14882

การปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตของไอศกรีมพื้นบ้านไทย

Contamination of *Staphylococcus aureus* and Servey of Hygiene in the Production of Thai Traditional Ice-cream

T096572

นางสาวพรวิภา เวฬุกาญจนา

นางสาวมยุรี ดิษย์เมธาโรจน์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2539

ปพ.
พ๒๗๙ก
๒๕๓๙

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96572
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1523

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตของไอศกรีมพื้นบ้านไทย

Contamination of *Staphylococcus aureus* and Servey of Hygiene in the Production of Thai Traditional Ice-cream

โดย

นางสาวพรวิภา เวฬุกาญจนา รหัส 35404115

นางสาวมยุรี ดิษย์เมธาโรจน์ รหัส 35404110

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....26/3/39..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(อดิศร เสวตวิวรรณ์)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

(ผศ.ดร.ระดิพร หาเรือนกิจ)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 30 เดือน มี.ค. พ.ศ. 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปพ.
พ 2541
2538

พรวิภา เวฬุกาญจนา และ มยุรี ดิษย์เมธาโรจน์. 2539 : การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตของไอศกรีมพื้นบ้านไทย (A Study on Contamination of *Staphylococcus aureus* and Servey of Hygiene in the Production of Thai Traditional Ice-cream). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์อดิศร เสวตวิวัฒน์, 81 หน้า

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านไทยรสกะทิ พบว่าคุณภาพด้านจุลินทรีย์ในการทดลองครั้งแรกไม่เป็นไปตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข คือมีการตรวจพบ *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีม แต่การผลิตในครั้งที่ 2, 3 และ 4 คุณภาพด้านจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข คือตรวจไม่พบ *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีม ที่เป็นเช่นนี้เพราะในการผลิตครั้งแรกผู้ทำการทดลองควบคุมสุขลักษณะในการผลิตไม่ดีพอ จึงมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่ในการผลิตครั้งต่อไปมีการควบคุมสุขลักษณะในการผลิตให้ดีขึ้น จึงตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในไอศกรีม เมื่อพิจารณาถึงกรรมวิธีการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านซึ่งเป็นอุตสาหกรรมในครอบครัวมีหลายขั้นตอนที่อาจเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในระหว่างการผลิตเพราะไม่ได้ใช้เครื่องมือแบบอัตโนมัติต้องอาศัยแรงงานมนุษย์และมีการสัมผัสกับผิวหนังผู้ประกอบการ ปัญหาเหล่านี้น่าจะแก้ไขได้โดยการให้ความรู้ความเข้าใจเรื่องสุขลักษณะและกรรมวิธีการผลิตที่ถูกต้อง การปรับปรุงสุขวิทยาส่วนบุคคล การทำความสะอาดภาชนะและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต ดังนั้นการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีมพื้นบ้านไทย และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตจึงมีความสำคัญ และเป็นประโยชน์แก่ผู้ผลิตเพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านไทยให้มีคุณภาพทางจุลชีววิทยาที่ดีต่อไป

พรวิภา เวฬุกาญจนา มยุรี ดิษย์เมธาโรจน์		26-3-39
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีนั้น คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณอาจารย์อดิศร เสวตวิวัฒน์ เป็นอย่างสูง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ผศ. วรรณา ตั้งเจริญชัย ที่กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับกรรมวิธีการผลิตไอศกรีมและวิธีการใช้เครื่องมือผลิตไอศกรีม ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในระหว่างการปฏิบัติงาน ขอบพระคุณบุพการี และเพื่อน ๆ น้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจอย่างดีจนได้รับความสำเร็จ

พรวิภา เวฬุกาญจนา
มยุรี ดิษย์เมธาโรจน์
25 มีนาคม 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบาญตาราง	จ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทรรศน์	3
2.1 ไอศกรีม	3
2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร	7
2.3 สุขวิทยาส่วนบุคคล	22
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ	37
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	38
3.3 สารเคมี	38
3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	39
4. ผลการทดลอง	45
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	54
5.2 ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	62
ประวัติผู้แต่ง	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 จำนวนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม	45
4.2 การวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม	46
4.3 การวิเคราะห์ *Escherichia coli* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม	47
4.4 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Escherichia coli*	49
4.5 การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella spp.* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม	50
4.6 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Salmonella spp.*	51
4.7 จำนวนจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต	52
4.8 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบเพื่อเปรียบเทียบผลการแช่แข็งไอศกรีมกะทิระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ไอศกรีมพื้นบ้านไทยเป็นของหวานประเภทเดียวกับไอศกรีม แต่ไม่มีน้ำนมหรือผลิตภัณฑ์นมเป็นส่วนประกอบโดยมากทำด้วยน้ำกับน้ำตาล และวัตถุสำหรับปรุงแต่งผสมกันแล้วทำให้เย็นชนาดกึ่งแข็งกึ่งเหลว ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับไอศกรีม การผลิตไอศกรีมในแหล่งที่มีการสุขาภิบาลโรงงานไม่ดี และการจำหน่ายในลักษณะที่ไม่ถูกต้องอาจมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มาก รวมทั้งเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร การตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในเกณฑ์สูงจะชี้ให้เห็นถึงการผลิต การเก็บรักษาและการจำหน่ายอย่างไม่ถูกต้องตามสุขลักษณะ หรืออุณหภูมิที่เก็บรักษาไม่เหมาะสม

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน ประชาชนจึงนิยมบริโภคไอศกรีมกันมาก จนมีผู้ผลิตเพื่อจำหน่ายเป็นปริมาณมาก โดยเฉพาะในเขตกรุงเทพมหานครมีสถานที่ผลิตไอศกรีมไม่น้อยกว่า 100 แห่งก่อนที่กระทรวงสาธารณสุขจะประกาศให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุม การผลิตกระทำโดยอิสระในรูปของอุตสาหกรรมในครัวเรือนเป็นส่วนใหญ่ และมักผลิตเองขายเอง ในปี พ.ศ. 2515 กระทรวงสาธารณสุขประกาศให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุม จึงได้เริ่มมีการตรวจสอบสถานที่ผลิตไอศกรีมกันอย่างจริงจัง เพื่อให้ถูกต้องตามสุขลักษณะของสถานที่ผลิตอาหารเพื่อจำหน่าย เมื่อพิจารณาถึงกรรมวิธีการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านซึ่งเป็นอุตสาหกรรมครอบครัวในบ้านเรามีหลายขั้นตอนที่อาจเกิดการปะปนของเชื้อ *S. aureus* ในระหว่างการผลิตได้ เนื่องจากไม่ได้ใช้เครื่องมือแบบอัตโนมัติ ต้องอาศัยแรงงานมนุษย์และมีการสัมผัสกับผิวหนังของผู้ประกอบการ ที่มาของเชื้อนี้อาจติดมาตามซอกเล็บ ผิวหนัง หรือบาดแผลของผู้ผลิตหรือผู้ประกอบการ นอกจากนี้อาจติดมากับวัตถุดิบ ภาชนะ ตลอดจนสัตว์และแมลง การไอ และจาม ปัญหาเหล่านี้น่าจะแก้ไขได้โดยการให้ความรู้ความเข้าใจ เรื่องสุขลักษณะและกรรมวิธีการผลิตที่ถูกต้อง การปรับปรุงสุขวิทยาส่วนบุคคล การทำความสะอาดภาชนะและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตการป้องกันสัตว์และแมลงอันเป็นพาหะ การคัดเลือกวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะต้องกระทำเป็นประจำสม่ำเสมอ ดังนั้นการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *S.aureus* ในไอศกรีมพื้นบ้านไทย และการสำรวจสุขลักษณะการผลิตจึงมีความสำคัญ และเป็นประโยชน์แก่ผู้ผลิตเพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านไทยให้มีคุณภาพทางจุลชีววิทยาที่ดีต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย มีดังต่อไปนี้

1. เพื่อวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่อาจปนเปื้อนมาในกระบวนการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านไทย ทำให้สามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพและสุขาภิบาลในการผลิตได้

2. ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีมพื้นบ้านไทย

3. ศึกษาแนวทางและวิธีการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีมพื้นบ้านไทย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 ไอศกรีม (Ice cream)

ไอศกรีม คือ ผลิตภัณฑ์นมแช่แข็ง ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์จากนม น้ำตาล dextrose corn syup น้ำ และสารปรุงแต่งกลิ่นรส อาจมีการเติมไข่ ผลิตภัณฑ์จากไข่ และ stabilizer ไอศกรีม และผลิตภัณฑ์ประเภทไอศกรีมจัดเป็นอาหารหวานประเภทแช่แข็ง ซึ่งได้แก่ frozen custard, ice milk, fruit sherbet และ water ices เป็นต้น (วรรณา และ วิบูลย์ศักดิ์ ,2531)

2.1.1การจัดกลุ่มไอศกรีมทางการค้า

1. Plain ice crem ไอศกรีมที่ประกอบด้วยสารที่ให้สีและกลิ่นในปริมาณน้อยกว่า 5 % ของส่วนผสมของไอศกรีม เช่น ไอศกรีมวนิลา กาแฟ maple และ caramel ice cream

2. Chocolate ไอศกรีมที่เติมผงโกโก้ หรือช็อกโกแลต

3. Fruit ไอศกรีมที่ประกอบด้วยผลไม้ อาจมีการเติมสีหรือกลิ่นของผลไม้บรรจุกระป๋องหรือผลไม้เชื่อมแช่อิ่ม

4. Nut ไอศกรีมที่ประกอบด้วยผลไม้เนื้อแข็ง (nut) เช่น almond , walnuts, ถั่วลิสง,และอื่น ๆ อาจเติมสีหรือกลิ่นเพิ่มเติม

5. Frozen custard , French ice cream, French custard ice cream ไอศกรีมที่ประกอบด้วยไข่ (egg yolk solids) ไม่น้อยกว่า 1.4 % ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์

6. Ice milk ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน 2-7 % MSNF 12-15 % โดยมีการเติมสารให้ความหวาน กลิ่นรส และมีลักษณะแช่แข็งเหมือนไอศกรีม

7. Fruit Sherbet ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากน้ำผลไม้ น้ำตาล stabilizer และ ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายน้ำแข็ง แต่ใช้นม (นมพร้อมมันเนย นมขาดมันเนย นมข้น หรือนมผงแทนที่จะใช้น้ำอย่างเดียว)

8. Ice ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากน้ำผลไม้ น้ำตาล stabilizer อาจมีการเติมกรดผลไม้ สี กลิ่น หรือน้ำ แล้วนำไปแช่แข็ง โดยทั่วไปประกอบน้ำตาล 28-30 % และมีค่า overrun 20-25 % ไม่มีการใช้นมหรือผลิตภัณฑ์นมแต่อย่างใด

9. Confection ไอศกรีมที่มีกลิ่นรสตามต้องการ มีชิ้นลูกกวาด เช่น peppermint, buttercrunch หรือ chocolate chip ในผลิตภัณฑ์

10. Pudding ไอศกรีมที่มีผลไม้ผสม นัท ลูกเกด มีการเติมเหล้า เครื่องเทศ หรือ ไข่ ตัวอย่างเช่น Nesselore และ plum pudding

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. Mousse ไอศกรีมที่ทำจากครีม น้ำตาล สี เติมกลิ่น และนำไปแช่แข็ง บางครั้งใช้นมข้นเพื่อให้ได้เนื้อไอศกรีมที่ดี

12. Variegated Ice cream ไอศกรีมวนิลาธรรมดา ที่มีน้ำเชื่อม หรือของเหลวข้น เช่น ช็อกโกแลต butterscotch ซึ่งทำให้ไอศกรีมมีลายคล้ายหินอ่อน

13. Fanciful Name Ice cream ไอศกรีมที่มักประกอบด้วยส่วนผสมที่ให้กลิ่นต่าง ๆ กัน (กลิ่นผสม)

14. Neapolitan ไอศกรีมสองรสในภาชนะเดียวกัน

15. New York หรือ Philadelphia ไอศกรีมวานิลาธรรมดาที่มีการเติมสีเข้ม อาจเติมไขมันและไข่มากกว่าในสูตรไอศกรีมทั่ว ๆ ไป

16. Soft Serve Ice creams หรือ Ice milk ผลิตภัณฑ์แช่แข็งที่ไม่ต้องผ่านขั้นตอนที่มีชื่อว่า hardening เหมือนไอศกรีมทั่ว ๆ ไป (hardening เป็นกรรมวิธีที่ทำให้ส่วนของน้ำในส่วนผสมไอศกรีมกลายเป็นผลึกน้ำแข็งทั้งหมด) การจำหน่ายผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ไม่ใช้การตัก แต่จะไขจากเครื่องปั่นไอศกรีม (freezer) โดยตรง

17. Rainbow Ice cream ไอศกรีมสายรุ้ง ทำได้จากการเติมสีตั้งแต่ 6 สีขึ้นไป จนทำให้มองเห็นเป็นสีสายรุ้ง เวลาจำหน่ายก็จะไขออกจากเครื่องปั่นไอศกรีมเหมือน Ice milk

