปเรียน GMP การตรวจสอบและซ่อมบำรุงและมีการตรวจสอบหลัง การใช้งานทุกครั้ง	Y	Y	Y	Y	OPRP2
24	รวมด้วยไม้ทอที่ 100 - 120" ขนาด 2 ชั่วโมง	P	เศษ ไม้ที่เกิดจากไม้ทอชำรุด	ไปเรียน GMP การตรวจสอบและซ่อมบำรุงและมีการตรวจสอบหลัง การใช้งานทุกครั้ง	Y	N	N	N	Not a CCP
25	ปิดฝาถังนาน 2 ชั่วโมง	B	เชื้อจุลินทรีย์ที่ไปปนเปื้อนมาจากอุปกรณ์ที่ ไม่ถูกต้องจากถังคอนกรีต	การใช้งาน ชั่วโมง	Y	Y	Y	Y	CCP1
26	เคลื่อนย้ายของบรรจุ	-	-	-	-	-	-	-	-
27	ล้างขวด	P	เศษแก้วจากการแตกของขวดขณะล้าง	ไปเรียน GMP ซึ่งเป็นการตรวจสอบขวดแก้วและการล้าง	Y	Y	Y	Y	OPRP4
28	เคลื่อนย้ายขึ้นบนอาคาร	-	-	-	-	-	-	-	-
29	ตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง	-	-	-	-	-	-	-	-
30	กรองและปิดฝาขวด	-	-	-	-	-	-	-	-
31	แช่ในเครื่องล้างขวดและหล่อให้เย็น	-	-	-	-	-	-	-	-
32	ปิดฉลาก	-	-	-	-	-	-	-	-
33	บรรจุกล่อง	-	-	-	-	-	-	-	-
34	เก็บผลิตภัณฑ์	-	-	-	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 การกำหนดค่าวิกฤต การตรวจติดตาม และการแก้ไข

CCP no	อันตราย / สาเหตุหรือแหล่งที่มาของอันตราย	มาตรการควบคุม (control measure)	ค่าวิกฤต (Critical limit)	การตรวจติดตาม (Monitoring)	การแก้ไข (Corrective action)
CCP 1	เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ที่ปนเปื้อนมาจากชิ้นคอนอื่นๆ	1. ความร้อน และเวลาในการเกี่ยวข้องของขนารวม	1. อุณหภูมิ > 100 °C 2. เวลา นาน > 2 ชั่วโมง	ตรวจสอบ : อุณหภูมิในการเคียว ไม่ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมง อย่างไร : ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่สอบเทียบเรียบร้อยแล้ว เมื่อไร : ตั้งแต่ ซอเสริมเคียวที่ 100 องศาเซลเซียส ตรวจโดย : พนักงานที่ปฏิบัติงาน ณ จุดปฏิบัติงาน บันทึก : แบบฟอร์มการบันทึกอุณหภูมิการผลิต	สินค้า 1. หากพบว่ามีการเติมไปตติเชื่อมเกินมาตามฐานในช่วงที่เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ทำลายทิ้ง 2. หากพบว่ามีการเติมไปตติเชื่อมซอร์เบท แต่อุณหภูมิไม่ถึง ให้เพิ่มความแรงของเขาหรือ อปติขึ้นแก๊สใหม่ และศึกษานานขึ้น 3. ในกรณีที่เป็นการเติมค่าสำเร็จรูปแตกต่างจากอุณหภูมิและเวลาไม่ได้ตามมาตรฐานให้ทำการทำลายทิ้ง หรือนำมาผลิตใหม่ แต่ทั้งนี้ต้องระวังเรื่องคุณภาพของซอหอยขนารวมด้วย

จากการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมสำหรับกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม โดยใช้ค่าตามจาก Decision tree สามารถกำหนดจุด CCP ได้ทั้งหมด 1 จุด ดังนี้

CCP 1 อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ในขั้นตอนการกวนซอสหอยนางรม

#### การกำหนดค่าวิกฤติ การตรวจติดตาม และการแก้ไข

ในขั้นตอนที่เป็นจุด CCP นำมากำหนดค่าวิกฤติสำหรับมาตรการป้องกันแต่ละอันตราย พร้อมทั้งศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจติดตามมาตรการป้องกันว่าสามารถควบคุมแต่ละอันตราย ในจุด CCP ให้อยู่ภายใต้ค่าวิกฤติที่กำหนด และศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการแก้ไข ในกรณีที่พบว่าผลจากการตรวจติดตามอาจเกิดการเบี่ยงเบนไปจากค่าวิกฤติที่กำหนด ผลดังแสดงในตารางที่ 4.17

นอกจากจุด CCP ที่ต้องมีการตรวจตามที่กำหนด ระบบการจัดการด้าน GMP บางจุดก็ก็ต้องมีความเข้มงวดเช่นกัน เรียกว่า operational prerequisite program(OPRP) ในแต่ละ OPRP อธิบายในตารางที่ 4.18 เช่น

OPRPI ขั้นตอนการซั่งสาร ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ต้องการควบคุมผู้ปฏิบัติงาน ณ จุดซั่งสารกันบูดเป็นพิเศษ หาก ถ้าผู้ซั่งสาร ไม่ได้รับการอบรม อาจทำให้เกิดการซั่งปริมาณสารที่เกินจากมาตรฐานกำหนด หรือ หากใส่ปริมาณที่น้อยเกินไป จะมีผลต่อคุณภาพของซอสหอยนางรม

OPRP2 ขั้นตอนการใช้ตะแกรงเพื่อกรองเศษที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ หรือ ภาชนะ โดยที่ตะแกรงมีขนาด รู 60 mesh ดังนั้นถ้าถึงปลอมปนที่จะต้องไม่ผ่านตะแกรง หาก ตะแกรงเกิดชำรุดทำให้สิ่งปลอมปนสามารถผ่านรอยชำรุดและปนเปื้อนกับผลิตภัณฑ์ สิ่งปลอมปนอาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ดี ตะแกรงนี้จำเป็นต้องตรวจทุกครั้งหลังจากการกรอง เนื่องจาก หาก มีชิ้นส่วนใดของตะแกรงหลุดปนเปื้อนไปกับซอส ถือว่า ซอสมีการปนเปื้อนของโลหะ จะต้องมีการจัดการกับผลิตภัณฑ์ เช่น นำไปกรองใหม่ หรือ ทิ้ง

OPRP3 โลหะหนักที่ปนเปื้อนมาจาก วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งควบคุมจาก ใบวิเคราะห์วัตถุดิบจากผู้ขาย และ ผลการตรวจติดตาม ที่ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

OPRP 4 เศษแก้วในช่วงขั้นตอนการล้างขวดแก้ว และ บรรจุขวดแก้ว จุดนี้ต้องระวังเรื่องเศษแก้วที่อาจจะปนเปื้อนในขณะที่ล้างขวด และมีเศษแก้วเล็กหลุดเข้าไปในขวด ดังนั้นหากพบว่ามี การแตกของขวดในถังที่ล้าง ให้ทำการล้างขวดทั้งหมดในถังใบนั้นอีกครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าจะ ไม่มีเศษแก้วในการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 การกำหนดมาตรการควบคุมของ Operational PRP

OPRP No.	อันตราย / สภาพที่ หรือ เหตุการณ์ของอันตราย	มาตรการควบคุม (control measures)	คริติกัลลิที (Critical limit)	การตรวจติดตาม (Monitoring)	การแก้ไข (Corrective action)
OPRP1	ปริมาณโปรตีนไขมันเกินมาตรฐาน	1. โปรแกรมการฝึกอบรมพนักงานที่ดูแลจุดตรวจสอบ 2. การทวนสอบบันทึกการปริมาณการใช้ต่อวัน	ห้ามเกิน 1000 ppm (มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม)	ตรวจสอบ : วัดความเข้าใจของพนักงานที่จุดจำหน่าย อย่างไร : จัดให้มีการฝึกอบรมและวัดผล : ทบทวนปริมาณการใช้ในแต่ละวัน เมื่อไร : เมื่อเปลี่ยนพนักงานใหม่ หรือ ทบทวนอย่างน้อยปีครึ่ง ตรวจสอบโดย : หัวหน้างาน บันทึก : แบบฟอร์มการบันทึกการใช้สาร	สินค้า 1. หากพบว่ามีปริมาณโปรตีนไขมันเกินมาตรฐานในช่วงที่เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ทำลายทิ้ง 2. ในกรณีที่สินค้าสำเร็จรูปแต่พบว่าคุณภาพและเวลาไม่ได้ตามมาตรฐานให้ทำการทำลายทิ้ง หรือ นำมาผลิตใหม่ แต่ทั้งนี้ต้องระวังเรื่องคุณภาพของสอหอยนางรมด้วย
OPRP2	เศษโลหะที่มาจากภากรรจุของ ตะแกรงกรอง	1. ต้องตรวจสอบสภาพของตะแกรง ทุกครั้งก่อนใช้และหลังใช้	ต้องไม่ชำรุด (defect = 0)	ตรวจสอบโดย : สภาพของตะแกรงต้องไม่ชำรุด อย่างไร : ใช้สายตาในการตรวจสอบ เมื่อไร : ทุกครั้งก่อนใช้และหลังใช้ ตรวจสอบโดย : พนักงานที่ปฏิบัติงาน ณ. จุดปฏิบัติงาน บันทึก : แบบฟอร์มการบันทึกการตรวจสอบตะแกรง	สินค้า 1. หากพบว่ามีภากรรจุของตะแกรงให้ทำการกรองผ่านตะแกรงตัวใหม่และหาเศษตะแกรงที่ชำรุดมาให้ 2. หากพบทราบภายหลังที่ซอตก็ควได้ก็แล้ว ผู้บริหารจะต้องพิจารณาความเสียหายถึง สินค้าควรเอาไปทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 (ต่อ)