2.1.2 มาตรฐานของไอศกรีมตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ของประเทศไทยได้กำหนดไว้ดังนี้

1.ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและแบ่งออกเป็น 5 ชนิด คือ

1.1 ไอศกรีมนม ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์นม

1.2 ไอศกรีมดัดแปลง ไอศกรีมที่ใช้ไขมันอื่นแทนไขมันนมทั้งหมด หรือบางส่วน หรือเป็นไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน แต่มิใช่ผลิตภัณฑ์จากนม

1.3 ไอศกรีมผสม ไอศกรีมนม หรือไอศกรีมดัดแปลงที่ผลไม้ หรือสารอาหารผสมอยู่

1.4 ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง หรือไอศกรีมผสมชนิดผง หรือแห้ง

1.5 ไอศกรีมหวานเย็น ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำตาลและนั้น หรืออาจมีวัตถุอื่นเป็นอาหารผสมอยู่

2.ไอศกรีมนอกจากชนิดแห้ง หรือผง ต้องผ่านกรรมวิธีตามลำดับ ดังนี้

2.1 ผ่านกรรมวิธีการทำให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 68.5 องศาเซลเซียส นานไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผ่านกรรมวิธีการทำให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส นานไม่น้อยกว่า 25 วินาที หรือ

2.3 ผ่านกรรมวิธีการทำให้ร้อนตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบ

2.4 หลังจากผ่านกรรมวิธีการทำให้ร้อนแล้ว ต้องทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.5 ผ่านกรรมวิธีการปั่น กวน หรือผสม ทำให้แข็งตัวที่อุณหภูมิ -2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุในภาชนะและเก็บไว้ที่อุณหภูมิไม่สูงเกิน -2.2 องศาเซลเซียส จนกว่าจะจำหน่าย

3. ไอศกรีมต้องมีคุณภาพดังนี้

3.1 ไอศกรีมนม ประกอบด้วยไขมันเนย (มันเนย) ไม่น้อยกว่า 5 % และ MSNF ไม่น้อยกว่า 7.5 % ของน้ำหนัก

3.2 ไอศกรีมดัดแปลง ประกอบด้วยไขมันทั้งหมดไม่น้อยกว่า 5 %

3.3 ไอศกรีมผสม ผลิตภัณฑ์ต้องมีคุณภาพและมาตรฐานเช่นเดียวกับไอศกรีมนม หรือไอศกรีม ดัดแปลง โดยไม่รวมน้ำหนักผลไม้ หรือวัตถุที่เป็นอาหารอื่นผสมอยู่

3.4 ไอศกรีมหวานเย็นและไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงหรือไอศกรีมผสม ต้องไม่มีกลิ่นหืน ไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล ไม่มีการใช้วัตถุกันเสีย ปริมาณแบคทีเรียไม่เกิน 6×10^5 ในไอศกรีมจำนวนหนึ่งกรัม ไม่พบ *E. coli* ในอาหารจำนวน 0.01 กรัม

3.5 ไอศกรีมชนิดแห้งหรือผงต้องมีกลิ่นตามลักษณะเฉพาะของไอศกรีมชนิดนั้นไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล มีความชื้นไม่เกิน 5% และปริมาณแบคทีเรียไม่เกิน 1×10^5 ในอาหารจำนวน 1 กรัม

2.1.3 มาตรฐานไอศกรีม ต้องมีคุณภาพและมาตรฐาน ดังต่อไปนี้ (พัฒน์,2532)

1. การทำให้ร้อน ต้องร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่น้อยกว่า 150 องศาเซลเซียส (300 องศาฟาเรนไฮต์)และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 2 วินาที

2. การปั่น กวน หรือผสม และทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิไม่เกิน -2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุลงในภาชนะ

3. ไอศกรีมนม ต้องมีมันเนยเป็นส่วนผสมอยู่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก และมีธาตุน้ำนมธรรมดาโดยไม่นับรวมมันเนยอยู่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 7.5 ของน้ำหนัก

4. ต้องไม่มีวัตถุกันเสียเจือปนอยู่

5. ต้องไม่มีสารให้ความหวานแทนน้ำตาล

6. มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน 600,000 ในไอศกรีม 1 กรัม

7. ต้องตรวจไม่พบ *E. coli* ในไอศกรีม 0.01 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานจุลินทรีย์ในไอศกรีม

International Committe of Microbiological Standard of Foods Limits for ice cream (ICMSF)

Test	Limited Per gram	
	(m)	(M)
Simple ice cream		
Standard colony count	10^4	$2.5x10^5$
Coliforms	10	10^3
S. aureus	10	10^2
Salmonella spp.	0	0
Complex (i.e. with added ingredients)		
Standard colony count	$2.5x10^4$	$2.5x10^5$
Coliforms	10^2	10^3
S. aureus	10	10^2
Salmonella spp.	0	0

ที่มา : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข (2538)

m : จำนวนตัวอย่างที่มีจำนวนจุลินทรีย์เท่าหรือน้อยกว่า

: detective or marginally acceptable

M : จำนวนตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งที่มีจำนวนจุลินทรีย์เกินกว่ากำหนดไม่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (gram positive) รูปร่างกลม (cocci) อยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายรวงผึ้งหรือพวงองุ่น ทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน และอยู่ในสภาพที่แห้งหรือ water activity (Aw) ต่ำได้ดี พบตามผิวหนัง โพรงจมูก ลำคอ ของผิวหนังคนและสัตว์ ด้วยเหตุนี้จึงมักทำการตรวจหาเชื้อนี้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งถ้าตรวจพบเชื้อดังกล่าวในผลิตภัณฑ์จะบ่งชี้ถึงว่าขั้นตอนการผลิตอาจมีการปนเปื้อนจากการสัมผัสของผู้สัมผัสอาหาร (food handling) จึงถือได้ว่าเชื้อ *S. aureus* เป็น skin index microorganism ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลของการผลิตอาหาร นอกจาก *S. aureus* จะเป็นจุลินทรีย์บ่งชี้สุขลักษณะส่วนบุคคลแล้ว เชื้อดังกล่าวเมื่อปนเปื้อนลงในอาหารแล้วถ้าสามารถเจริญในอาหารได้ดี จะมีการสร้างสารที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ซึ่งเอนเทอโรทอกซินนี้เป็นสารที่ทนต่อการทำลายด้วยความร้อนดี ดังนั้นถึงแม้ว่าจะนำเอาอาหารที่มีเชื้อและเอนเทอโรทอกซินไปอุ่นหรือต้มก่อนการบริโภค เชื้อ *S. aureus* อาจถูกทำลายจนหมดแต่เอนเทอโรทอกซินของเชื้อยังคงอยู่ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษกับผู้บริโภคได้ดังนั้นการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากจะบอกถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีแล้ว ยังบอกถึงอัตราการเสี่ยงหรือสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษเมื่อตรวจพบเชื้อนี้ในอาหาร (อดิศร, 2539)

วิธีการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* โดยมากจะเน้นถึงเชื้อในกลุ่มที่สามารถผลิตเอนไซม์โคอะกูเลส (coagulase) ที่เรียกว่า coagulase positive *S. aureus* ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อในกลุ่มดังกล่าวสามารถผลิตเอนเทอโรทอกซินได้ดี ดังนั้นไม่ว่าจะเป็นวิธีการใดที่ใช้ตรวจหาเชื้อนี้ ถ้าได้ลักษณะเฉพาะของโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* แล้วจะต้องทำการทดสอบการผลิตเอนไซม์ coagulase ด้วย เพื่อตรวจยืนยันและรายงานผลการตรวจพบ cogaulase positive *S. aureus* ซึ่งการตรวจสามารถทำการตรวจทั้งในเชิงปริมาณ (enumeration) และเชิงคุณภาพว่าพบหรือไม่พบในอาหาร (detection) หลักการของ coagulase test คือ เป็นการทดสอบความสามารถในการผลิต cogaulase เพื่อจำแนก *S. aureus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์ออกจาก *Staplococcus* ชนิดอื่น ๆ เอนไซม์นี้มี 2 รูปแบบ แบบแรกเป็นเอนไซม์ coagulase ที่เกาะอยู่กับผนังเซลของ *S. aureus* หรือเรียกว่า bound coagulase ซึ่งทดสอบโดยใช้สไลด์ แต่ไม่สามารถตรวจสอบเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลวได้ โดยเอนไซม์แบบแรกนี้มีผลทำให้ไฟบริโนเจน (fibrinogen) ในน้ำเหลืองเปลี่ยนเป็นไฟบริน (fibrin) ทำให้น้ำเหลืองหรือเลือดแข็งตัว (clot) เอนไซม์อีกรูปแบบหนึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกหลั่งออกมาจากเซล ตรวจสอบได้โดยใช้หลอดทดลองโดยมี coagulase-reacting factor (CRF) จับกับเอนไซม์ coagulase เป็นสารประกอบที่ซับซ้อนเรียกว่า coagulase-CSF ซึ่งแตกต่างจากทรอมบิน (thrombin) และสารประกอบนี้สามารถเปลี่ยนไฟบริโนเจนให้เป็นไฟบรินได้ (นันทนา, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบโคอะกูเลส (Coagulase Test)

1. การทดสอบโดยใช้สไลด์ (slide coagulase test)

เกลี่ยแบคทีเรียจำนวนหนึ่งผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ที่หยดลงบนสไลด์ (ถ้าเกิดแอคกลูติเนชั่นเอง (autoagglutination) ก็ไม่ต้องทำต่อไป เปลี่ยนเป็นไปทำในหลอดทดลองแทน) หยดพลาสมาของกระต่ายที่ใส่สารกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) ลงไป สังเกตการเกิดตะกอนสีขาวเป็นเกล็ดถ้าเกิดผลบวกช้าโดยใช้เวลา 20-60 นาที ในการตกตะกอน ควรทำในหลอดทดลองเพื่อให้แน่ใจอีกครั้ง

2. การทดสอบโดยใช้หลอดทดลอง (tube coagulase test)

โดยผสมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ซึ่งอาจเป็น Trypticase soy broth (TSB) กับพลาสมาในอัตราส่วน 1:1 (อาจใช้พลาสมาอย่างเดียวก็ได้โดยไม่ต้องผสมกัน TSB) แบ่งใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอดแล้วเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่ต้องการทดสอบ (ต้องเป็นเชื้อที่เพิ่งทำการเพาะเลี้ยงใหม่ ๆ) ลงในหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 ใส่เชื้อที่ทราบแน่ว่าเกิด ๆ coagulation (positive control) ส่วนหลอดที่ 3 ใส่น้ำเกลือแทน (negative control) แล้วบ่มเพาะเชื้อนาน 12-18 ชั่วโมง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วดูผลทุกครึ่งชั่วโมงโดยค่อย ๆ เอียงหลอดดูว่ามีการแข็งตัวของพลาสมาหรือไม่ ห้ามเขย่าเด็ดขาด โดยมากการเกิดผลบวก มักเกิดภายในเวลา 4 ชั่วโมง หากยังไม่ให้ผลบวกให้บ่มเชื้อต่อไป จนครบ 18-24 ชั่วโมง แล้วดูผลอีกครั้ง

การอ่านผล (นันทนา, 2537)

ผลบวก : เกิดการแข็งตัวของพลาสมา โดยมีส่วนที่แข็งตัวเกิน 75% ของปริมาตรของของเหลวทั้งหมดในหลอดทดลอง

ผลลบ : ไม่มีการแข็งตัว หรือมีน้อยกว่า 75% ของปริมาตรของของเหลวทั้งหมดในหลอดทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เป็น selective medium และ differential medium สำหรับแยก *Staphylococcus* ออกจากสิ่งตรวจคือ Mannitol salt agar (MSA) ซึ่งประกอบด้วย beef extract, โซเดียมคลอไรด์ 7.5%, D-manntiol, วุ้นและอินดิเคเตอร์ ใช้ในการจำแนกแบคทีเรีย *Staphyloccus* spp. และแบคทีเรียกลุ่ม *Micrococcus* spp. และ *Streptoccus* spp. ที่สามารถเจริญในเกลือที่มีความเข้มข้น 7.5% สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียอื่น ๆ ไม่สามารถเจริญได้ *S. aureus* สามารถ เจริญบน MSA และสามารถหมักย่อย D-mannitol ให้โคโลนีสีเหลืองและรอบ ๆ โคโลนีเป็นสีเหลืองด้วย แต่แบคทีเรียที่ไม่ผลิตเอนไซม์ coagulase ในกลุ่ม *Staphyloccus* spp. และ *Micrococcus* spp. จะไม่หมักย่อย D-mannitol จะเห็นโคโลนีเป็นสีแดง และรอบ ๆ โคโลนีอาจมีสีแดงหรือสีม่วง การเปลี่ยนแปลงของสารนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงของอินดิเคเตอร์ฟีนอลเรด (phenol red) ซึ่งจะมีสีแดงที่pH >8.4 และจะมีสีเหลืองที่ pH < 6.8 ดังนั้นโคโลนีที่มีสีเหลืองแสดงว่าโคโลนีนั้นผลิตเอนไซม์ coagulase สำหรับในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจใส่ไข่แดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสม สำหรับตรวจว่าแบคทีเรียชนิดนั้นให้เอนไซม์ egg yolk lipase ซึ่งเป็นคุณสมบัติหนึ่งของ *S. aureus* ซึ่งเมื่อย่อยไข่แดงแล้วจะให้กรดไขมันซึ่งตกตะกอนกับเกลืออยู่รอบ ๆ *S. aureus* สำหรับแบคทีเรียที่ไม่ผลิตเอนไซม์ดังกล่าวจะไม่มีการตกตะกอนเกิดขึ้น