OPRP no.	ฉันทะ/ สายๆ หรือ แหล่งที่มาของอันตราย	มาตรการควบคุม (control measure)	ศักยภาพ (Catastrophic)	การตรวจติดตาม (Monitoring)	การแก้ไข (Corrective action)
OPRP3	โลหะหนัก เช่น บรอก, ตะกั่ว สารหนู	ให้ตรวจสอบในใบCOA ทุกครั้งที่มีการรับวัตถุดิบเข้ามา	ค้างคือไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ตามประกาศกระทรวง	ตรวจอะไร : ปริมาณสาร โลหะหนักปนเปื้อน อย่างไร : อุดทาบ COA เมื่อไร : ทุกครั้งเมื่อวัตถุดิบเข้ามา ตรวจโดย : พนักงานที่ปฏิบัติงาน ณ. จุดปฏิบัติงาน บันทึก : แบบฟอร์มการบันทึกการตรวจรับวัตถุดิบ	สินค้า 1. หากพบว่ามีค่าเกินกว่ามาตรฐานให้ทำการคืนสินค้า
OPRP4	เศษแก้วที่ปนเปื้อนจากสารสังฆวดแก้ว	1. ทำการล้างและตรวจสอบ 100% ก่อนการใช้งาน	ต้องไม่ชำรุด (defect = 0)	ตรวจอะไร : ขวดแก้ว อย่างไร : ใช้สายตา เมื่อไร : ทุกครั้งก่อนการขนส่งขวด ตรวจโดย : พนักงานที่ปฏิบัติงาน ณ. จุดปฏิบัติงาน บันทึก : แบบฟอร์มการบันทึกการตรวจขวดแก้วก่อนการใช้งาน	สินค้า 1. หากพบว่ามี การแตกของขวดขณะสั่งให้ทำการเทน้ำทิ้งและ สังฆวดในอ่างน้ำใหม่ 100%

และในกระบวนการวิเคราะห์อันตรายต้องมีการทวนสอบระบบ (Verification) ดังนั้น จะต้องจัดตั้งทีมเพื่อทำการทบทวนคุณภาพภายใน เพื่อให้มั่นใจว่า เรามีการจัดการด้านคุณภาพเป็นอย่างดี โดยปฏิบัติตามทวนสอบระบบตามตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 แผนการทวนสอบ

กิจกรรมการทวนสอบ	วิธีการ	ความถี่	ผู้รับผิดชอบ	บันทึก
1. GMP audit	GMP checklist	ทุกเดือน	หัวหน้างาน	GMP audit report
2. การตรวจติดตามคุณภาพภายใน	ตรวจประเมิน (audit)	ทุก 3 เดือน	ผู้จัดการ	Audit report
3. การทบทวนคุณภาพภายใน	ประชุม ทบทวน	ทุก 3 เดือน	ผู้จัดการ	บันทึกการทบทวน
4. การตรวจผลิตภัณฑ์สุดท้าย	ส่งกรมวิทยาศาสตร์บริการ	ทุก วัน การผลิต	ผู้จัดการ	ผลการตรวจ
5. การสอบเทียบอุปกรณ์วัดที่จุด CCP 5.1 เทอร์โมมิเตอร์	สอบเทียบ	ทุกปี	ผู้จัดการ	รายงานการสอบเทียบ
5.2 นาฬิกา	สอบเทียบ	ทุกปี	ผู้จัดการ	รายงาน/บันทึกการสอบเทียบ
5.2 ตาชั่ง	สอบเทียบ	ทุกปี	ผู้จัดการ	รายงานการสอบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษานี้ได้นำหลักการระบบการวิเคราะห์อันตรายและการควบคุมจุดวิกฤติ (Hazard Analysis Critical Control Point : HACCP) มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม โดยการวิเคราะห์อันตรายทางด้านเคมี ด้านชีวภาพ และด้านกายภาพ ของวัตถุดิบ จนกระทั่งเป็นผลิตภัณฑ์ โดยการศึกษาก็เริ่มจากการประเมินความเสี่ยงของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต แป้ง และ น้ำ ถือว่าเป็นวัตถุดิบหลักสำคัญ จึงนำมาวิเคราะห์อันตรายและสังเกตจุดวิกฤติที่ก่อโรคที่อาจพบได้ในวัตถุดิบหลัก ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ส่วนวัตถุดิบรองเช่น น้ำตาล น้ำปลา หรือ วัตถุดิบอื่นๆ เราควบคุมจาก ใบวิเคราะห์ (Certificate of Analysis: COA) จากผู้ผลิต หลังจากนั้นได้นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่ผลิตจากแป้ง น้ำ โดยแป้งทำการตรวจจุลินทรีย์ก่อโรคตามมาตรฐานของสำนักงานคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีการตรวจตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200 พ.ศ. 2543 เรื่องซอสในภาชนะบรรจุปิดสนิท และน้ำทำการส่งตรวจตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 และ ใช้เกณฑ์ตามมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้

จากการศึกษาเรื่องของคุณสมบัติและเวลาในการเก็บซอสหอยนางรมในสูตรปกติ พบว่า คุณสมบัติที่ใช้ในการเก็บ มากกว่าหรือเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส เก็บนาน มากกว่า 2 ชั่วโมง ทำซ้ำ 3 ครั้ง ค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกัน เนื่องจากการเดือดของซอสหอยนางรมเกิน 100 องศาเซลเซียส เนื่องจาก เมื่อซอสเกิดการขึ้นเหนียว เกิดกระบวนการเจลาติไนต์ ทำให้โครงสร้างของแป้งเปลี่ยนแปลง ปริมาณของแข็งที่อยู่ในซอสมีมากขึ้นทำให้เดือดเกิน 100 องศาเซลเซียส และการที่จะทำซอสมีคุณสมบัติขึ้นเหนียวอยู่ตัวได้ จำเป็นต้องเก็บนานถึง 2 ชั่วโมง (คิดที่ 120 กิโลกรัมต่อหม้อ) เมื่อเก็บได้ที่แล้วทำการเก็บตัวอย่างไปตรวจเชื้อตามมาตรฐานของสำนักงานคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สิ่งที่สังเกตได้คือ ในการบรรจุขวดจะต้องบรรจุขวดขณะร้อน อุณหภูมิที่วัดได้ในช่วงการกรอกอยู่ที่ 90 - 105 องศาเซลเซียส เพราะถ้ากรอกขณะเย็น ซอสจะเหนียวขึ้นไม่สามารถกรอกได้ และเกิดอากาศแทรกในเนื้อซอสอีกด้วย ในการตรวจสอบทางกายภาพ พบว่าซอส มีปริมาณของแข็งที่ 26 % และ  $a_w$  เท่ากับ 0.59 ผลทางจุลินทรีย์ที่ก่อโรคอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ในการใช้อุณหภูมิที่สูงมากกว่า 110 องศาเซลเซียส นานมากกว่า 2 ชั่วโมง จึงคิดว่า อุณหภูมิและเวลาระดับนี้สามารถฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนได้ จึงได้การทดลองผลิตซอส

หอยนางรมสูตรไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท และศึกษาว่าซอสจะสามารถเก็บไว้ได้นานเท่าไร หลังจากเปิดใช้

จากการศึกษาผลของโปดัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการเก็บผลิตภัณฑ์หลังเปิดใช้ จึงได้ออกแบบการทดลองโดย จะตรวจซอสทุก 7 วัน คือ ที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน จากผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ซอสหอยนางรมที่ไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท จะเกิดเชื้อราขึ้นที่ผิวหน้าและผิวขวดด้านใน หลังจากเปิดขวดไปแล้ว 7 วัน ดังนั้นซอส ไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน

หลังจากนี้จึงศึกษาซอสหอยนางรมที่ไม่ใส่โปดัสเซียมซอร์เบท ได้พบว่ามีเชื้อราเกิดขึ้นหลายชนิด จึงทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราที่เกิดขึ้นบนอาหารแข็ง ลงใน หลอดทดลองที่มี potato dextrose agar ( PDA) ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรม เพื่อแยกประเภทของเชื้อรา ที่สามารถพบได้ในน้ำมันหอย จากการวิเคราะห์ พบว่ามี *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., และ *Eurotium* sp. นอกจากนี้คุณลักษณะของซอสหอยนางรมที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อราที่ผิวหน้าและผิวภาชนะด้านใน ส่วนของซอสจะมีลักษณะที่เหลวขึ้นอย่างมาก และมีกลิ่น คล้าย แอลกอฮอล์ เนื่องจาก เชื้อรา มีการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ทำให้ สภาพของเจลาตินในสมีมีการเปลี่ยนสภาพไปอันเนื่องจากการย่อยสลายโครงสร้างให้สายพันธะให้สั้นลง จึงสรุปได้ว่า ถ้า ซอสหอยนางรมที่ใช้อุณหภูมิในการต้มอย่างเดียวยังไม่สามารถที่จะยับยั้งเชื้อราได้ แต่ถ้าซอสหอยนางรมที่มีการใส่โปดัสเซียมซอร์เบท จะพบว่า ไม่พบเชื้อรา และ ยีสต์ ถึงจะเปิดขวดซอสหอยนางรมไว้นานถึง 1 เดือน แต่อาจพบปริมาณ แบคทีเรียมีพบอยู่บ้าง แต่ยังไม่เกินจากมาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราได้แล้ว จึงนำมาศึกษาว่าเชื้อราแต่ละประเภท มีความต้านทานกับความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทเท่าไร จึงศึกษาความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราที่พบโดยนำเชื้อราที่ได้ มาทดสอบกับโปดัสเซียมซอร์เบท ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ ที่ 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยนำเชื้อราที่เพาะไว้ในหลอดทดลอง นำมาปรับความเข้มข้น และ หยดลงไปที่กึ่งกลางของจานเพาะเชื้อ ในปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร ถ้าเปรียบเทียบกับปริมาณของเชื้อที่ใส่เข้าไป อยู่ที่  $10^6$  cfu/g จากผลการทดลองพบว่า มีผลไปในทิศทางเดียวกันคือ เชื้อราทั้ง 7 ชนิดสามารถเกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีปริมาณโปดัสเซียมซอร์เบทที่แตกต่างกันได้ ภายใน 24 เริ่มเห็นว่า มีความขุ่นของเชื้อราที่เจริญขึ้น และลักษณะการเกิดตรงรอยหยด แต่จะเกิดไม่เท่ากันจานเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทมากจะเห็นว่าความขุ่นเกิดช้ากว่าจานเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทน้อยๆ แต่ถ้าหาก ทิ้งไว้นาน 48 ชั่วโมงจะไม่เห็นถึงอัตราการเจริญว่า เชื้อราบนอาหารจานใดเจริญได้เร็วหรือช้า สรุปได้ว่าพบว่ามีเชื้อราทั้ง 7 ชนิดนี้ไม่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตโดยโปดัสเซียม

ซอร์บเพียงอย่างเดียว แต่ โปดัสเซียมซอร์เบท สามารถชะลอการเติบโตของเชื้อราได้ แต่ถ้าหาก ปริมาณเชื้อราที่มีอยู่มากเกินไป ความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทก็ต้องมีการเปลี่ยนไป อย่างไรก็ตาม ในการผลิตซอสหอยนางรมนี้ เราจะไม่สามารถใช้ โปดัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่าง เดียวได้ เราจะต้องมีวิธีการที่จะต้องลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อน จึงได้มีการนำเชื้อราที่ได้ไปศึกษา เรื่องของอุณหภูมิและความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบทที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา

ในการทดลองศึกษาผลของความร้อนกับความเข้มข้นของโปดัสเซียมซอร์เบท ที่มีผลต่อการ ยับยั้งเชื้อราที่พบ นำเชื้อราทั้ง 7 ชนิด ผสมในอาหารเหลวที่มีโปดัสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้น แยกต่างกัน และ นำดัมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส วิเคราะห์เชื้อทุก 15 นาที โดยทำ 3 ซ้ำ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโปดัสเซียมซอร์เบท เชื้อสามารถลดลงจากการถูกทำลายด้วยความร้อนภายใน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อใดที่ปริมาณโปดัสเซียมซอร์เบทผสม อยู่จะทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญได้เมื่อนำมาวิเคราะห์ ในระยะเวลาที่สั้นกว่าปกติ

ดังนั้นจากผลการศึกษาพบว่าการใช้โปดัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่างเดียว หรือ ใช้อุณหภูมิในการ นำเชื้อเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถยับยั้ง เชื้อราทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus japonicus*, *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., และ *Eurotium* sp. การ ใช้อุณหภูมิเพียงอย่างเดียวจะฆ่าเชื้อและได้ผลดีในช่วงแรกเท่านั้นแต่เมื่อถึงไว้ที่อุณหภูมิห้องสปอร์ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในอากาศไม่ว่าจะเป็น *Bacillus* sp. หรือ เชื้อรา สามารถกลับมาปนเปื้อนในซอส หอยนางรมและกลับมาเจริญเติบโตได้ภายใน 7 วัน ทำให้อายุการเก็บรักษาของซอสหอยนางรมสั้น ลงเก็บไว้ได้ไม่นานหรือหากใช้โปดัสเซียมซอร์เบทเพียงอย่างเดียวฤทธิ์ของโปดัสเซียม- ซอร์เบท ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากกระบวนการผลิตได้แต่อาจชะลอ การเจริญของเชื้อราที่มีการปนเปื้อนได้

จากการศึกษาข้างต้นที่กล่าวมา จึงนำมามาตรการต่าง มาตรการประเมินขั้นตอนของ การวิเคราะห์ อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม ในกระบวนการผลิตน้ำมันหอย

นำผลการวิเคราะห์และมาตรการควบคุมมาพิจารณาหาจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมโดยใช้ Decision tree ช่วยในการ เนื่องจากการทดลองนี้มุ่งเน้นเรื่องการศึกษาระบบ HACCP กับกระบวนการผลิต ซอสหอยนางรมของโรงงานขนาดเล็ก จึงไม่ได้ออกแบบการทดลองและเก็บข้อมูลดังกล่าวว่า เพื่อ ประยุกต์ใช้ในระบบ HACCP จากการศึกษาวิเคราะห์อันตรายและหาจุดวิกฤติ พบว่า จุดที่ต้องควบคุม เป็นพิเศษ (CCP) ในกระบวนการผลิตซอสหอยนางรม มี 1 จุด ดังนี้

CCP 1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น สปอร์ *Clostridium botulinum*, สปอร์ *Bacillus cereus*, สปอร์เชื้อรา *Penicillium* sp. ที่สามารถปนเปื้อนจากการเตรียมวัตถุดิบ สัญลักษณ์ส่วนบุคคล หรือ โปรแกรมมาตรฐานต่างๆ เกิดความไม่ต่อเนื่องของระบบ ซึ่งอาจทำให้เกิดการเสื่อมเสีย ดังนั้นต้องควบคุมอุณหภูมิการต้มไม่ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และ นาน มากกว่า 2 ชั่วโมงและ ต้องมีการเติมสารกันรา เช่น โปตัสเซียมซอร์เบท ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้

นอกจากจุดควบคุมเหล่านี้แล้ว จุดที่เป็นโปรแกรม สัญลักษณ์ที่ดีในการกระบวนการผลิตต่างๆ จะต้องมีการควบคุมอย่างถูกต้องเช่นกัน

#### ข้อเสนอแนะ

1. ในการนำหลักการของระบบ HACCP มาประยุกต์ใช้ ทีมงานของผู้ผลิตจะต้องมีความรู้และเข้าใจในหลักการของระบบ GMP และ HACCP อย่างถ่องแท้ และมีความรู้ด้านกระบวนการผลิตนั้นเป็นอย่างดี เพื่อให้การวิเคราะห์อันตรายเป็นไปอย่างถูกต้อง

2. ในการกำหนดค่าวิกฤตสำหรับการควบคุมอันตรายในแต่ละจุด CCP จำเป็นจะต้องมีการตรวจสอบอย่างถูกต้อง (Validation) และ เหมาะสม หากกระบวนการผลิตมีการเปลี่ยนแปลง สูตรการผลิต วัตถุดิบ และ เวลา ที่ใช้ หรือ ขนาดของถังที่ใช้ ทีมงาน HACCP จะต้องมีการทวนสอบอย่างถูกต้องอีกครั้ง เพื่อให้สามารถปฏิบัติได้จริงและควบคุมอันตรายให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

3. การนำ HACCP ไปใช้ ผู้ปฏิบัติงานจำเป็นต้องผ่านการฝึกอบรม และ มีความรู้ ความเชี่ยวชาญกับผลิตภัณฑ์ที่กำลังวิเคราะห์ เพื่อให้ทราบถึงข้อควรระวังและหามาตรการควบคุมได้อย่างถูกต้อง

4. การทวนสอบระบบจะต้องทำอย่างเคร่งครัด ไม่ว่าจะต้องมีการตรวจประเมินด้าน GMP และ HACCP เพื่อพิจารณาในด้านความปลอดภัย การตรวจประเมินสามารถทำได้ทั้งภายในและภายนอก หากผู้ดำเนินการไม่มีผู้เชี่ยวชาญมากพอ ควรจัดหาผู้เชี่ยวชาญจากภายนอกเข้ามาตรวจประเมิน ซึ่งอาจเป็นหน่วยงานราชการ หรือ เอกชนที่ได้รับการรับรองจากหน่วยงานรัฐ

5. บุคคลากรที่อยู่ในสายงานผลิตจะต้องตระหนักในเรื่องความปลอดภัยในอาหาร และ ผลักดันกิจกรรม ด้าน HACCP ให้ดำเนินต่อไป เพื่อประโยชน์ต่อผู้บริโภค และ บริษัท

## เอกสารอ้างอิง

กัลยาณี ดีประเสริฐวงศ์. ระบบคุณภาพอาหาร (Quality System) : GMP/HACCP. กองควบคุม

อาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา [Online]. Available at <http://www.agric-prod.mju.ac.th/web-veg/haccp/haccp002.pdf>. (Accessed 7 April 2005).