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร มีทั้งการตรวจหาเชื้อทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยในเชิงปริมาณนั้นมักจะเป็นการตรวจนับโคโลนีโดยวิธีที่เรียกว่า direct plate count ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอยู่ในอาหารลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเฉพาะ selective plating medium โดยตรง แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ให้ลักษณะเฉพาะว่าเป็น *S. aureus* ซึ่งโดยมากมักใช้ในการตรวจหาเชื้อในอาหารที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก*S. aureus* วัตถุดิบที่จะนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์และอาหารที่จะบริโภคโดยทันที เป็นต้น การตรวจนับปริมาณอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมากในปัจจุบัน ได้แก่ การตรวจนับโดยวิธี most probable number (MPN) ซึ่งวิธีการปฏิบัตินั้นปฏิบัติเช่นเดียวกับการตรวจหาปริมาณเชื้อในกลุ่มโคลิฟอร์มและ *E. coli* โดยวิธี MPN เพียงแต่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเหลวและอาหารเพาะแยกเชื้อชนิดแข็งเท่านั้น โดยที่อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่หน่วยงานมาตรฐานทั่วไปแนะนำให้ใช้ ได้แก่ trypticase soy broth (TSB) ที่มีเกลือ (NaCl) อยู่ 10% โดยอาศัยหลักการที่ว่า เชื้อ *S. aureus* สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (10-20%) และปริมาณเกลือในความเข้มข้นดังกล่าวนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียอื่นที่ปนเปื้อนอยู่ด้วยในอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากว่าเมื่อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียอื่นปนอยู่ จะเจริญแข่งขันสู้กับแบคทีเรียอื่นได้ไม่ดี จึงต้องมีการปรับสภาพอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อและขณะเดียวกันสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียคู่แข่งอื่นไปด้วย ก่อนที่จะนำไปแยกเชื้อในอาหารเลี้ยงชนิดแข็งต่อไป (อดิศร, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 *Salmonella spp*

Salmonella จัดเป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (food-borne disease) ที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งอยู่ใน family Enterobacteriaceae ซึ่งมีสายพันธุ์ต่าง ๆ กันมากมายกว่า 2,000 serotypes แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ขนาดประมาณ 0.5 x 1-3 μ ติดสีแกรมลบหรือ ติดสีแดงเมื่อทำการย้อมเซลโดยวิธีแกรม เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะเหมือนแบคทีเรีย *Escherichia coli* สามารถเจริญได้ทั้งในที่มีอากาศและมีอากาศน้อย (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนไหวได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซล และบางสายพันธุ์ไม่มีแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลจึงไม่สามารถเคลื่อนไหวได้เช่น *S. gallinarum* และ *S. pullorum* เชื้อซาลโมเนลลา สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบพื้น ๆ โดยทั่วไป สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสและแมนิทอลได้ แต่ไม่สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลซูโครส แลคโทส และซอร์โบส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฟอสเฟต แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถสร้างอินโดล (indole) และไม่สามารถย่อยสลายยูเรีย มีปฏิกิริยาออกซิเดส (oxidase) เป็นลบ ส่วนใหญ่สามารถใช้ซิเตรท (citrate) เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ยกเว้น *S. typhi* และ *S. paratyphi* แต่ละสายพันธุ์และซีโรไทป์ (serotype) มีความสามารถในการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์แตกต่างกัน ซาลโมเนลลาแบ่งออกเป็นซีโรไทป์ต่าง ๆ ตาม antigenic structure (H, O และ Vi) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นปรสิตของระบบทางเดินอาหารซึ่งเป็นเชื้อโรคในคนและสัตว์ และพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ การเกิดอาการอาหารเป็นพิษ เนื่องจากการกินอาหารที่มีเชื้อนี้ในปริมาณที่มากพอที่จะแสดงอาการ

การเกิดโรคจากเชื้อซาลโมเนลลามีสาเหตุมาจากสารพิษ 2 ชนิดที่สร้างโดยเชื้อนี้ คือ

1. เอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) จะมีผลต่อ adenylate cyclase system ทำให้ปริมาณ cAMP ในลำไส้เพิ่มขึ้น และชักนำให้เกิดการสะสมของเหลวภายในเซลของลำไส้

2. ไซโตทอกซิน (cytotoxin) จะไปทำลายเซลบุผนังลำไส้ทำให้เชื้ออื่น ๆ เข้าทำลายเยื่อบุผนัง ลำไส้ได้ง่าย ทำให้ลำไส้อักเสบ เยื่อบุผนังลำไส้ถูกทำลายเพิ่มมากขึ้น

โรคที่มีสาเหตุจากเชื้อซาลโมเนลลาอาจแบ่งตามอาการได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. Enteric fever เป็นโรคที่มีไข้สูง ซึ่งได้แก่ ไข้รากสาด (typhoid fever) และไข้รากสาดน้อย (paratyphoid fever) ลักษณะของโรคไข้รากสาดมีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. typhi* เป็นโรคที่รุนแรงที่สุดที่เกิดจากแบคทีเรียสกุลนี้ เชื้อที่ปนเปื้อนกับอาหารที่รับประทานเข้าไป จะผ่านลำไส้เล็กแล้วเข้าสู่กระแสโลหิต กระจายไปสู่อวัยวะต่าง ๆ ผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลีย ปวดศีรษะ มีไข้สูงเป็นเวลานาน ไอ เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสียหรือท้องผูก ชีพจรเต้นช้า ท้องบวมและนุ่ม ม้ามโต มีเลือดกำเดาไหล เลือดออกเป็นจุด ๆ ใต้ผิวหนังบริเวณหน้าอกและลำตัว เหงื่อออกมาก รู้สึกหนาว ตัวสั่น มึนงง และ ถ้าอาการรุนแรงอาจถ่ายเป็นเลือด โรคนี้จะมีระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ หรือ 7 ถึง 28 วัน หลังจากได้รับเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ได้รับจะต้องมากกว่า 10^6 เซล/กรัมอาหาร จึงจะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เกิดโรคได้ ส่วน ไข้รากสาดน้อยมีลักษณะการเกิดโรคและอาการคล้ายกับไข้รากสาด แต่เชื้อที่เป็นสาเหตุคือ *S. paratyphi* มีอาการรุนแรงน้อยกว่าไข้รากสาด มีระยะฟักตัวของเชื้อสั้นกว่า มีไข้ต่ำกว่า โรค enteric fever สามารถแยกเชื้อได้จากเลือดและอุจจาระของผู้ป่วย

2. Gastroenteritis มีอาการที่สำคัญคือ ผู้ป่วยจะปวดท้องอย่างรุนแรง มีไข้ต่ำ อุจจาระร่วง ถ่ายเป็นน้ำ หนาวสั่น ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เกิดจากการกินสารพิษที่แบคทีเรียนี้สร้างขึ้นและสะสมอยู่ในอาหาร หรือกินอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนเข้าไป เมื่อเชื้อเจริญในลำไส้จะปล่อยสารพิษออกมา จึงตรวจไม่พบเชื้อในเลือดของผู้ป่วย มีระยะฟักตัวของโรคสั้นกว่า enteric fever มาก คือมีระยะฟักตัวเพียง 8 ชั่วโมง

การได้รับเชื้อนี้อาจจะได้รับเชื้อโดยตรงจากคนและสัตว์ที่เป็นโรค เชื้อจากอุจจาระจะผ่านลงสู่แหล่งน้ำซึ่งคนหรือสัตว์ที่กินน้ำ หรือกินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้จากน้ำก็จะได้รับเชื้อโรค หรือได้รับเชื้อที่มากับฝุ่นละอองจากมูลสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ มีโอกาสมากที่จะถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้ที่ติดมากับอุจจาระของสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีเชื้อซาลโมเนลลาหลายชนิดที่เมื่ออยู่ในร่างกายของสัตว์แล้วสัตว์ไม่แสดงอาการเป็นโรค แต่จะเป็นพาหะของโรคโดยจะขับถ่ายอุจจาระที่มีเชื้อนี้ออกมาเมื่อถ่ายทอดไปสู่คนทำให้คนแสดงอาการของโรคที่รุนแรงได้ นอกจากนี้ยังอาจได้รับเชื้อทางอ้อมจากการกินอาหารที่ผ่านการปรุงที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ผู้ปรุงอาหารที่มีเชื้อโรคนี้ก็เป็นตัวการที่สำคัญทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรคผ่านทางอาหารไปสู่ผู้อื่น

การป้องกันทำได้โดยระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหาร กินอาหารที่ผ่านการปรุงโดยใช้ความร้อน ระวังไม่ใช้ภาชนะและเครื่องมือที่ใช้เตรียมอาหารดิบก่อนปรุงและอาหารที่ผ่านการหุงต้มแล้วร่วมกัน ในการเตรียมวัตถุดิบในการปรุงอาหารควรหั่น ปอก ล้าง อาหารประเภทผัก หรืออาหารที่จะผ่านความร้อนน้อยก่อนแล้ว จึงหั่น สับ อาหารประเภทเนื้อสัตว์ต่าง ๆ ต้องล้างมือให้สะอาดหลังจากหยิบอาหารดิบในระหว่างการปรุงอาหาร ควรรับประทานอาหารที่ปรุงเสร็จใหม่ ๆ และควรเก็บอาหารในตู้เย็น

เนื่องจากเชื้อซาลโมเนลลามีการแพร่กระจายผ่านทางอาหาร ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลา จึงควรตรวจในอาหารและวัตถุดิบที่ใช้ในการประกอบอาหารโดยเฉพาะพวกที่มีความเป็นกรดต่ำ ควรตรวจในการควบคุมการผลิตและการควบคุมการนำเข้าและส่งออกอาหารระหว่างประเทศ มีวิธีการตรวจหาซาลโมเนลลามากมายหลายวิธี การเลือกวิธีใดมาใช้ในการตรวจให้เหมาะสมนั้นมีปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องหลายประการ ซึ่งรวมถึงลักษณะโดยธรรมชาติของตัวอย่าง และขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ โดยทั่วไปที่ทำในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการตรวจวิเคราะห์ซาลโมเนลลาในอาหาร

ประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ คือ

ก.การเตรียมตัวอย่างอาหาร (Preparation of Sample) การเลือกวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมเป็นสิ่งที่ละเลยไม่ได้เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ไม่ผิดพลาด ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างจะแตกต่างกันตามชนิดของตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่างทุกขั้นตอนต้องใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ การวิเคราะห์ส่วนใหญ่จะใช้ตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเหลว 225 มิลลิลิตร ในขวดขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างกระจายทั่ว ปิดฝาให้แน่นแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง เขย่าและปรับพีเอชให้ได้ 6.8 ± 2.0 ด้วย 1 N.NaOH หรือ 1 N.HCl ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว คลายเกลียวฝาขวดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง เป็นหลัก นอกจากจะระบุให้ทำเป็นอย่างอื่น ดังนี้

1. ไข่ผง น้ำนม อาหารเด็กอ่อน แป้งเค้กสำเร็จรูป หรืออาหารอื่นที่มีลักษณะเดียวกัน ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในขวดที่ปราศจากเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร เติมอาหารแลคโตสบรอท (Lactose Broth, LB) 15 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทยอยใส่ LB อีก 3 ครั้ง ครั้งละ 10 10 และ 190 มิลลิลิตร จนครบ 225 มิลลิลิตร

2. ไข่สดเป็นฟอง ไข่ที่เคาะเอาเปลือกออกแล้วตีให้เป็นเนื้อเดียวกัน ไข่ต้ม ในกรณีไข่ที่เป็นฟองให้ล้างให้สะอาดแล้วแช่ใน 0.1% เมอร์คิวริกคลอไรด์ให้ท่วมนาน 1 ชั่วโมง เทสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ออกแล้วเติม 70% แอลกอฮอล์ ลงไปแทน ทิ้งไว้ 30 นาที ตอกไข่เอาเฉพาะไข่แดง ทิ้งไข่ขาว ทั้งนี้เนื่องจากในไข่ขาวมีสารยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลา ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นไข่ต้มให้ปอกเอาเฉพาะไข่แดงมาทำการตรวจ โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่เติมในอาหารทริปติกซอยบรอท (Tryptic Soy Broth, TSB) 225 มิลลิลิตร