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 193, 2543 วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 194, 2543 ฉลาก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 200, 2543 ขอสถาบันในภาชนะบรรจุปิดสนิท

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 201, 2543 ขอสถาบันชนิด

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 223, 2544 วัตถุแต่งกลิ่น

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 281, 2547 วัตถุเจือปนอาหาร

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 284, 2547 น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (5)

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาทิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2538. ขอสถาบันนามกรรม Oyster sauce มอก.1317. พิมพ์เพิ่มเติม ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหารและคำแนะนำในการนำไปใช้ มอก.7000-2540. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

วิไล รังสาดทอง. 2545. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

สุประภาดา โชติมณี. HACCP กับอุตสาหกรรมอาหารขนาดเล็ก. [Online]. Available at <http://www.masci.or.th/haccpasic.asp> ( 07/04/2007).

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2543. ความปลอดภัยของอาหาร (การใช้ระบบHACCP). พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). 412 หน้า

สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทร-วิโรจน์ประสานมิตร, สำนักพิมพ์ชัยเจริญ

สุวิมล กิรติพิบูล. 2543. GMP ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

สุวิมล กิรติพิบูล. 2544. ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร : HACCP.

กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

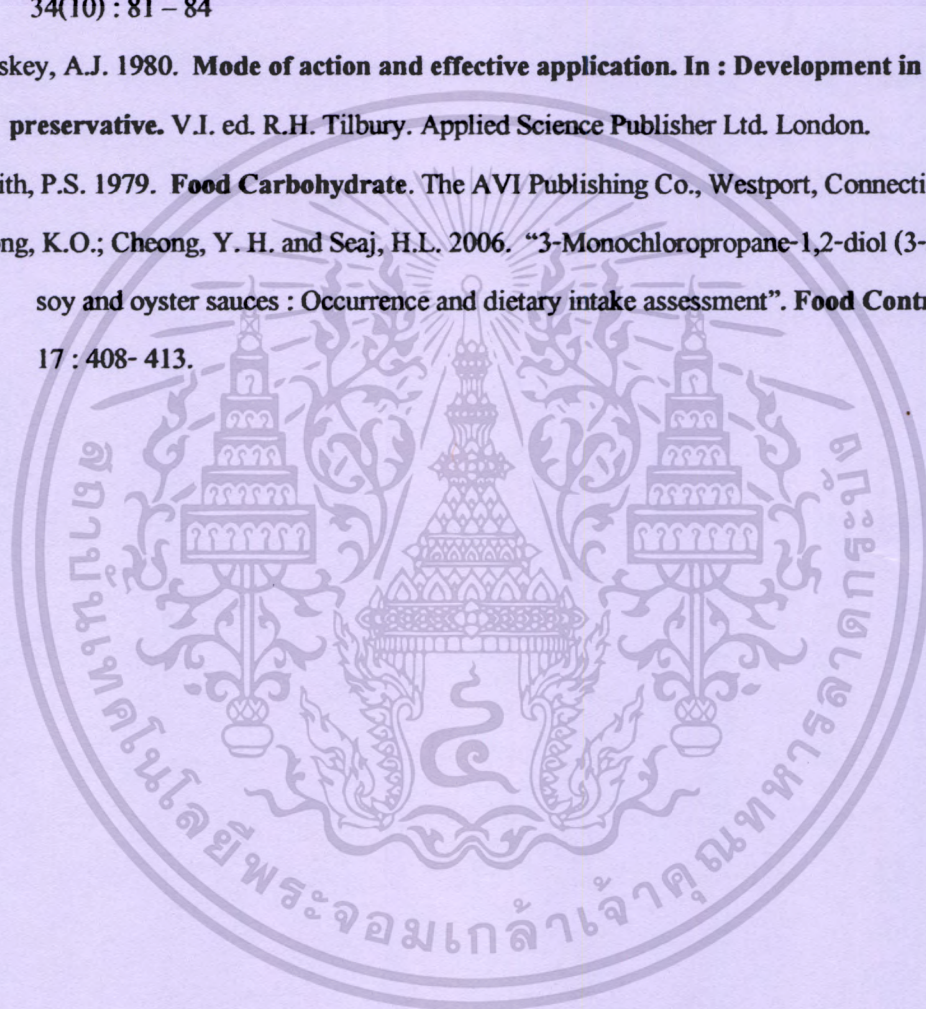
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ศศิเกษม ทองรงค์ และ พรรณี เดชกำแหง. 2530. **เคมีอาหารเบื้องต้น**. โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 211 หน้า
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. การรับรองระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร. [Online]. Available at <http://elib.fda.moph.go.th/> . (08/07/2005).
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2546. **Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System**. [Online]. Available : <http://www.tisi.go.th/haccp/haccp.html>. (08/07/2005)
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. **องค์การ/กฎระเบียบความปลอดภัยอาหารของไทย และ ต่างประเทศ**, [online]. Available at URL: <http://www.acfs.go.th/km/index.php> (01/07/2007).
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการค้าระหว่างประเทศ กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์. 2546. **ความปลอดภัยด้านอาหารกับระบบ HACCP(Food Safety : HACCP)**. [Online]. Available : [www.moc.go.th / thai/dbe/research/vijai48.htm](http://www.moc.go.th/thai/dbe/research/vijai48.htm). (06/04/2007).
- American Public Health Association (2001). **Recommended Method for the Microbiological Examination of Foods**, 3<sup>rd</sup> edn. New York : APHA.
- Andrew, W.H., and J.Messer. 1990. **Microbiology Method**. In : Helrich, K.(ed.) Official Method of Analysis of Official Analytical Chemist (AOAC) Inc. Arlington,USA.
- Bergdoll, M.S. 1989. **Staphylococcus aureus**. In “**Foodborne Bacterial Pathogens**” Ed.by M.P. Doyle. Marcel Dekker, Inc., New York.pp. 463-524.
- Cummings, J.R. et. al. 2007. “Cross-reactivity of non-Aspergillus fungal species in the *Aspergillus galactomannan* enzyme immunoassay”. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** . 59 :113-115.
- Diliello, L.R. 1982. **Methods in Food and Dairy Microbiology**. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- EFSA. 2004. “Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission relating to the evaluation of allergenic food for labelling purpose”. **The EFSA Journal**. 2004(32) : 1-197.
- European Commission . 1997. Opinion on 3- Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), expressed on 16 December 1994. **Reports of the Scientific Committee for Food**. Food Science and Techniques, Thirty-sixth series (pp. 31-33). Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Food and Drug Administration. 1979. **Specific food labeling requirements. Food and Drug Admin. Code of Federal Regulations**, Title 21, Paragraph 101. 22 (a).
- Food and Drug Administration. 1992. **Bacteriological Analytical Manual(BAM)**. 7<sup>th</sup> ed., AOAC International. 2200 Wilson Boulevard, Suite 400 Arlington, VA 22201-3301 USA.
- Forsythe, S.J. and Hayes, P.R. 1998. **Food Hygiene Microbiology and HACCP**. 3<sup>rd</sup> ed. Maryland : Aspen.
- Franciska, M. S. et. al. 2006. "Cryptosporidium and Giardia in commercial and non-commercial oysters (*Crassostrea gigas*) and water from the Oosterschelde, the Netherlands". **International Journal of Food Microbiology**. 17 (2006).
- Frazier, W.C., and D.C. Westhoff. 1988. **Food Microbiology**. 4<sup>th</sup> ed., McGraw Hill Book Company, Singapore.
- Grishutin S. G. et.al. 2006. "A lichenase-like family 12 endo-(1-4)-B-glucanase from *Aspergillus japonicas* : study of the substrate specificity and mode of action on B-glucans in comparison with other glycoside hydrolases". **Carbohydrate Research**. 341 : 218-229.
- Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology**. 4<sup>th</sup> ed., An AVI Book, New York, USA.
- JECFA. 2002. **Safety evaluation of certain food additives and contaminants**. Prepared by the 57<sup>th</sup> meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee in Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, No. 48. WHO, Geneva. 401-432.
- Lueck, E. 1980. **Antimicrobial Food Additives : Characteristics, Uses, Effects**. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg New York
- Mamma D., Elisavet Kourtoglou and Paul Christakopoulos. 2007. "Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry". **Bioresource Technology**( 2007). Arica. Greece.
- Microbiological Examination of Food. 2003. **Compendium of Method for Food Analysis**. 1<sup>st</sup> ed. Department of Medical Science and Department of Medical Science Foundation National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard, Bkk, Thailand.
- Mortimore, S. and Wallace, C. 1994. **HACCP : A practical approach**. London : Chapman and Hall.
- Osman, E.M. 1967. **Starch in Food Industry**. Academic Press Inc., New York. 331-347.