3. นมผง ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 225 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแล้วเขย่าแรง ๆ ให้นมละลายหมด ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ปรับพีเอช 6.8±2.0 เติมสารละลาย 1% ของสีบริลเลียนท์กรีน (brilliant green dye) 0.45 มิลลิลิตร

4. นมผงขาดมันเนย ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม แล้วค่อย ๆ โรยตัวอย่างลงบนผิวของบริล-เลียนท์กรีนวอเตอร์ (brilliant green water; ใช้สารละลาย 1% brilliant green dye 2 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 1 ลิตร) 225 มิลลิลิตร

5. เคซีน (casein) ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในโถของเครื่องตีปน (blender) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติมอาหาร LB 225 มิลลิลิตร ปั่นนาน 2 นาที ถ่ายใส่ขวดที่ปราศจากเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร

6. แป้งถั่วเหลือง ค่อย ๆ โรยตัวอย่าง 25 กรัม ลงบนอาหาร LB 225 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. อาหารที่มีไข่เป็นองค์ประกอบ เนยแข็ง สลัด ขนมปัง ผักผลไม้สด ผักผลไม้แช่แข็ง ผักผลไม้แห้ง นัท กุ้ง หอย ปู ปลา หรืออาหารอื่นที่มีลักษณะเดียวกัน ในกรณีที่เป็นอาหารแช่แข็ง ให้ละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 18 ชั่วโมง หรือกรณีตัวอย่างมีขนาดใหญ่มากให้ละลายโดยใช้อ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการละลายไม่เกิน 15 นาที ทั้งนี้เพื่อให้การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นให้น้อยที่สุด และลดการทำให้เซลของซาลโมเนลลาบอบช้ำ ซึ่งจะมีผลต่อการวิเคราะห์ จากนั้นชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในโถของเครื่องปั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติมอาหาร LB 225 มิลลิลิตร ปั่นนาน 2 นาที ถ่ายใส่ขวดที่ปราศจากเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร

8. ยีสต์แห้ง ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในขวดที่ปราศจากเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร เติมอาหาร TSB 225 มิลลิลิตร ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นยีสต์ทำขนมปัง (active dried yeast) นั้น ขั้นตอนการตรวจต่อไปให้ทำต่างจากตัวอย่างชนิดอื่น ๆ ดังนี้ หลังจากบ่มเชื้อแล้ว 24 ชั่วโมง ให้ดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหารลอริลทริปโตสบรอท (Lauryl Tryptose Broth, LTB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และอีก 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหารเตตราไทโอเนทบรอท (Tetrathionate Broth, TTB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง จากนั้นเขย่าให้ทั่ว ใช้ลูปขนาด 3 มิลลิเมตร ถ่ายเชื้อโดยการขีดลงบนอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อ

9. เกล็ดน้ำตาลและน้ำเชื่อมสำหรับโรยขนม ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหารนิวเทรียนบรอท (Nutrient Broth, NB) 225 มิลลิลิตร

10. เครื่องเทศ

10.1 พริกไทย เมล็ดคื่นฉ่ายฝรั่ง คื่นฉ่ายฝรั่งอบแห้ง พริกป่น พริกแห้ง ผักชีฝรั่งอบแห้ง เมล็ดงา ผักอบแห้ง หรือเครื่องเทศประเภทเดียวกันซึ่งไม่มีฤทธิ์ยับยั้งซาลโมเนลลา ให้ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร TSB 225 มิลลิลิตร

10.2 หอม กระเทียม มีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งซาลโมเนลลาจะต้องทำลายฤทธิ์ยับยั้งโดยการเติม potassium sulfite ลงในอาหาร TSB ในอัตราส่วน 5:1 ก่อนนำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อ ให้ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร TSB ที่เติม potassium sulfite 225 มิลลิลิตร

10.3 กานพลู อบเชย allspice oregano หรือเครื่องเทศประเภทเดียวกัน ที่มีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งซาลโมเนลลาและยังไม่ทราบวิธีการทำลายฤทธิ์ยับยั้ง จะต้องเจือจางเครื่องเทศเหล่านี้ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในระดับต่ำกว่าระดับที่จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อซาลโมเนลลา โดยทำการตรวจอบเชย oregano ที่ระดับความเจือจางในอัตรา ปริมาณตัวอย่างต่ออาหารเลี้ยงเชื้อในอัตรา 1 ต่อ 100 ส่วน กานพลูเจือจางในอัตรา 1 ต่อ 1,000 ให้ชั่งตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 25 กรัม ใส่ในอาหาร TSB 225 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. ลูกอม และส่วนที่ใช้เคลือบลูกอม ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่น้ำนมชาดมันเนย 225 มิลลิลิตร ในโถปั่น ใช้เครื่องปั่นนาน 2 นาที แล้วถ่ายใส่ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร

12. เนื้อมะพร้าว ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร **LB** 225 มิลลิลิตร ในขวด 500 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง เขย่าและปรับพีเอชให้ได้ 6.8 ± 0.2 เติมสารลดแรงตึงผิว Triton X-100 ปริมาณ 2-3 หยด

13. สีผสมอาหาร สีผสมอาหารที่เมื่อละลายน้ำในอัตรา 10% แล้วมีพีเอชเท่ากับหรือสูงกว่า 6.0 ให้ใช้วิธีการตรวจเช่นเดียวกับข้อ 1. ส่วนสีผสมอาหารที่มีพีเอชต่ำกว่า 6.0 ให้ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร TT ที่ไม่เติมสีบริลเลียนท์กรีนปริมาตร 225 มิลลิลิตร หลังจากปรับพีเอช 6.8±0.2 จึงเติมสารละลาย 0.1% สีบริลเลียนท์กรีน ปริมาตร 2.25 มิลลิลิตร

14. เจลาติน ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร LB 225 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 5% ของเอนไซม์เจลาติเนส (gelatinase) 5 มิลลิลิตร

15. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ตัวอย่างที่ทำให้สุกแล้วหรือผ่านการทำแห้งแล้ว ให้ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในโถของเครื่องปั่น เติมอาหาร LB 225 มิลลิลิตร ปั่นนาน 2 นาที ถ่ายใส่ขวดที่ปราศจากเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง เขย่าและปรับ พีเอชให้ได้ 6.8±0.2 เติมสารลดแรงตึงผิว TritonX-100 2-3 หยด สำหรับตัวอย่างที่เป็นเนื้อสดและตัวอย่างที่วินิจฉัยแล้วว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อมาก ไม่ต้องเติมสารลดแรงตึงผิว

16. ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสัตว์ หรือซากสัตว์ที่วางขายทั้งตัว ในกรณีที่ชิ้นส่วนของสัตว์ 1 ชิ้นมีน้ำหนักใกล้เคียงกับ 25 กรัม ให้ใช้ชิ้นส่วนของสัตว์ 1 ชิ้น ใส่ในอาหาร LB 225 มิลลิลิตร แต่ถ้าชิ้นตัวอย่างมีขนาดใหญ่ให้ขยายขนาดการตรวจให้ใหญ่ขึ้นแต่ยังคงอัตราส่วนของตัวอย่างต่ออาหาร LB เป็น 1 ต่อ 9 โดยประมาณ เช่น ใช้ตัวอย่างประมาณ 300-400 กรัม ให้เตรียม LB ไว้ 3,500 มิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างลงในถุงพลาสติกขนาด 28x37 เซนติเมตร ที่ปราศจากเชื้อ เติม LB ลงไปให้ท่วมชิ้นตัวอย่าง วางถุงลงในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 4 ลิตร วางบนเครื่องเขย่าอัตราการเขย่า 100 ครั้งต่อนาที ถ่ายอาหาร LB ออกใส่ขวดขนาด 5 ลิตร แล้วเติม LB ลงไปให้ท่วมชิ้นตัวอย่างอีกและเขย่า ทำต่อไปทำนองเดียวกันอีกจนหมด LB ที่เตรียมไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.การแยกเชื้อซาลโมเนลลา (Isolation of *Salmonella*)

ตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมงแล้ว สำหรับตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่ TTB ให้ทำตามขั้นตอนต่อไปนี้ตั้งแต่ข้อ 1. ส่วนตัวอย่างที่ใส่ TTB แล้ว ให้ข้ามเริ่มทำตั้งแต่ข้อ 3.

1. ดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร TTB 10 มิลลิลิตร อีก 1 มิลลิลิตร ใส่ในเซเลไนท์ซิสทีน (Selenite Cystine Broth, SCB) 10 มิลลิลิตร ทำ 2 ซ้ำ แต่ถ้าตัวอย่างเป็นกุ้งสดให้ใช้ Rappaport Vassiliadia (RV) แทน SCB และเขย่าตัวอย่างเพียงเบา ๆ และดูดเอาตัวอย่างเฉพาะที่ผิวหน้า

2. บ่มหลอดอาหาร SCB และ TTB ที่ถ่ายเชื้อลงไปแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง ส่วน RV บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นาน 24±2 ชั่วโมง

3. ใช้ลูปขนาด 3 มิลลิเมตร ถ่ายเชื้อจากหลอดทดสอบแต่ละหลอดขีดลงบนอาหาร XLD และ HE ในจานเพาะเชื้อ

4. นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง

5. ตรวจผลลักษณะโคโลนีที่น่าสงสัยว่าจะเป็นเชื้อซาลโมเนลลา บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

5.1 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Hektoen Enteric (HE) โคโลนีมีสีน้ำเงินแกมเขียวหรือน้ำเงิน หรือดำเป็นมัน อาจมีจุดดำเป็นมันตรงกลางโคโลนีหรือไม่ก็ได้ มีซาลโมเนลลาบางสายพันธุ์ที่มีลักษณะผิดไป (atypical) โดยโคโลนีมีสีเหลือง อาจมีจุดดำตรงกลางโคโลนีหรือไม่มีก็ได้

5.2 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) โคโลนีมีสีชมพูหรือดำเป็นมัน อาจมีจุดดำเป็นมันตรงกลางโคโลนีหรือไม่มีก็ได้ มีซาลโมเนลลาบางสายพันธุ์ที่มีลักษณะผิดไป โดยโคโลนีมีสีเหลือง อาจมีจุดดำตรงกลางโคโลนีหรือไม่มีก็ได้

5.3 ถ้าไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นเลยบนอาหารทั้งสองชนิด ให้สรุปได้ว่าตรวจไม่พบเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่าง 25 กรัม

6. เลือกโคโลนีที่น่าสงสัยว่าจะเป็นเชื้อซาลโมเนลลาที่เหมือนกันอย่างน้อย 2 โคโลนีต่อ 1 ลักษณะโคโลนีที่เหมือนกัน โดยพยายามเลือกโคโลนีที่อยู่เดี่ยว ๆ ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Triple Sugar Iron (TSI) และ Lysine Iron Agar (LIA) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะให้ใกล้ตรงศูนย์กลางของโคโลนีให้มากที่สุด แล้วปลูกเชื้อลงบนอาหาร TSI ก่อน โดยการขีดบน slant แล้วแทงลงในวุ้นจนถึงก้นหลอด แล้วปลูกเชื้อต่อไปบนอาหาร LIA โดยไม่ต้องเผาเข็มเขี่ยเชื้อ ให้แทงลงในวุ้นจนถึงก้นหลอดก่อนแล้วจึงขีดบน slant คลายเกลียวฝาหลอดทดสอบที่ถ่ายเชื้อลงไปแล้วให้หลวมเพื่อให้สภาพภายในหลอดเป็นสภาพที่มีอากาศและป้องกันไม่ให้เกิดการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มากเกินไป ข้อควรระวังอีกประการหนึ่ง คือ เนื่องจากปฏิกิริยาในอาหาร LIA ต้องการสภาพไร้อากาศอย่างยิ่งยวด ดังนั้นในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมอาหาร LIA จะต้องให้ระยะความสูงของอาหารในหลอดจากก้นหลอดถึงก้น slant ไม่น้อยกว่า 4 เซนติเมตร ส่วนจานเพาะเชื้อที่ถ่ายเชื้อออกไปแล้วให้เก็บไว้ในตู้เย็น

7. บ่มหลอดทดสอบอาหาร TSI ที่ถ่ายเชื้อลงไปแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ±2 ชั่วโมง และบ่มหลอดทดสอบอาหาร LIA ที่ถ่ายเชื้อลงไปแล้วไว้ที่อุณหภูมิเดียวกัน แต่ใช้เวลานานกว่าคือ 48 ± 2 ชั่วโมง เชื้อซาลโมเนลลาจะให้ผลการทดสอบในอาหาร TSI เป็นสีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีเหลือง ซึ่งมีสภาพเป็นกรด แสดงว่าสามารถหมักน้ำตาลกลูโคสและสีของอาหารส่วนที่เป็น slant จะเป็นสีแดง ซึ่งมีสภาพเป็นด่าง แสดงว่าไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโทสและซูโครส (acid butt, alkaline slant) ซึ่งอาจมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือไม่ก็ได้โดยสังเกตจากอาหารจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ส่วนในอาหาร LIA จะให้ผลการทดสอบเป็นสีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีม่วงซึ่งมีสภาพเป็นด่าง (alkaline butt) แต่ถ้าไม่ใช่เชื้อซาลโมเนลลา สีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีเหลืองซึ่งมีสภาพเป็นกรดเท่านั้น อย่าทิ้งเชื้อที่เปลี่ยนสีของอาหารส่วนก้นหลอดเป็นสีอื่น ๆ นอกจากสีเหลือง เชื้อซาลโมเนลลาเกือบทั้งหมดจะสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในอาหาร LIA โดยอาหารบริเวณก้นหลอดจะเปลี่ยนเป็นสีดำ