- Panagiotou G., Reyes O., and Lisbeth O. 2007. "*Penicillium brasilianum* as an enzyme factory; the essential role of feruloyl esterases for the hydrolysis of the plant cell wall". **Journal of Biotechnology**. 130 :219-228.
- Rehm, H. J. 1961. **Grenzhemmkonzentrationen der Zugelassenen konservierungsmittle gegen mikro-organism**. Z. Lebensm. Unters. Forsh. 115 : 293 -309.
- Robach, M. C. 1980. "Use of preservatives to control micro organism in food". **Food Technol.** 34(10) : 81 – 84
- Sinskey, A.J. 1980. **Mode of action and effective application. In : Development in Food preservative**. V.I. ed. R.H. Tilbury. Applied Science Publisher Ltd. London.
- Smith, P.S. 1979. **Food Carbohydrate**. The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut. 416.
- Wong, K.O.; Cheong, Y. H. and Seaj, H.L. 2006. "3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in soy and oyster sauces : Occurrence and dietary intake assessment". **Food Control** 17 : 408- 413.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก.

## วิธีการวิเคราะห์หาเชื้อแต่ละชนิด

การตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร

## อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- เครื่องตีปั่น stomacher
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 225 และ 9 มิลลิลิตร
- หลอด TSB ที่มีเกลือ 10% ในปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อหลอด
- งานเพาะเชื้อที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium (BP) ที่มีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ หรือ Mannitol salt agar (MS) ที่มีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ ชนิดใดชนิดหนึ่ง
- บีเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 5 และ 1 มิลลิลิตร
- แท่งแก้วรูปตัว L
- ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35-37°C

## อาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาทดสอบ

## ประกอบด้วย

1. อาหารเหลว Trypticase soy
2. อาหารแข็ง Baird-Parke
3. อาหารเหลว Brain heart infusion
4. พลาสมากระต่าย (Rabbit plasma) สำหรับทำการทดสอบเอนไซม์ coagulase (coagulase test)
5. Peptone water

## วิธีการ ประกอบด้วย

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างอาหารมา 25 กรัม ใส่ลงในภาชนะที่ฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นจึงเติม Peptone water ปริมาณ 225 มิลลิลิตร ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อใช้ในการตรวจหาเชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ขั้นตอน Pre-enrichment

นำตัวอย่างอาหารจากข้อ 1 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว trypticase soy (ที่มีเกลือความเข้มข้นร้อยละ 10) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไป บ่มอุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วจึงเติม trypticase soy broth (ที่มีเกลือความเข้มข้นร้อยละ 20) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มอุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. ขั้นตอน Selective

นำอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มากระจาย(spread) บนอาหารแข็ง Baird Parker (ทำ 2 ซ้ำ) หรือ นำอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 2 มาลาก (streak) บนอาหารแข็ง Baird Parker เช่น กัน นำไปบ่มอุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการทดลอง : ผลบวก เมื่อ โคโลนีของ *S. aureus* จะมีสีดำ

4. ขั้นตอนการยืนยันผล(confirmation)

4.1 นำโคโลนีที่คาดว่าจะ เป็น *S. aureus* จากข้อ 3 มาเลี้ยงในอาหารเหลว brain heart infusion อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 นำเชื้อจากข้อ 4.1 มาใส่ลงใน rabbit plasma ตั้งเกิดการแข็งตัว(clot) ของพลาสมาที่เกิดขึ้น เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง โดยสังเกตทุกชั่วโมง บันทึกผลของเอนไซม์ Coagulase เมื่อสังเกตเห็นการเกิดการแข็งตัวเป็น 3+ หรือ 4+ เท่านั้น แต่ถ้าเป็น 1+ หรือ 2+ จะต้องทำซ้ำ

ผลการทดลอง : ผลบวก เมื่อ Coagulase test ให้ผล 3+ หรือ 4+

อย่างไรก็ตามควรที่จะทำการทดสอบต่อไปนี้เพื่อช่วยยืนยันเพิ่มเติม เช่น

ก. ย้อมสีแกรม

ผลการทดลอง : ผลบวกเมื่อเชลล์ติดสีแกรมบวก เชลล์โปร่งกลมเกาะกันเป็นรูปพวงองุ่น

ข. การย่อยสลายเจลาติน (gelatin)

ผลการทดลอง : ผลบวกเมื่อเจลาติน ไม่แข็งตัวเมื่ออยู่ในที่อุณหภูมิต่ำ เพราะ *S. aureus*

สร้างเอนไซม์ gelatinase ย่อย สลายเจลาติน

ค. การใช้น้ำตาล mannitol

ผลการทดลอง : ผลบวกเมื่อเกิดการดั่งเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator

ง. การย่อยสลายเม็ดเลือด (haemolysis) บน blood agar

ผลการทดลอง : ผลบวกเมื่อเกิด beta-haemolytic

## การตรวจนับปริมาณราและยีสต์ในอาหาร

### วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการตรวจนับปริมาณราและยีสต์จากตัวอย่างอาหาร

### อุปกรณ์

- งานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
- ปิเปต 1 มิลลิลิตร
- PDA 120 มิลลิลิตร 2 ขวด
- กรดแลคติก หรือ ทาร์ทริกเข้มข้น 10%
- น้ำยาสำหรับเจือจางตัวอย่างอาหาร 225 มิลลิลิตร 2 ขวด และ 9 มิลลิลิตร 6 ขวด
- แลคโตฟินอล

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อแล้วเติมน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปนด้วย stomasher นาน 1 นาที
2. เจือจางระดับ  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , และ  $10^{-4}$
3. ปิเปตแต่ละระดับความเจือจาง จากข้อ 2 ใส่ในงานเลี้ยงเชื้อ แต่ละระดับทำ 2 ซ้ำ
4. ทำการ acidified PDA โดยเติมกรดแลคติก หรือ ทาร์ทริก เข้มข้น 10% ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงใน PDA 100 มิลลิลิตร ที่หลอมเหลวแล้วและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส แกว่งเบาๆ ให้เข้ากัน ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ
4. เท acidified PDA ลงในอาหารข้อ 3 หมุนงานอาหารเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างอาหารและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-5 วัน
6. ตรวจนับจำนวนยีสต์และราที่เจริญในงานเลี้ยงเชื้อในช่วง 30-300 โคลนีก แล้วคำนวณต่อกรัมอาหาร
7. เชื้อยีสต์และราที่แยกได้บนสไลด์ แล้วหยดด้วยแลคโตฟินอล ปิดทับด้วย cover slip ส่งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะของเชื้อที่ตรวจพบ

**การตรวจวิเคราะห์หา Faecal coliform, Coliform และ E. coli โดยวิธี MPN  
(Most Probable Number)**

**วิธีการตรวจวิเคราะห์ในอาหาร**

ใช้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางระดับละ 10 เท่า ต่อเนื่องกัน 3 ระดับ ทำการเพาะเชื้อในแต่ละระดับ โดยใช้ตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตรเพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารเหลวที่บรรจุในหลอดอาหารระดับความเจือจางละ 3, 5 หรือ 10 หลอด นำหลอดที่ให้ผลบวกกับปฏิกิริยาที่เราต้องการทดสอบในแต่ละระดับความเจือจาง ไปอ่านค่าในตาราง MPN

**วัสดุอุปกรณ์ ประกอบด้วย**

1. จานอาหาร
2. หลอดทดสอบ พร้อมกับหลอดเก็บแก๊ส (Durham tube)
3. ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
4. ตู้บ่ม

**อาหารเลี้ยงเชื้อและนํ้ายาทดสอบ ประกอบด้วย**

1. อาหาร Pre-enrichment เช่น อาหารเหลว Trypticase Soy
2. อาหารเหลว Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB) พร้อมหลอดดักแก๊ส 9 หลอด
3. อาหารเหลว 2% Brilliant Green Lactose Bile (BGLB broth)
4. อาหารแข็ง Eosin Methylene Blue (EMB agar)
5. สีข้อมแกรม
6. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ IMVIC (indole, Methyl Red, Vogue Prokkeur และการใช้ citrate )