8. จากผลการทดสอบในข้อ 7. ให้สงสัยไว้ก่อนว่าเชื้อที่ให้สีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีม่วงในอาหาร LIA อาจเป็นเชื้อซาลโมเนลลา โดยไม่ต้องคำนึงถึงว่าปฏิกิริยาของเชื้อนั้นในอาหาร TSI จะให้ผลบวกหรือไม่ และจะต้องทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยาของเชื้อนี้ต่อไปเสมอ เชื้อที่ให้สีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีเหลืองในอาหาร LIA และให้สีของอาหารส่วนก้นหลอดจะเป็นสีเหลืองและสีของอาหารส่วนที่เป็น slant จะเป็นสีแดงในอาหาร TSI ก็อาจเป็นเชื้อซาลโมเนลลา ซึ่งรวมถึง *S. arizonae* ต้องทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยาของเชื้อนี้ต่อไปด้วย ส่วนเชื้อที่ให้สีของอาหารส่วนก้นหลอดเป็นสีเหลืองในอาหาร LIA และให้สีของอาหารส่วนก้นหลอดเป็นสีเหลืองและสีของอาหารส่วนที่เป็น slant เป็นสีเหลืองในอาหาร TSI ให้ทิ้งไป เนื่องจากไม่ใช่เชื้อซาลโมเนลลา ถ้าหากตรวจไม่พบเชื้อที่ให้ผลการทดสอบในอาหาร LIA และ TSI ว่ามีแนวโน้มที่จะเป็นเชื้อซาลโมเนลลาเลย และยังมีโคโลนีบนอาหาร XLD และ HE ในจานเพาะเชื้อที่ได้เก็บไว้ในตู้เย็น ยังไม่ได้เก็บมาทดสอบ ให้เก็บมาทดสอบเพิ่มเติมในอาหาร LIA และ TSI ตามวิธีข้างต้น ให้เก็บเชื้อที่แยกได้และผ่านการทดสอบข้างต้นแล้วไว้ในอาหาร TSI เพื่อทำการทดสอบต่อไป

9. ให้ทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยาของเชื้อที่แยกได้อย่างน้อย 6 เชื้อต่อทุก ๆ ปริมาณตัวอย่างที่นำมาทำการวิเคราะห์ 25 กรัม หากไม่พบเชื้อที่เป็นซาลโมเนลลาเลย ให้นำเชื้อที่แยกได้และผ่านการทดสอบจากข้อ 7. ที่เหลือมาทดสอบจนพบหรือจนหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.การจำแนกเชื้อซาลโมเนลลา (Identification of *Salmonella*)

1. ทำการแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยการนำเชื้อที่เก็บไว้ในอาหาร TSI มาขีดบนอาหาร XLD หรือ HE โดยใช้เทคนิคการขีดเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่มีลักษณะของเชื้อซาลโมเนลลาตามที่ได้กล่าวมาแล้วอย่างน้อย 2 โคโลนี ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร TSI และ LIA ตรวจผลยืนยันอีกครั้งหนึ่งว่าเชื้อที่จะนำไปทดสอบในขั้นต่อไปนี้มีลักษณะของเชื้อซาลโมเนลลา

2. การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยา

2.1 ทดสอบการสร้างเอนไซมยูริเอส (Urease Test)

2.1.1 วิธีทดสอบแบบเดิม ใช้เข็มเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อที่เก็บไว้ในอาหาร TSI ลงในหลอดอาหารยูเรียบรอท (urea broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พร้อมกับหลอดควบคุมที่เป็นอาหารยูเรียบรอทที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ บ่มไว้นาน 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าอาหารเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงแสดงว่ามีการสร้างเอนไซม์ยูริเอส ให้ผลเป็นบวก แต่ลักษณะของเชื้อซาลโมเนลลา จะไม่สร้างเอนไซม์ยูริเอส คือ สีของอาหารจะไม่เปลี่ยนแปลง

2.1.2 วิธีทดสอบแบบรวดเร็ว จะใช้เวลาทดสอบเพียง 2 ชั่วโมง ต่างจากวิธีแรกคือใช้เชื้อปริมาณมาก อาหารที่ใช้ทดสอบมีปริมาณยูเรียและ buffer capacity ต่ำ ทำโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อขนาด 3 มิลลิเมตร ถ่ายเชื้อจากอาหาร TSI 2 ครั้ง ลงในหลอดอาหารยูเรียบรอทชนิดทดสอบแบบรวดเร็ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับหลอดควบคุม บ่มนาน 2 ชั่วโมง ถ้าอาหารเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงแสดงว่าให้ผลเป็นบวก เก็บเชื้อที่ให้ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ยูริเอสเป็นลบไว้ทดสอบต่อไป ส่วนเชื้อที่ให้ผลเป็นบวกให้ทิ้ง

2.2 การทดสอบเชื้อที่ให้ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ยูริเอสเป็นลบ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร TSI ลงในทริปโตนบรอท (Tryptone Broth) หรือทริปโตเฟนบรอท (Tryptophane Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 2 ชั่วโมง แล้วทำการทดสอบดังนี้

2.2.1 ทดสอบการใช้ KCN ในการเจริญ โดยใช้โพแทสเซียมไซยาไนด์บรอท (KCN) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจากทริปโตเฟนบรอทลงใน KCN Broth แล้วปิดฝาหลอดให้แน่น บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ± 2 ชั่วโมง สังเกตการเจริญของเชื้อจากความขุ่นของอาหารในหลอดทดสอบหลังจาก 24 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมเชื้อซาลโมเนลลา จะไม่สามารถเจริญในอาหารนี้โดยอาหารในหลอดทดสอบจะไม่ขุ่น

2.2.2 ทดสอบการเจริญในอาหารมาโลเนตบรอท (Malonate Broth) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจากทริปโตเฟนบรอทลงในมาโลเนตบรอท บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48±2 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารในหลอดทดสอบหลังจาก 24 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96572

ควบคุมเชื้อซาลโมเนลลา จะให้ผลการทดสอบเป็นลบ คือจะไม่เปลี่ยนสีของอาหารนี้โดยอาหารในหลอดทดสอบจะมีสีเขียวหรือไม่เปลี่ยนสี (ถ้าผลการทดสอบเป็นบวกจะให้สีน้ำเงิน)

2.2.3 ทดสอบการเกิดอินโดล (indole) โดยหยด Kovacs' reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร ลงในทริปโตเฟนบรอทที่เหลือ ปริมาตรประมาณ 5 มิลลิลิตร เชื้อซาลโมเนลลาจะให้ผลการทดสอบเป็นลบ คือจะไม่เกิดชั้นของเหลวสีแดงเข้มที่ผิวของอาหารในหลอดทดสอบ ถ้าหากเกิดเป็นชั้นของเหลวสีส้มหรือสีชมพูให้บันทึกผลเป็นบวกลบ (±)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาทางชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยาของ *Salmonella*

Test or Substrate	Results		*Salmonella* species reaction[a]
	Positive	Negative	
1. Glucose (TSI)	yellow butt	red butt	+
2. Lysine Decarboxylase (LIA)	purple butt	yellow butt	+
3.Hydrogen sulfide (TSI & LIA)	blackening	no blackening	+
4. Urease	purple-red color	no color change	-
5. Lysine Decarboxylase Broth	purple color	yellow color	+
6. Phenol red ducitol broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	+[b]
7. KCN broth	growth	no growth	-
8. Malonate b th	blue color	no color change	-[c]
9. Indole test	violet color at surface	yellow color at surface	-
10. Polyvalent flagella test	agglutination	no agglutination	+
11. Polyvalent somatic test	agglutination	no agglutination	+

12. Phenol red lactose broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	-
13. Phenol red sucrose broth	yellow color and/or gas	no gas; no color change	-
14. Voges-proskauer test	pink-to-red color	no color change	-
15. Methyl red test	diffuse red color	diffuse yellow color	+
16. Simmons citrate	growth; blue color	no growth; no color change	V

a+ = 90% or more positive in 1 or 2 days; a- = 90% or more negative in 1 or 2 days;

av = variable

b = majority of *S. arizonae* cultures are negative.

c = majority of *S. arizonae* cultures are positive.

ที่มา : Kauffman-White Scheme

ตารางที่ 2 เกณฑ์สำหรับการตัดสินว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทำการทดสอบนั้นไม่ใช่เชื้อซาลโมเนลลา

Test or Substrate	Results
1. Urease	positive (purple-red color)
2. Indole Test	positive (violet color at surface)
3. Polyvalent flagella (H) test or Spicer-Edwards flagella test	negative (no agglutination)
4. Lysine decarboxylase	negative (yellow color)
5. KCN broth	positive (growth)
6. Phenol red lactose broth	positive (yellow color and/or gas)[ab]
7. Phenol red sucrose broth	positive (yellow color and/or gas)[b]
8. KCN broth	positive (growth)
9. Voges-Proskauer test	positive (pink-to-red color)
10. Methyl red test	negative (diffuse yellow color)

a Test malonate broth positive cultures further to determine if are *S.arizonae*

b Do not discard positive broth cultures if corresponding LIA culture give typical *Salmonella* reaction; test further to determine if they are *Salmonella* species.

ที่มา : Kauffman-White Scheme

14882

2.3 สุขวิทยาส่วนบุคคล

การที่สุขาภิบาลของโรงงานอุตสาหกรรมอาหารจะดีหรือไม่เพียงใดนั้น นอกจากจะขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูป น้ำที่ใช้ในโรงงาน กรรมวิธีที่ใช้ในการทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือ การกำจัดน้ำเสียและขยะ การป้องกันและกำจัดแมลง การควบคุมสัตว์แทะและสัตว์เลี้ยงแล้ว ยังขึ้นกับสุขวิทยาส่วนบุคคลของบุคลากรที่ทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารนั้น ๆ ด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งสุขวิทยาส่วนบุคคลของพนักงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับแปรรูปอาหารโดยตรง ถ้าหากพนักงานที่มีหน้าที่ในการแปรรูปอาหารมีสุขวิทยาส่วนบุคคลที่ไม่ดีโอกาสที่ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตได้จะมี คุณภาพไม่ดีหรือไม่ได้มาตรฐานจะมีมากขึ้น เพราะพนักงานที่มีหน้าที่ดังกล่าวจะเป็นผู้แพร่เชื้อได้ดีที่สุด ไม่ว่าจะแพร่ไปยังผลิตภัณฑ์อาหารที่จะผลิต หรือแพร่ไปยังผู้ร่วมงานก็ตาม ถ้าพนักงานผู้นั้นไม่รักษาความสะอาด เช่น ไม่ล้างมือหลังจากเข้าห้องน้ำ แต่งกายด้วยเสื้อผ้าที่สกปรก เป็นผู้ที่มีนิสัยชอบล้วง แคะ แกะ เกา หรือชอบไอ จามโดยไม่มีการปิดปากและจมูก มีสุขภาพไม่ดี เนื่องจากโรคภัยต่าง ๆ หรือเป็นพาหะของโรคอยู่ เชื้อโรคต่าง ๆ จากร่างกายหรือเสื้อผ้าของพนักงานผู้นี้อาจปนเปื้อนไปสู่อาหารได้ ซึ่งอาจก่อปัญหาให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคต่อไป เช่น อาจทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหาร เช่น อหิวาต์ ไทฟอยด์ และบิด เป็นต้น

ปัจจัยสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงในเรื่องเกี่ยวกับสุขวิทยาส่วนบุคคล ได้แก่

1. ศีรษะและผม
2. ตา
3. หู
4. ปากและฟัน
5. มือและเล็บ
6. เท้า
7. ผิวหนัง
8. ระบบทางเดินหายใจ
9. ระบบทางเดินอาหาร
10. ระบบสืบพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศีรษะและผม

เส้นผมและหนังศีรษะถ้าหากไม่มีการรักษาความสะอาดให้ดี โอกาสที่เชื้อโรคต่าง ๆ จากผมและหนังศีรษะจะปนเปื้อนลงในอาหารจะมีมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าหากพนักงานผู้นั้นชอบเกาศีรษะ ไม่สวมหมวกหรือผ้าคลุมศีรษะในขณะปฏิบัติงาน เพราะฝุ่นผง รังแค หรือเส้นผม อาจหล่นหรือปนเปื้อนลงในอาหารได้ ฉะนั้นในระหว่างประกอบและแปรรูปอาหารจึงควรให้พนักงานสวมหมวกหรือมีผ้าคลุมเพื่อป้องกัน และควรมีการรักษาความสะอาดของเส้นผมโดยมีการสระผมบ่อย ๆ ถ้าหากหนังศีรษะเป็นโรค ก็ควรรีบทำการรักษาโดยเร็ว

จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่พบในเส้นผมได้แก่ *Staphylococcus aureus, Escherich coli Streptococcus viridan* และพวกแกรมบวกต่าง ๆ ทั้งที่เป็นรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม นอกจากนี้ยังพบว่ามีพวกยีสต์ รา และแอคติโนมัยซีส อีกด้วย ตัวอย่างเช่น *Aspergillus awamori* , *Aspergillus fumigatus* , *Pityrosporum ovals* , *Pityrosporum orbiculare* สำหรับพวก fungi ที่พบ ได้แก่ *Epidermophyton* , *Microsporum* และ *Truchophyton* เป็นต้น

ตา

พนักงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องการแปรรูปอาหาร ควรจะต้องพยายามป้องกันมิให้เป็นโรคเกี่ยวกับตาเพราะจะเกิดการติดต่อได้ง่ายมากในระหว่างพนักงานด้วยกัน ซึ่งการเป็นโรคเกี่ยวกับตาจะไม่มีการติดต่อโดยการปนเปื้อนผ่านอาหาร แต่จะติดต่อโดยการสัมผัส พนักงานที่เป็นโรคตาจะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานลดลง โรคตาที่พบบ่อยได้แก่ โรคตาแดง โรคเยื่อตาอักเสบ เป็นต้น ผู้ที่เป็นโรคเกี่ยวกับตาควรหยุดพักรักษาให้หายจึงค่อยกลับมาทำงาน จุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดที่วิเคราะห์พบจากผู้ชอบขยี้ตา คือ *Staphylococcus aureus* ฉะนั้นพนักงานเป็นโรคตาหลังจากขยี้ตาแล้วไม่มีการล้างมือก่อนทำงาน จะเป็นสาเหตุให้เชื้อจุลินทรีย์ที่กล่าวปนเปื้อนลงในอาหารได้

หู

พนักงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร ควรจะมีการรักษาหูให้ถูกสุขลักษณะอยู่เสมอ อย่าให้หูสกปรก ควรระวังมิให้เป็นไข้หวัด หรือคอเจ็บต่อมทอลซิลอักเสบ เพราะหากปล่อยให้เป็นเรื้อรังจะทำให้เชื้อโรคแพร่กระจายเข้าไปสู่หูส่วนกลางได้ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบและเกิดเป็นโรคหูน้ำหนวกได้ในที่สุดจากการวิเคราะห์จุลินทรีย์จากมือผู้ที่ชอบแคะหูจะพบ *Staphylococcus aureus* มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปากและฟัน

พนักงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร ควรจะได้รับการฝึกฝนและอบรมให้ทราบว่า ไม่ควรจะพูดคุยกันในระหว่างปฏิบัติงาน หรือถ้าหากพูดคุยก็ควรกระทำด้วยความระมัดระวัง ไม่บริโภคอาหารหรือเคี้ยวหมากฝรั่งในขณะปฏิบัติงาน ไม่ถ่มน้ำลายในบริเวณโรงงาน และควรจะมีผ้าปิดปากและจมูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานผลิตภัณฑ์อาหารประเภทรับประทานได้ทันที (Ready to eat food) เพราะโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จากปากจะปนเปื้อนลงในอาหารจะมีมากทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตไม่ได้มาตรฐาน นอกจากนี้ควรจะมีการอบรมให้พนักงานรู้จักรักษาฟัน ปาก ให้สะอาดอยู่เสมอ และควรระมัดระวังมิให้เป็นโรคเกี่ยวกับปากและฟัน เช่น โรคฟันผุ หรือโรคเหงือกอักเสบ เป็นต้น

สำหรับจุลินทรีย์ที่มักพบในปากและฟัน ได้แก่ จุลินทรีย์ในจีนัสต่าง ๆ ต่อไปนี้คือ *Streptococcus, Staphylococcus, Vullonella, Neisseria, Actinomyces, Lactobacillus Norcardia, Fusobacterium, Bacteroides, Leptitrichia, Candida* และ *Corynebacterium*

มือและเล็บ

มือและเล็บของพนักงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารเป็นส่วนที่ต้องสัมผัสกับอาหารมากที่สุด ฉะนั้นถ้าหากมือของพนักงานสกปรกอาจเนื่องมาจากการเดินทางมาทำงานด้วยรถเมล์หรือรถรับจ้าง และมิได้ล้างมือก่อนเริ่มลงมือทำงาน หรืออาจจะสกปรกเนื่องจากการทำงานประเภทกวาดพื้น ถูพื้น เก็บขยะ ขุดดิน พรวนดิน และเมื่อเสร็จงานแล้วไม่ได้ทำความสะอาดมือ หรืออาจสกปรกเนื่องจากเข้าห้องน้ำแล้วไม่ได้ล้างมือก่อนทำงาน หรืออาจสกปรกเนื่องจากการมีนิสัยชอบล้วง แคะ แกะ เกา เช่น แกะสิว เกาผื่นคันต่าง ๆ บนร่างกาย ใบหน้า แขน ขา เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน ฉะนั้นจึงควรมีการอบรมให้พนักงานรู้จักรักษาความสะอาดมือและเล็บ ตัดเล็บให้สั้นอยู่เสมอ ไม่ควรทาเล็บหรือใส่แหวนด้วย ควรจะต้องมีการล้างมือทุกครั้งก่อนจะเริ่มทำงานและถ้าหากมือเป็นโรคต่าง ๆ เช่น หิด หรือราเป็นต้น จะต้องรีบรักษาให้หายโดยเร็ว และอุปนิสัยที่ชอบล้วง แคะ แกะ เกาก็ควรเลิก หรือควรจะล้างมือทุกครั้งหลังจากกระทำอาการต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้การเอามือปิดปากเวลาไอหรือจามก็เช่นกัน ควรจะมีการล้างมือทุกครั้ง

สำหรับจุลินทรีย์ที่พบตามมือและเล็บนั้นที่สำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ในจีนัสต่าง ๆ ดังนี้ *Staphyloccus, Streptococcus, Escherichia, Aspergillus, Pityrosporum, Candida, Torulopsis, Epidermophyton, Microsporum* และ*Trichophyton* เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท้า

เท้าของพนักงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร จะเป็นอวัยวะอีกส่วนหนึ่งในร่างกายที่มีความสำคัญเกี่ยวกับการสุขาภิบาลมาก เพราะเท้าของพนักงานบางคนอาจจะต้องยืนอยู่เกือบตลอดเวลา และบางลักษณะงานพนักงานอาจจะย่ำน้ำอยู่เกือบตลอดวัน ฉะนั้นถ้าไม่ใส่รองเท้าหรือใส่รองเท้าชนิดที่ไม่ เหมาะสมกับงาน อาจทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ขึ้นกับเท้าได้ เช่น โรคเท้าเปื่อย เป็นต้น ซึ่งอาจจะเกิดจากเชื้อรา ยีสต์ หรือแบคทีเรีย เมื่อพนักงานผู้นี้เอามือไปสัมผัสเท้า และไม่ได้ล้างมือให้สะอาดดีพอ จะทำให้เกิดการปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเป็นเชื้อ *Staphlococcus* และ *Streptoccus* ก็จะก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารได้ ถ้าพนักงานผู้นั้นไม่ชอบใส่รองเท้าและเผอิญไปเหยียบไข่หรือตัวอ่อนของพยาธิ โอกาสที่พนักงานผู้นี้จะเป็นโรคพยาธิ และแพร่พยาธิไปสู่อาหารจะมีมากขึ้น

ผิวหนัง

เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่พบตามผิวหนังได้แก่ *Staphylococcus aureus, Streptococcus viridans, Escherichia coli, Pityrosporum ovale, Pityrosporum orbiculare, Aspergillus awamori, Aspergillus fumigants, Epidermophyton, Microsporum* และ *Trichophyton* เป็นต้น ถ้าหากพนักงานที่มีหน้าที่เกี่ยวกับงานด้านการแปรรูปอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งพนักงานที่ทำงานอยู่ในบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูป ซึ่งจะเป็นบริเวณที่มีอากาศค่อนข้างร้อนตลอดเวลา ฉะนั้นพนักงานที่ทำงานในบริเวณนี้จะมีเหงื่อออกเกือบตลอดวัน ถ้าหากพนักงานเหล่านี้ไม่รักษาความสะอาดของร่างกายและเสื้อผ้า จะทำให้เกิดการหมักหมม เป็นสาเหตุให้เกิดโรคผิวหนังต่างๆ เช่น กลากเกลื้อน เชื้อราต่าง ๆ เกิดการสะสมของเชื้อโรคต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาเกี่ยวพันถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ ฉะนั้นจึงควรมีการอบรมให้พนักงานมีการรักษาความสะอาดร่างกายอย่างสม่ำเสมอ และมีการเปลี่ยนใส่เสื้อผ้าที่สะอาดทุกวัน

ระบบทางเดินหายใจ

วิธีแพร่กระจายเชื้อจุลินทรีย์ที่รวดเร็วและดีที่สุด คือวิธีการแพร่เชื้อด้วยระบบทางเดินหายใจ เพราะเพียงแต่การพูดคุยกันธรรมดา หายใจรดกัน ไอ จามก็สามารถทำให้เกิดโรคติดต่อได้แล้ว ฉะนั้นโอกาสของการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินหายใจลงในอาหารจึงเป็นไปได้มาก ถ้าหากไม่มีการป้องกันที่ดีพอ ให้พนักงานที่เป็นโรคต่าง ๆ เช่น วัณโรค ไข้หวัดใหญ่ ไข้หวัด คอเจ็บ ปอดบวม ไอกรน เข้าทำงานในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร เพราะถ้าพนักงานเป็นโรคดังกล่าวจะเป็นผู้แพร่เชื้อได้อย่างดีที่สุด ควรจะให้ผู้ที่ป่วยด้วยโรคดังกล่าวรักษาตัวให้หายเสียก่อนจึงค่อยกลับมาทำงาน และในการทำงานในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตอาหารประเภทบริโภคได้ทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Ready to eat food) ควรจะให้พนักงานมีผ้าปิดปากจมูกด้วย ทั้งนี้เพื่อป้องกันน้ำลายจากการพูดคุย ไอ จาม ถึงจะเป็นการทำงานในส่วนอื่นแต่ถ้าเกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร ก็ควรจะมีการอบรมให้พนักงานพูดคุย ไอ จาม ด้วยความระมัดระวัง ทุกครั้งที่มีการไอจามแล้วเอามือไปปิดปากปิดจมูก จะต้องล้างมือก่อนทุกครั้ง ทั้งนี้เพื่อ ป้องกันการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งอาจให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้

ระบบทางเดินอาหาร

เชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่พบในทางเดินอาหาร ได้แก่ Coagulase positive *Staphylococcus*, Coagulase negative *Staphylococci*, *Micrococci*, *Streptococci*, Non-haemolytic Streptocci *Enterococci*, *Lactobacilli*, *Neisser*, *Haemophilus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* และ *Salmonella* เป็นต้น ซึ่งเชื้อต่าง ๆ ที่พบนี้จะเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเกี่ยวกับ ทางเดินอาหารต่าง ๆ เช่น ท้องเดิน ท้องร่วง และอาเจียน เป็นต้น ซึ่งถ้าหากพนักงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารเป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารเหล่านี้ หรือมีเชื้อเหล่านี้อยู่เป็นพาหะ โอกาสที่จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนหรือการแพร่กระจายเชื้อจุลินทรีย์ไปสู่ผู้อื่นย่อมเป็นไปได้มาก นอกจากเชื้อที่กล่าวแล้วบางครั้งยังพบว่าพนักงานเป็นโรคเกี่ยวกับพยาธิด้วย ซึ่งพยาธิคล้ายคลึงกับเชื้อโรคอื่น ๆ ที่สามารถแพร่กระจายได้ง่ายมาก วิธีป้องกันคือให้ผู้ที่เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารรักษาตัวให้เรียบร้อยแล้วจึงค่อยกลับมาทำงาน และควรระมัดระวังสุขภาพอย่าให้เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ห้องน้ำ ห้องส้วมของโรงงานควรจะมีการระมัดระวังอย่าให้แมลงวันหรือสัตว์เลี้ยงเข้าไปเพ่นพ่าน เพราะจะเป็นวิธีการแพร่เชื้อที่ดีวิธีหนึ่ง และหลังจากเข้าห้องน้ำทุกครั้งควรจะล้างมือและเช็ดมือให้สะอาดก่อนเข้าทำงาน