**วิธีการ**

**ประกอบด้วย**

**1. ขั้นตอนการรักษาเซลล์ที่บาดเจ็บ**

เซลล์ที่บาดเจ็บแบบถาวร ไม่สามารถซ่อมแซมให้คืนสภาพเดิม ได้ เซลล์แบบนี้สามารถเจริญบนอาหาร Selective ได้ ถ้านำไปเลี้ยงในอาหาร non-selective หรือ อาหาร Pre-enrichment ก่อน การกระทำเช่นนี้ เรียกว่า “resuscitation” สำหรับเวลาที่ใช้รวมทั้งสถานะในการ resuscitation นั้นจะแตกต่างกันออกไป

นำตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเหลว tryptic soy (อาหาร pre-enrichment) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มไว้ที่ อุณหภูมิ 32°C เป็นเวลานาน 1-2 ชั่วโมง จึงนำไปใช้ในการตรวจหาต่อไป

## 2. ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธี (Most Probable Number) (MPN)

การวิเคราะห์หา MPN ของจุลินทรีย์อาหารสามารถทำได้โดยการนำตัวอย่างอาหารที่ทราบปริมาณ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว จำนวนจุลินทรีย์ต่อหน่วยของตัวอย่างอาหารสามารถคำนวณได้จาก จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลินทรีย์ที่ต้องการทราบจำนวนเจริญในหลอดนั้น และ โดยใช้วิธีทางสถิติช่วยเปลี่ยนเลขจำนวนเจริญในหลอดนั้น และ โดยใช้วิธีทางสถิติช่วยเปลี่ยนเลขจำนวนของหลอดที่เชื้อเจริญเป็นตัวเลขแสดงจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารนั้น

ในทางปฏิบัติ ทำโดยใช้ 3- ten-fold serial dilution ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Lauryl sulfate tryptose (LST) แต่ละระดับความเจือจางจะทำ 5 ข้าง โดยที่ระดับความเจือจางและปริมาตรที่ใช้ในการถ่ายเชื้อ (inoculation) จะขึ้นอยู่กับปริมาณของจุลินทรีย์ที่คาดว่าจะมี เช่น ถ้าคาดว่าจะมีปริมาณ จุลินทรีย์ต่ำ จะใช้หัวเชื้อ (inoculum) ซึ่งเป็นตัวอย่างอาหารจากข้อ 1 ในปริมาณ 10 มิลลิลิตร และ 1 มิลลิลิตร และใช้ 10 มิลลิลิตร ของ ten-fold dilution เพื่อใส่ลงในอาหารเหลว LST 10 มิลลิลิตร ที่ มีความเข้มข้นเป็นสองเท่า และ 1 มิลลิลิตร ของ ten-fold dilution ใส่ ลงในอาหารเหลว LST 10 มิลลิลิตร การทำเช่นนี้จะ ได้ค่า sensitivity ตามทฤษฎีเท่ากับ 0.2 และ ถ้าชุดแรกของตัวอย่างอาหาร ที่เป็น 1 มิลลิลิตร ของ homogenate ร้อยละ 10 ค่า sensitivity จะมีค่าเท่ากับ 2

ข้อดีของการทำ MPN คือสามารถใช้กับขนาดของตัวอย่างได้หลายขนาด และมีความไว (sensitive) สูงว่าการทำ Plate count มาก เพราะสามารถใช้ตัวอย่างของเหลวในปริมาณมาก โดยที่ไม่ทำให้อาหาร selective นั้นเสียคุณสมบัติไป

อาหารเหลว LST ที่ใส่ตัวอย่างอาหารลงไปแล้ว ให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการทดลอง : ผลบวก เมื่อมีการเจริญของ coliform หรือ *E. coli* จะสังเกตเห็นฟองอากาศ เกิดขึ้นในหลอด เนื่องจาก coliform หรือ *E. coli* สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสแล้วให้แก๊ส การตรวจ แก๊สควรทำในช่วงการบ่มระหว่าง 24-48 ชั่วโมง แก๊สที่เกิดขึ้นสังเกตได้จาก การเกิดฟองอากาศที่ ถูกกักอยู่ในหลอดเก็บแก๊ส (Durham tube) ก่อนการทำการสังเกตควรจะเขย่าหลอดเพื่อให้แก๊สที่ ถูกกักอยู่ที่ก้นหลอดลอยตัวขึ้น สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เตรียมไว้แล้วทำการแช่ในตู้เย็นก่อนการ บ่ม หลังการบ่มแล้วอาจเกิดฟองอากาศเล็กน้อยได้โดยที่ไม่มีการใช้ น้ำตาลแลคโตสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. การถ่ายเชื้อลงในอาหาร selective

หลอดของอาหารเหลว LST ที่มีแก๊สเกิดขึ้น คาดว่าในหลอดนั้นจะมีเชื้อ *E. coli* เจริญอยู่ให้นำเชื้อที่เจริญในอาหารเหลวที่มีแก๊สเกิดขึ้นมาลากลบนอาหารแข็ง Eosin Methylene Blue (EMB agar) ถ้าต้องการทำการหาจำนวน *E. coli* ที่มีอยู่ในอาหารตัวอย่างจากหลอดของอาหารเหลว LST ที่มีแก๊สให้นำไปเพาะต่อในอาหารเหลว Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) และนำมาบ่มที่ 44-44.5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่ามีการใช้น้ำตาลแลคโตส ถือว่าหลอดนั้นคาดว่ามีความ *E. coli* เจริญ

เชื้อที่เจริญในขั้นนี้ถือว่าเป็น Faecal coliform จะทำการยืนยันว่าเชื้อที่เจริญอยู่ในอาหารเหลว BGLB เป็น *E. coli* โดยการนำมาลากลบนอาหารแข็ง EMB แล้วสังเกตลักษณะโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *E. coli* หลังจากที่ได้บ่มที่อุณหภูมิ 44-45.5°C

ผลการทดลอง : แบคทีเรียที่หมักน้ำตาลแลคโตสไม่ได้ (non-lactose fermenting bacteria) :  
โคโลนีใส ไม่มีสี

Coliform : โคโลนีสีดำ หรือสีค้ำอยู่ตรงกลาง และของใส ไม่มีสี

*E. coli* : โคโลนีสีเงินค้ำและมีวาวโลหะออกสีเขียวเมื่อมีสีสะท้อนแสง

### 4. การทดสอบยืนยัน (confirmation)

การทดสอบการยืนยันอาจจะต้องทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในอาหาร LST เป็นเชื้อแบคทีเรียที่คิดสี่แกรมลบ มีลักษณะเป็น non-spore-forming bacilli สามารถระบุว่าเชื้อนี้เป็น coliform แต่ถ้าต้องการทราบให้แน่ชัดว่าเชื้อนี้คือ *E. coli* หรือไม่จะต้องทำการทดสอบต่อทั้ง IMVIC (indole, Methyl Red, Vogue Prokkeur) และการใช้ citrate

Indole เป็นสารที่ได้จากการย่อย tryptophane ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะใช้ตรวจ Indole จะต้องมีส่วนประกอบของ tryptophane อย่างพอเพียง สารเคมีที่ใช้ตรวจ Indole คือ KOVAC

Methyl Red เป็นการตรวจการใช้น้ำตาลกลูโคส และผลิตภัณฑ์มากพอที่จะเปลี่ยนสีของ methyl red ที่ pH 4.2 และยังคง pH อยู่ตลอดระยะเวลาการบ่ม 5 วัน การตรวจควรจะต้องทำเมื่อครบ 5 วัน เพราะเชื้อบางชนิดสามารถผลิตกรดในระยะแรกของการบ่ม แล้วจะใช้กรดที่ผลิตออกมาทำให้ pH ต่ำลง

ปฏิกิริยา Voges-Proskauer เป็นการตรวจ acetylmethyl carbinol หรือ 2,3 – butanediol ที่ได้จากการที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคส การตรวจสอบทั้งสองชนิดนี้จะแสดงถึงการใช้คาร์โบไฮเดรตของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Enterobacteriaceae จะแสดงผลอันใดอันหนึ่งในสองปฏิกิริยา

TSI agar slant				IMVic			
Butt	Slant	Gas	H <sub>2</sub> S	Indole	MR	VP	Citrate
A	A(K)	+(-)	-	+	+	-	-
				หรือ	-	+	-

ที่มา Diliello, L.R., 1982.