อวัยวะสืบพันธุ์และระบบขับถ่าย

โรคที่เกิดกับระบบสืบพันธุ์และระบบขับถ่ายก็เช่นเดียวกับโรคอื่น ๆ คือสามารถจะแพร่กระจายออกไปโดยตรงจากผู้ป่วยหรือจากการใช้ภาชนะต่าง ๆ เสื้อผ้าร่วมกัน ฉะนั้นถ้าหากพนักงานผู้ใดทราบว่าตนเป็นโรคต่าง ๆ เกี่ยวกับอวัยวะเหล่านี้ให้รีบปรึกษาแพทย์และทำการรักษาโดยเร็ว นอกจากนี้การรักษาความสะอาดก็เป็นสิ่งสำคัญในการช่วยสุขวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์และระบบขับถ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวแล้ว การที่โรงงานจะได้พนักงานที่มีสุขวิทยาส่วนบุคคลที่ดีและถูกต้องนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ 2 ปัจจัย คือ

1. ความรับผิดชอบของผู้บริหาร

1.1เวลาจะรับพนักงานใหม่ ต้องเลือกพนักงานที่มีสุขภาพดี

1.2ต้องหมั่นสังเกตพนักงานที่ทำงานในโรงงานว่ามีผู้ใดมีอาการเจ็บป่วยที่อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการแพร่เชื้อจุลินทรีย์ หรือการปนเปื้อนในอาหารหรือไม่ เช่น โรคทางเดินหายใจ โรคผิวหนัง เป็นต้น

1.3ต้องมีการให้การรักษาพยาบาลแก่พนักงานที่ป่วยด้วยโรคต่าง ๆ และเมื่อหายแล้วก่อนที่จะให้กลับเข้าทำงานใหม่อีกครั้งจะต้องตรวจร่างกายอีกครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าพนักงานผู้นี้จะไม่เป็นพาหะ

1.4หาวิธีการกระตุ้นให้พนักงานกระตือรือร้นในการรู้จักรักษาสุขภาพของตนเอง จัดให้มีการอบรมความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการรักษาสุขภาพ และให้พนักงานรับแจ้งอาการเจ็บป่วยให้หัวหน้าทราบทันทีที่มีอาการเจ็บป่วย ไม่ว่าจะเป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ เป็นต้น

1.5เตรียมอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ ที่จำเป็นในการอำนวยความสะดวกให้พนักงานสามารถช่วยรักษาความสะอาดของโรงงานและตัวของพนักงานให้ดีขึ้น เช่น

ก.จัดให้มีห้องแต่งตัวและห้องเก็บสัมภาระส่วนตัว อ่างน้ำ สบู่ หรือน้ำยาทำความสะอาด กระดาษชำระ กระดาษเช็ดมือ ผ้าเช็ดมือหรือเครื่องเป่าลมร้อน และควรทำความสะอาดดังกล่าวอย่างสม่ำเสมอ

ข.จัดเครื่องแบบพร้อมหมวกหรือที่คลุมผม ถุงมือ และรองเท้าให้ ควรมีการบริการซักรีดให้ด้วย

ค.จัดให้มีอ่างล้างมือหน้าห้องแปรรูปอาหาร ถ้าเป็นไปได้ควรมีน้ำร้อน สบู่ กระดาษหรือผ้าเช็ดมือ

2. ความรับผิดชอบในส่วนของพนักงาน

2.1รักษาตัวเองให้มีสุขภาพดี เพราะบุคคลที่มีสุขภาพดีสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่เหนื่อยง่าย ไม่เป็นสาเหตุในการแพร่เชื้อโรคต่าง ๆ ไม่ว่าจะสู่อาหารหรือเพื่อนร่วมงาน

2.2เป็นผู้ที่ใฝ่หาความรู้ในเรื่องเกี่ยวกับการรักษาสุขภาพ ทราบวิธีการที่จะรักษาตนเองให้มีสุขภาพดี และมีสุขวิทยาส่วนบุคคลที่ถูกต้อง สามารถให้คำแนะนำกับผู้อื่นได้ และทราบว่าถ้าตนเองเกิดการเจ็บป่วยขึ้นควรจะทำอย่างไรจึงจะไม่เป็นปัญหากับผู้อื่น

2.3ควรรีบรายงานให้หัวหน้างานทราบทันทีเมื่อมีการบาดเจ็บเกิดขึ้น แม้ว่าจะเป็นการบาดเจ็บเล็กน้อย เช่น มีดบาด ไฟลวก เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4รายงานให้หัวหน้าทราบทันที ถ้ามีอาการเจ็บป่วย เช่น มีอาการผิดปรกติเกิดขึ้นกับระบบทางเดินหายใจ เช่น เป็นหวัด เจ็บคอ ไซนัส ต่อมทอลซิลอักเสบ หลอดลมหรือปอดไม่ปกติ เป็นต้น

2.5ควรรายงานให้หัวหน้างานทราบทันทีถ้าสบู่ กระดาษชำระ หรือสิ่งอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในการรักษาความสะอาดของห้องน้ำหมด

2.6การรักษาความส่วนตัวของพนักงาน ควรปฏิบัติดังนี้

- อาบน้ำทุกวัน และใช้สบู่ด้วย
- ใช้น้ำกำจัดกลิ่นตัวในกรณีที่เป็นคนมีกลิ่นตัว
- สระผมอย่างน้อยสัปดาห์ละครั้ง ควรหวีและตัดผมให้เรียบร้อย
- ตัดเล็บให้สั้นและรักษาความสะอาดอยู่เสมอ
- สวมใส่เสื้อผ้าที่สะอาดทั้งชุดชั้นและชั้นนอก ควรเปลี่ยนทุกวัน

2.7เตรียมตัวทำงาน โดยการปฏิบัติดังต่อไปนี้คือ

- สวมใส่เครื่องแบบที่โรงงานจัดให้ แขวนเสื้อผ้าที่สวมใส่ในการเดินทางได้ในที่ ๆ จัดไว้ให้อย่างเรียบร้อย อย่าแขวนเสื้อผ้าดังกล่าวในห้องน้ำหรือห้องแปรรูปอาหาร
- สวมหมวกหรือคลุมผมด้วยที่คลุมผมให้เรียบร้อย
- สวมรองเท้าที่สะอาด
- ล้างมือให้สะอาดด้วยน้ำและสบู่ที่ทางโรงงานจัดไว้ให้ เช็ดมือหรือเป่าด้วยเครื่องเป่ามือให้แห้งก่อนเริ่มทำงาน
- ถ้าหากเป็นงานที่ต้องใส่ถุงมือ ให้สวมถุงมือที่สะอาดก่อนเริ่มทำงาน

2.8ในขณะปฏิบัติงานควรงดเว้นนิสัยที่ชอบล้วง แคะ แกะ เกา เช่น การเกาศีรษะ แกะสิว เป็นต้น ถ้าหากผู้ใดเผลอทำอาการดังกล่าวจะต้องล้างมือให้สะอาดก่อนทำงานทุกครั้ง

2.9ควรหลีกเลี่ยงการไอหรือจามในบริเวรแปรรูปอาหาร แต่ถ้าจะไอหรือจามจะต้องเอามือปิดปากปิดจมูกทุกครั้ง และให้ล้างมือให้สะอาดก่อนทำงานต่อ

2.10ควรล้างมือบ่อย ๆ และทุกครั้งที่ทำสิ่งต่อไปนี้ คือ

- หลังเข้าห้องน้ำหรือห้องส้วม
- ไอหรือจามโดยใช้มือปิดหรือผ้าเช็ดหน้าปิด
- สูบบุหรี่
- ยกของต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นกล่อง ถุง
- จับต้องวัตถุดิบ เช่น เนื้อ หมู ปลา ไข่ ผัก ผลไม้ เป็นต้น
- จับต้องขยะ สิ่งสกปรกต่าง ๆ
- จับต้องเงินหรือธนบัตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11อย่าใช้มือจับผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตเสร็จแล้ว อย่าหยิบอาหารมาชิม ถ้าจะชิมให้ใช้ช้อนสะอาดตักออกมาชิม

2.12พยายามใช้ภาชนะหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ ช่วยในการแปรรูปอาหารแทนมือให้มากที่สุดที่สำคัญต้องเป็นภาชนะและอุปกรณ์ที่สะอาด

2.13ถุงมือพลาสติกที่ใช้ในการจับอาหาร ควรใช้ชนิดที่ใช้แล้วทิ้ง

2.14ควรจับอุปกรณ์หรือภาชนะที่ใช้ในการบรรจุอาหาร เครื่องดื่ม ด้วยความระมัดระวัง อย่าไปจับส่วนของอุปกรณ์หรือภาชนะที่ต้องสัมผัสกับปากผู้บริโภค

2.15ควรมีการติดเครื่องหมายงดสูบบุหรี่ในบริเวณที่ผลิตอาหารและบริการเกี่ยวกับอาหาร

ถ้าโรงงานอุตสาหกรรมทุกแห่งสามารถควบคุมให้พนักงานของตนปฏิบัติตนให้ถูกต้องด้วยวิธีการต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้ว จะเป็นการช่วยให้โรงงานสามารถขจัดปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการที่พนักงานมีสุขวิทยาส่วนบุคคลไม่ดีได้ จะมีผลต่อเนื่องให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานมีคุณภาพดีและปลอดภัยในการบริโภค (ศิวาพร, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 HACCP แนวทางใหม่ในการควบคุมคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร

การประเมินคุณภาพการผลิตหรือการประกอบอาหารให้เป็นไปตามกฎระเบียบหรือข้อกำหนดด้านสุขลักษณะเท่าที่ปฏิบัติกันมานั้น เจ้าหน้าที่ภาครัฐจะตรวจสอบสถานที่ผลิตอาหารเป็นครั้งคราวเพื่อดูว่าในขณะที่ทำการตรวจสอบนั้น ผู้ประกอบการได้ใช้วิธีการและเกณฑ์ปฏิบัติที่ดีหรือไม่ และอาจจะเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพโดยวิธีดังกล่าวพบว่ามีข้อบกพร่องหลายประการคือ (อัจฉรา, 2536)

1.วิธีการและเกณฑ์ปฏิบัติที่ดีในการผลิตอาหารที่เป็นเกณฑ์ในการตรวจสอบของเจ้าหน้าที่ไม่ว่าจะเป็นการระบุในกฎหมาย หรือเป็นเอกสารข้อแนะนำซึ่งเป็นที่ยอมรับทางวิชาการก็ตาม มักมีคำบางคำที่มีความหมายไม่ชัดเจน เช่น คำว่า " สะอาด " " เหมาะสม" ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาในการตีความว่า ปฏิบัติการของผู้ประกอบการซึ่งเจ้าหน้าที่ได้ทำการตรวจสอบนั้นเป็นไปตามที่กฎระเบียบที่ระบุหรือไม่ เพียงใด

2.วิธีการและเกณฑ์ปฏิบัติที่ดีในการผลิตอาหารที่ใช้เป็นสิ่งอ้างอิงนั้นไม่ได้มีการจัดลำดับความสำคัญมากทางด้านความปลอดภัยของอาหารออกจากส่วนที่มีความสำคัญรองลงมา ดังนั้นจึงอาจเป็นเหตุให้เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบมองข้ามจุดบางจุดที่มีผลต่อความปลอดภัยของอาหารที่ผลิตขึ้นได้

3.ข้อจำกัดของการตรวจสอบ การตรวจสอบของเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบนั้นสามารถกระทำได้เพียงเป็นครั้งคราว และเป็นการสังเกตการณ์การผลิตเฉพาะในวันที่และ ณ ช่วงเวลาที่เข้าทำการตรวจสอบเท่านั้นทำให้ได้เห็นปฏิบัติการเพียงส่วนหนึ่งของการดำเนินการผลิต ดังนั้นการที่จะใช้เหตุการณ์เพียงที่เกิดขึ้น หรือดำเนินไปชั่วขณะทำการทดสอบ เพื่อสรุปว่าการผลิตอาหารนั้นทั้งกระบวนการเป็นไปตามข้อกำหนดและเป็นการผลิตอาหารที่ปลอดภัยนั้นอาจไม่เป็นการถูกต้อง

4.ระบบการควบคุมการผลิตและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอาจไม่มีการนำมาใช้พิจารณาประเมินผลการตรวจสอบของเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบ ดังนั้นการที่จะใช้เหตุการณ์เพียงที่เกิดขึ้นหรือดำเนินไปในชั่วขณะทำการตรวจสอบ

ได้มีความพยายามที่จะแก้ไขจุดบกพร่องของวิธีการตรวจสอบการผลิตอาหารขึ้นในบางประเทศ มีการปรับเปลี่ยนวิธีดำเนินการ โดยจัดให้มีเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบดูแล ณ แหล่งผลิตตลอดระยะเวลาการผลิต แต่วิธีนี้ก็ยังไม่สามารถขจัดปัญหาได้ เนื่องจากเจ้าหน้าที่เพียงหนึ่งหรือสองคนไม่สามารถดูแลได้ครบทุกกระบวนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตอาหารที่มีกระบวนการซับซ้อนมาก ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำวิธีการตรวจสอบตามระบบ HACCP เข้ามาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความหมายของระบบ HACCP