การทดลองสำหรับตัวอย่างน้ำ

1. ปิเปิดตัวอย่างน้ำลงใน LB หรือ LSTB ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า จำนวน 5 หลอดๆ ละ 10 มิลลิลิตร พร้อมทั้งปิเปิด ตัวอย่างน้ำลงใน LB หรือ LSTB ความเข้มข้น 1 เท่า จำนวน 2 หลอดๆ ละ 1 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. ทำการทดลองเหมือนกับการทดลองตัวอย่างอาหารในข้อ 1-3 ทำการอ่านเทียบค่า MPN Faecal coliform, Coliform และ *E. coli* ต่อตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร

รายงานผลการวิเคราะห์

ตัวอย่างอาหาร =  $\frac{\text{MPN / กรัม ของ}}{\text{Faecal coliform หรือ Coliform หรือ } E. coli}$

ตัวอย่างน้ำ =  $\frac{\text{MPN / 100 มิลลิลิตร}}{\text{Faecal coliform หรือ Coliform หรือ } E. coli}$

## การตรวจเชื้อ *C. perfringens* ในอาหาร

### อุปกรณ์ในการเพาะแยกเชื้อ

- ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- เครื่องตีปั่น stomacher
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาณ 225 และ 9 มิลลิลิตร
- Cooked Meat (CM) medium
- Tryptose-sulfite-cycloserine (TSC) agar + egg yolk emulsion
- งานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
- ปิเปตหลอดเชื้อ ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- Anaerobic jar
- ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35-37°C
- *C. perfringens* diagnostic antitoxin A
- แท่งแก้วรูปตัว L
- เข็มหรือลูปเขี่ยเชื้อ

### การทดลอง โดยการตรวจหาว่าพบหรือ ไม่พบเชื้อในตัวอย่างอาหาร

- เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher
- ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับ เจือจาง ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
- ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในหลอด Cooked meat (CM) medium ซึ่งเพิ่ง ออกจาก ใหม่ๆ ( ถ้าใช้ CM medium ที่เตรียมไว้นานแล้วอาจมีอากาศเข้าไปอยู่ในอาหาร ดังกล่าวเป็นปริมาณมาก ดังนั้นก่อนใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้นานนี้ ควรนำหลอด อาหารดังกล่าวไปทำการคั้นในน้ำเดือด เพื่อไล่อากาศประมาณ 15 นาที ก่อนนำมาใช้) โดย ใส่ตัวอย่างอาหารหลอดละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 หลอด
- นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
- ใช้ลูปจุ่มเชื้อจากหลอด CM medium โดยพยายามเขี่ยเชื้อจากก้นหลอดของ CM medium (เนื่องจาก *C. perfringens* เป็นเชื้อในกลุ่ม facultative anaerobe ดังนั้นการเจริญของเชื้อ มักจะอยู่ทางด้านก้นหลอด) นำมาถ่ายเพาะเชื้อบน TSC + egg yolk agar
- คว่างานเพาะเชื้อนำงานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน Anaerobic jar เพื่อ ขจัดออกซิเจน

### ออกจาก anaerobic jar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
- ตรวจสอบจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะ โคโลนีสีดำและมีโซนขุ่นขาวรอบๆ โคโลนี (opaque zone) เนื่องจาก lecithinase positive เหมือนกับ *S. aureus*
- นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการทดสอบยืนยัน โดยการทำปฏิกิริยา ที่เรียกว่า Nagler reaction test โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น
- รายงานผลการตรวจพบเชื้อว่าพบหรือไม่พบจากตัวอย่าง 0.1, 0.01, หรือ 0.001 กรัม ตามระดับความเจือจางที่ได้ทำการปฏิบัติ

หมายเหตุ การตรวจหาในเชิงปริมาณอาจใช้วิธีการทาง Most Probable Number(MPN) แบบ 3 tube method ในการตรวจวิเคราะห์ โดยถ่ายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางติดต่อกันลงในหลอด CM medium ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มเพาะเชื้อแล้วถ่ายเพาะเลี้ยงเชื้อบน TSC+egg yolk agar คุณลักษณะเฉพาะของโคโลนีบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปตรวจยืนยัน โดยทำ Nagler reaction test นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเจือจางไป คำนวณหาค่า MPN จากตาราง 3 tube MPN รายงานผลการตรวจพบเชื้อเป็น MPN/ กรัม ของอาหาร



## การตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ในอาหาร

### อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
- เครื่องตีป็น stomacher
- ขวดน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาณ 225 และ 9 มิลลิลิตร
- ปิเปตหลอดเชื้อขนาด 1,5 และ 10 มิลลิลิตร
- Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar
- Trypticase soy-sheep blood agar
- แท่งแก้วรูปตัว L (spreader)
- ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 30°C
- เข็มเขี่ยเพาะเชื้อ (needle)

### การทดลองและรายงานผลการตรวจนับเชื้อโดยวิธี spread plate technique

- เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีป็นให้เข้ากันด้วย stomacher
- ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร
- คูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานเพาะเชื้อ MYP agar ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อจานเพาะเชื้อละ 1 มิลลิลิตร
- ใช้แท่งแก้วรูปตัว L กลั้ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน  
คว่าจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะดังนี้ คือ โคโลนีสีชมพู เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถหมักย่อน้ำตาล mannitol ให้เป็นกรดได้ โคโลนีที่เจริญบนอาหารนี้ยังคงมีชมพูเหมือนสีของอาหาร เพาะเลี้ยงเชื้อดั้งเดิมมี opaque zone รอบโคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีเอนไซม์ lecithinase เช่นเดียวกับ *S. aureus* และ *C. perfringens* ดังนั้น เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar ซึ่งมีส่วน ผสมของ egg yolk อยู่ เอนไซม์ lecithinase จะไปทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดง ทำให้เกิดตะกอนขุ่น (opaque zone) รอบๆ โคโลนีของเชื้อคล้าย *S. aureus* และ *C. perfringens* แต่สีของ Opaque จะยังคงเป็นสีชมพูเหมือนเดิมเหมือนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารทวงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำลักษณะ โคโลนีดังกล่าวไปทำการตรวจยืนยัน โดยดูปฏิกิริยา hemolytic activity test เพื่อดูการสลายเม็ดเลือดแดงของแคะบนอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือดแคะ (blood agar)
- นับจำนวน โคโลนีที่ให้ผลการทดสอบ hemolytic positive ไปคำนวณหาปริมาณของเชื้อ *B. cereus* ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

#### การทำปฏิกิริยา hemolytic activity test

- แบ่งงานเพาะเชื้อออกเป็น 6 หรือ 8 ส่วน เท่าๆ กัน (ดังแผนภาพการตรวจหาเชื้อ *B. cereus*)
- ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ย โคโลนีของเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *B. cereus* บน MYP agar ให้เชื้อติดที่ปลายเข็มเพียงเล็กน้อย
- นำเชื้อที่ติดอยู่ปลายเข็ม ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar โดยแตะเชื้อลงบนผิวของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว (1 ช่อง ต่อเชื้อ 1 โคโลนี)
- คั่วงานเพาะเชื้อแล้วนำงานเพาะเชื้อทั้งหมด ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง  
ดูผลปฏิกิริยา hemolytic positive

## การตรวจหาเชื้อ Salmonellae ในอาหาร

### อุปกรณ์ในการเพาะเชื้อ

- ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
- จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
- หลอดทดลองปลอดเชื้อขนาด 16 x 150 มม. ที่มีฝาหรือจุกสำลีปิดมิดชิด
- ปิเปตปลอดเชื้อขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
- กระจก slide
- Trypticase soy broth (TSB) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร
- Tetrathionate broth (TTB) + Iodine solution
- Selenite cystine broth (SCB)
- Salmonella-Shigella (SS) agar
- Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar
- Triple Sugar Iron (TSI) agar slant
- Lysine-Indole-Motility (LIM) medium
- Trypticase soy agar (TSA) หรือ Nutrient agar (NA) slants
- Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67
- เข็ม (needle) และ หลวง (loop) เชื้อเชื้อ

### การทดลองและรายงานผล

#### Pre-enrichment

- เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ (พลาสติก หรือ ถุงพลาสติกจุกจุกสำลี)
- เติม TSB 225 มิลลิลิตร เขย่าหรือปั่นให้ตัวอย่างอาหารกระจายในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB อย่างสม่ำเสมอ
- นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

#### Selective enrichment

- ใช้ปิเปตปลอดเชื้อถ่ายเพาะเชื้อจาก TSB ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวเพาะเชื้อ TTB (9 มิลลิลิตร) และ SCB (9 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร
- นำหลอดทั้งหมดไปบ่มในตู้อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง plating on selective and differential media

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เชื้อเพาะเชื้อจากหลอด TTB และ SCB ลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar คำว่างานเพาะเชื้อแล้วนำงานเพาะเชื้อทั้งหมด ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
- คุณลักษณะ โคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar ซึ่งโคโลนีของซาลโมเนลลาบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองจะมีลักษณะดังนี้
- SS agar ลักษณะ โคโลนีของซาลโมเนลลาจะกลมใส มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี
  - XLD agar ลักษณะ โคโลนีจะกลมมีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดโคโลนีสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

#### Biochemical screening test

- นำลักษณะเฉพาะของโคโลนีดังกล่าวในแต่ละอาหารเลี้ยงเชื้อ ไปทำการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี โดยใช้เข็มเชื้อโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar slants, LIM medium และ TSA หรือ NA slant
- นำหลอดทดสอบทั้งหมด ไปบ่มเพาะเชื้อ ในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาจะให้คุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

TSI		LIM				
Slant	butt	H <sub>2</sub> S	gas	lysine	indole	motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

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

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H<sub>2</sub>S + = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนใหญ่ จะให้ผล+

H<sub>2</sub>S - = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอด TSI ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas+ = มีฟองอากาศคั้นวุ่นของ TSI เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและก๊าซเพียงเล็กน้อย

Gas- = ไม่มีฟองอากาศให้เห็นในหลอด TSI ซึ่งมีบางเชื้อโรวาริให้ผล-

Lysine + = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อซาลโมเนลลามีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย

lysine ทำให้ อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต เป็นการคัดลอก

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เป็น indicator ในอาหารดั่งกล่าวและมีสีม่วงที่พีเอชเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มมากขึ้น ซึ่ง ซาล โมเนลลาส่วนมากจะมีเอนไซม์ดั่งกล่าวนี้

Lysine - = หลอดอาหารจะมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อที่ไม่มี เอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มี เอนไซม์ lysine decarboxylase ซึ่งจะ ไปย่อย lysine ทำให้พีเอชของอาหารต่ำลง มีผลทำให้สีม่วง ของ brom cresol purple ไปเป็นสีเหลือง

Indole + = จะมีสีแดงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

Indole - = ไม่เกิดสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC ซึ่งซาล โมเนลลา จะไม่มี เอน tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ KOVAC

Motile + = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้ เนื่องจากซาล โมเนลลา ส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้น เมื่อทำการ stab เชื้อลงในหลอดอาหาร เพาะเลี้ยงเชื้อ LIM แล้วขุ่นเพาะเชื้อซาล โมเนลลาจะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทาง จึงทำให้หลอดขุ่น

Motile - = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีเชื้อเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหาร รอบ รอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ จึงเจริญอยู่เฉพาะบริเวณ รอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ จึงเจริญอยู่เฉพาะบริเวณ รอย ซาล โมเนลลาไม่มีแฟลกเจลลาได้แก่ *S. pullorum* และ *S. gallinarum*

## ภาคผนวก ข.

## วิธีการหาปริมาณเชื้อตั้งต้นและเตรียมตัวอย่างในการศึกษาผลของ ความร้อนกับความเข้มข้นของโปตัสเซียมซอร์เบท

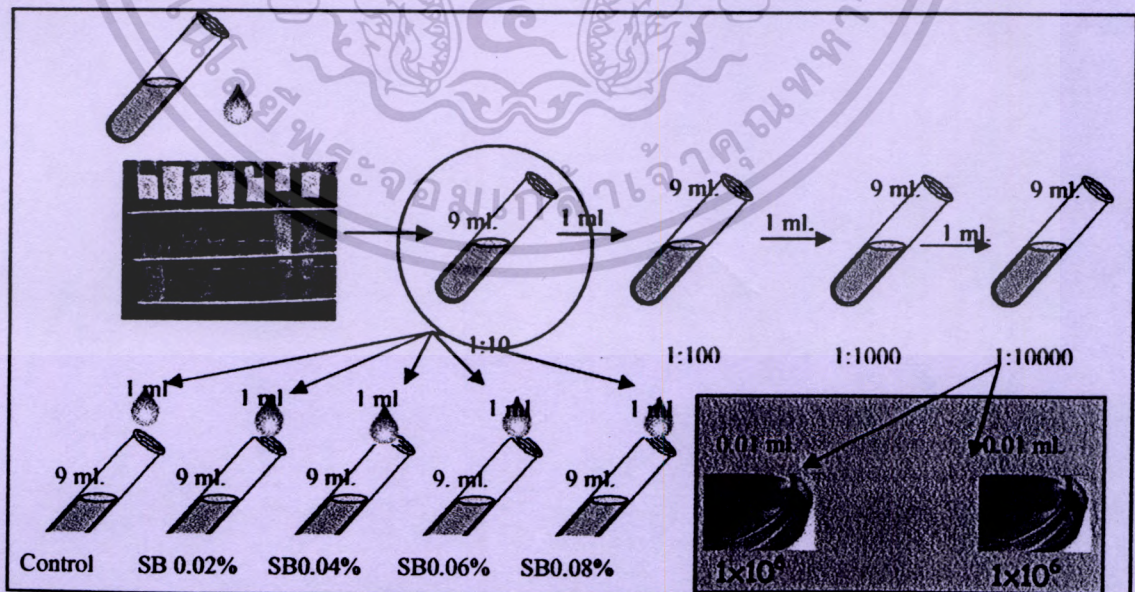
### ข. 1. วิธีการหาปริมาณเชื้อตั้งต้น

การเตรียมเชื้อใน Potato Dextrose Agar (PDA)

เตรียม slant PDA 5 มิลลิกรัม ในหลอดทดลอง พร้อมนำเชื้อที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วมา ลากบนหน้า slant ให้เต็มโดยใช้ loop บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน



รูปที่ ข.1.1 แสดงรูปตัวอย่างเชื้อราที่ขึ้นเต็มหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ ข.1.2 แสดงขั้นตอนการหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นและทดสอบกับความร้อนและความเข้มข้นของโปตัสเซียมซอร์เบท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การเตรียมระดับความเจือจาง (dilution)

1. นำ potato dextrose broth (PDB) 9 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เทลงในหลอดที่เตรียมเชื้อไว้ ดังรูปที่ ข.1.1
2. เกลี่ยเชื้อราให้ผสมใน PDB และเทสารละลาย PDB ที่ได้ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จะได้สารละลายที่มี ระดับความเจือจาง  $10^{-1}$  (ดังรูปที่ ข.1.2)
3. นำมาทำระดับความเจือจางที่ ถึง  $10^{-4}$  และ หยดด้วย ไมโครปิเปต 0.01 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) cjh; ทำการ spread plate
4. บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24-48 ชั่วโมง อ่านและแปลผล
5. ในขณะที่เดียวกันให้นำหลอดที่มีระดับความเข้มข้น  $10^{-1}$  มาหยดลงใน PDB 9 มิลลิลิตร ที่มีโปตัสเซียมซอร์เบทที่ระดับความเข้มข้น 0.02%, 0.04%, 0.06% และ 0.08% และควบคุมโดยไมใส่โปตัสเซียมซอร์เบท
6. นำไปต้มที่อุณหภูมิ  $100^{\circ}\text{C}$  และ ทุกๆ 15 นาที นำมาตรวจเชื้อ เพื่อดูปริมาณที่ลดลง
7. โดยทำการหยด 0.1 มิลลิลิตรลงในอาหารแข็ง PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24-48 ชั่วโมง
8. ทำการอ่านผลเชื้อและแปลผล

- ข้อควรระวัง
1. ต้องทำอย่างปลอดภัย เนื่องจากเชื้อรามีการปนเปื้อนได้ง่าย
  2. หากบ่มนานเกินไป เชื้อราจะกระจายจนไม่สามารถนับได้

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวชนิดา ชื่นกมล เกิดเมื่อวันที่ 15 สิงหาคม 2518 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีบัณฑิต (สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ) จากมหาวิทยาลัยบูรพา ปีการศึกษา 2539

### ประวัติการทำงาน

ปี พ.ศ. 2539-2542 ปฏิบัติงานในตำแหน่งหัวหน้างานฝ่ายประกันคุณภาพ ของบริษัทยูโนเต็ด ฟู้ดส์ จำกัด(มหาชน) โดยมีความรับผิดชอบในการจัดการด้านระบบการจัดการสุขลักษณะที่ดีในกระบวนการผลิต(Good Manufacturing Practice : GMP) และ จัดตั้งระบบการตรวจรับวัตถุดิบให้ได้ตามมาตรฐานและตามกฎหมายกำหนด (Regulatory Compliance)

ปี พ.ศ. 2542-2545 ปฏิบัติงานในตำแหน่งหัวหน้างานฝ่ายประกันคุณภาพ ของบริษัทเอฟแอนด์ เอ็น ยูโนเต็ดฟู้ดส์ จำกัด โดยมีความรับผิดชอบในการจัดการด้านระบบการจัดการสุขลักษณะที่ดีในกระบวนการผลิต (Good Manufacturing Practice : GMP), ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point : HACCP) และ จัดตั้งห้องปฏิบัติการเพื่อสำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์, เคมี ของวัตถุดิบ จนถึงสินค้าสำเร็จรูปให้ได้ตามมาตรฐานและตามกฎหมายกำหนด (Regulatory Compliance) พร้อมทั้งนี้จัดทำระบบการตรวจสอบสินค้าสำเร็จรูปประเภทสินค้าแช่แข็งในการกระจายสินค้า (Cold chain-logistic)

ปี พ.ศ. 2545-2549 ปฏิบัติงานในตำแหน่งผู้ดูแลด้านความปลอดภัยในอาหาร (Hygienist) และ ผู้ประสานงานระบบการบริหารจัดการด้านคุณภาพ (ISO 90001 coordinator) ของบริษัทควอลิตี้ คอฟฟี่ โปรดักต์ จำกัด

ปี พ.ศ. 2549-ปัจจุบัน ปฏิบัติงานในตำแหน่งผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพด้านซัพพลายเชน (Supply Chain) ของบริษัทเนสท์เล่ (ไทย) จำกัด