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) คือระบบการตรวจสอบความสะอาด และความปลอดภัยของอาหารที่ใช้ในการบริโภคแบบใหม่ที่เป็นระบบป้องกันก่อนที่ความสกปรกจะเกิดขึ้นกับอาหาร (อภิจิตต์, 2538) แตกต่างจากระบบการตรวจสอบสินค้าอาหารแบบที่ FDA ใช้อยู่ในปัจจุบัน ซึ่งเป็นการตรวจสอบความสะอาดของอาหารเมื่ออาหารได้ผลิตเสร็จเรียบร้อยแล้ว และเป็นการสุ่มตรวจตัวอย่างเป็นครั้งคราวไป หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า HACCP เป็นระบบการควบคุมความสะอาดของอาหารโดยการควบคุมกระบวนการผลิตอาหาร และการให้บริการอาหารเพื่อป้องกันไม่ให้ความสกปรก หรืออันตรายใด ๆ เกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นขบวนการจนถึงขั้นตอนสุดท้ายเมื่ออาหารได้รับการผลิตเสร็จเรียบร้อยส่งถึงผู้บริโภค

ขั้นตอนหลักของ HACCP มีด้วยกันทั้งหมด 7 ขั้นตอน ดังนี้ (อภิจิตต์, 2538)

1.ระบุความเสี่ยง และประเมินระดับของความเสี่ยงว่ามากน้อยเพียงใด (Hazard Analysis) ในขั้นแรกจะเป็นการระบุว่าอะไรคืออันตรายที่จะเกิดขึ้นกับอาหาร อันตรายนี้อาจจะเป็นเชื้อโรคต่าง ๆ อาจจะเป็นสารเคมี เช่น สารตะกั่ว หรืออาจจะเป็นวัตถุต่าง ๆ เช่น เศษแก้ว เศษเหล็ก หรือผงสกปรก วิธีการที่ใช้ในการระบุความเสี่ยงที่ได้ผลดีที่สุดคือการจัดทำหรือการใช้ "Checklist" โดยการตรวจดูระบบการผลิตทุกขั้นตอน และพยายามตรวจสอบอยู่เสมอว่าถ้าขั้นตอนนั้นไม่ได้รับการควบคุมจะมีอันตรายเกิดขึ้นได้มากน้อยเพียงใด

2.ระบุว่าจุดใดในกระบวนการผลิตจะเป็นจุดวิกฤติ หรือจุดที่ความเสี่ยงจะเกิดขึ้น (Critical Control Points) พยายามแยกแยะความแตกต่างของจุดที่ต้องได้รับการควบคุม (Control Point) กับจุดวิกฤติที่จะต้องได้รับการควบคุม อาจจะเป็นจุดใดจุดหนึ่งในการผลิตก็ได้ แต่จุดวิกฤตที่จะต้องได้รับการควบคุม หมายถึงจุดที่ถ้าไม่ได้รับการควบคุมแล้วจะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงเป็นจุดที่จะต้องได้รับการตรวจสอบอย่างสม่ำเสมอ และมีการจัดทำบันทึกการตรวจสอบไว้ด้วย การควบคุมจะต้องทำทั้งขบวนการผลิตตั้งแต่เริ่มนำเอาวัตถุดิบมาใช้ ผ่านขบวนการผลิตและส่งออกไปยังผู้บริโภคซึ่งได้แก่ การปรุง การแช่แข็ง การจัดการ เป็นต้น

3.ควบคุมจำกัดความเสี่ยงในแต่ละจุดวิกฤติ (Critical Control Limit) ในขั้นนี้จะเป็นการควบคุมระดับของอุณหภูมิ การเจือปนของสิ่งสกปรก อาการที่แสดงให้เห็นถึงความเน่าเสียของอาหาร เป็นต้น หัวใจสำคัญของขั้นตอนนี้คือ การรักษาระดับอุณหภูมิ และเวลาที่ถูกต้องในกระบวนการผลิต

4.เฝ้าดูจุดวิกฤตและทำการบันทึกข้อมูล เป็นการกำหนดหน้าที่ความรับผิดชอบว่าใครจะต้องเป็นผู้ทำการตรวจสอบ หรือการเฝ้าสังเกตการณ์กระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอนเป็นประจำ เช่น การตรวจสอบระดับของอุณหภูมิ การตรวจชั่งน้ำหนักของสินค้า การตรวจว่ามีสิ่งสกปรกเจือปนอยู่หรือไม่ อาหารเกิดการเน่าเสียหรือไม่ แล้วจดบันทึกไว้เป็นสถิติ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.ทำการแก้ไขทันทีที่พบว่าความเสี่ยงในแต่ละจุดวิกฤติสูงเกินขีดจำกัด โดยการกำจัดสินค้าในส่วนที่พบว่าได้เกิดความเสี่ยงขึ้นแล้วออกจากกระบวนการผลิต และหาทางแก้ไขไม่ให้เกิดขึ้นอีก

6.จัดทำระบบการเก็บบันทึกข้อมูลที่มีประสิทธิภาพในการจดรายละเอียดการดำเนินงานของระบบ HACCP การบันทึกข้อมูลในขั้นตอนนี้เป็นส่วนที่สำคัญมากเพราะจะเป็นบันทึกที่ FDA จะขอตรวจ บันทึกนี้จะต้องรวมแผนผังขั้นตอนการผลิต (Flow Charts) แบบบันทึกการทำงาน (Work Sheet) สถิติการบันทึกการตรวจสอบทุกครั้ง ปัญหาที่เกิดขึ้นและการแก้ปัญหาที่ได้กระทำไปแล้ว เป็นต้น การเก็บบันทึกข้อมูลที่ดีควรจะสามารถระบุได้ว่าขั้นตอนใดในการผลิตได้เกิดความเสี่ยงขึ้น และอะไรคือที่มาของความเสี่ยงนั้น ๆ และได้มีการแก้ไขอย่างไรบ้าง การแก้ไขประสบความสำเร็จมากน้อยเพียงใด บันทึกนี้ควรจะเก็บไว้ในที่ง่ายต่อการเรียกดู

7.จัดทำขบวนการตรวจสอบเพื่อให้แน่ใจว่าระบบ HACCP นั้นได้ผล การตรวจสอบดูระบบการเก็บบันทึกข้อมูล และการทำงานของเครื่องจักร เช่น การตรวจสอบเครื่องมือในการวัดอุณหภูมิและเครื่องจับเวลาอย่างสม่ำเสมอตามระยะเวลาที่ได้มีการกำหนดไว้แล้ว เพื่อให้แน่ใจได้ว่าการผลิตเป็นไปตามระบบ HACCP อย่างแท้จริง

การดำเนินการทั้ง 7 ขั้นตอนนี้จะต้องอยู่บนพื้นฐานของความรู้ และข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้

การใช้ระบบ HACCP ในการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพการผลิต

เนื่องจากระบบ HACCP นี้ มุ่งเน้นการควบคุมจุดหรือขั้นตอนการผลิตที่จำเป็นต้องควบคุมเพื่อให้อาหารมีคุณภาพตามความต้องการ เพราะหากไม่มีการควบคุมอย่างถูกต้องเพียงพออาจก่อให้เกิดอันตรายหรือทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารนั้นไม่ได้คุณภาพที่ต้องการ ดังนั้น การออกแบบและใช้ระบบนี้ในภาคของการผลิตจึงจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงผลกระทบจากองค์ประกอบต่าง ๆ ของการผลิต นับตั้งแต่วัตถุดิบ ส่วนประกอบอื่น ๆ ของผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการผลิต วิธีการและเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหาร กลุ่มผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงต่ออันตรายที่อาจเกิดขึ้น รวมทั้งข้อมูลทางระบาดวิทยาที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารที่จะทำการผลิตนั้นด้วย ทำให้ต้องมีการพัฒนาระบบ HACCP ที่เฉพาะเจาะจงสำหรับแต่ละกระบวนการผลิต และสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด (อัจฉรา, 2536)

ในช่วงของการศึกษาและออกแบบระบบ HACCP หากได้พบว่าในการผลิตอาจมีอันตรายเกิดขึ้น แต่ยังไม่สามารถค้นหาจุดควบคุมวิกฤติได้ จะต้องทำการออกแบบวิธีการใหม่ และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงการผลิตไม่ว่าขั้นตอนใด จำเป็นต้องทบทวนและปรับเปลี่ยนมาตรการของระบบ HACCP ที่กำหนดไว้เดิมทุกครั้ง เพื่อให้เหมาะสมกับระบบการผลิตที่เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เพื่อให้ระบบ HACCP ยังคงมีประสิทธิภาพในการประกันความปลอดภัยได้ตลอดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้หลักของระบบ HACCP ในการปฏิบัติงานของภาคอุตสาหกรรมอาหารนั้น มีกิจกรรมที่จะต้องทำเป็นขั้นตอนดังนี้ (อัจฉรา, 2536)

1.จัดตั้งกลุ่มงาน HACCP ซึ่งจะต้องประกอบด้วยผู้ชำนาญการในหลายสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ๆ

2.กำหนดรายละเอียดของผลิตภัณฑ์อาหารที่จะทำการผลิต ว่าส่วนประกอบใดบ้างที่ต้องผ่านกรรมวิธีการผลิต การบรรจุ และเก็บรักษาอย่างไร

3.กำหนดวัตถุประสงค์ของการใช้ผลิตภัณฑ์โดยคำนึงถึงกลุ่มผู้ใช้หรือผู้บริโภคที่เป็นเป้าหมาย

4.กลุ่มงาน HACCP จะต้องจัดทำ flow diagram ของกระบวนการผลิต เพื่อแสดงส่วนที่จะต้องเฝ้าระวังและตรวจสอบในแต่ละขั้นตอนการผลิต

5.ต้องทำการทดสอบยืนยันความถูกต้องของ process flow diagram กับการผลิตในขั้นตอนและการปฏิบัติงานจริง และทำการปรับให้ถูกต้องตามหลักเกณฑ์ในทางปฏิบัติ

6.ต้องจัดทำรายการที่เกี่ยวกับอันตรายทั้งทางด้านจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพ ที่อาจเกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของการผลิต และมาตรการหรือวิธีการป้องกันที่จะใช้ควบคุมอันตรายนั้น ๆ ซึ่งอาจต้องมีหลายวิธี เพื่อใช้ป้องกันหรือลดอันตรายนั้น ๆ ซึ่งอาจต้องมีหลายวิธีเพื่อใช้ป้องกันหรือลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

7.ใช้ผัง HACCP Decision Tree เพื่อวินิจฉัยและกำหนดจุดควบคุมวิกฤติ โดยจะต้องมีการพิจารณาอย่างละเอียด รอบคอบ ถ้าอันตรายที่คาดว่าจะเกิด ไม่สามารถหาวิธีป้องกันได้ในขั้นตอนใด แสดงว่าไม่มีจุดควบคุมวิกฤติในขั้นตอนนั้น

HACCP Decision Tree นั้นทำโดยการตอบคำถาม 4 ข้อตามลำดับ ดังนี้

คำถามที่ 1 มีมาตรการป้องกัน ณ จุดนั้นหรือไม่

- คำตอบ มี ตอบคำถามที่ 2
  ไม่มี จุดนั้นไม่ใช่จุดควบคุมวิกฤติ พิจารณาจุดหรือขั้นตอนต่อไป

คำถามที่ 2 ณ จุดนั้นมีการออกแบบเพื่อขจัดหรือลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นให้อยู่ในระดับที่ยอมรับหรือไม่

- คำตอบ มี จุดนั้นเป็นจุดควบคุมวิกฤติ
  ไม่มี ตอบคำถามที่ 3

คำถามที่ 3 ณ จุดนั้นมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอันตรายเกินระดับที่ยอมรับหรืออาจมีการเพิ่มปริมาณจนถึงระดับที่ไม่ยอมรับหรือไม่

- คำตอบ มี ตอบคำถามที่ 4
  ไม่มี จุดนั้นไม่ใช่จุดควบคุมวิกฤติ หยุดการพิจารณา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำถามที่ 4 ในการผลิตขั้นตอนต่อไปจะมีการขจัดหรือลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นให้อยู่ในระดับที่ยอมรับหรือไม่

- คำตอบ มี จุดนั้นไม่ใช่จุดควบคุมวิกฤติ หยุดการพิจารณา
ไม่มี จุดนั้นเป็นจุดควบคุมวิกฤติ

ผังคำถามคำตอบข้างต้นจะมีลักษณะดังนี้

จุดควบคุมวิกฤติอาจแบ่งได้เป็น 2 ระดับ ซึ่งใช้สัญลักษณ์ CCP1 และ CCP2

CCP1 หมายถึงจุดหรือขั้นตอนวิกฤติในการผลิตที่หากมีการควบคุมอย่างถูกต้องแล้ว จะสามารถ**ขจัดอันตราย**ได้

CCP2 หมายถึงจุดหรือขั้นตอนวิกฤติในการผลิตที่หากมีการควบคุมอย่างถูกต้องแล้วจะสามารถ**ลดอันตราย**ได้

8.กำหนดระดับหรือค่าที่ยอมรับของความปลอดภัยสำหรับแต่ละจุดควบคุมวิกฤติ ระดับหรือค่าที่ยอมรับที่กำหนดขึ้นจะต้องเฉพาะเจาะจงสำหรับมาตรการแก้ไขป้องกันที่จะใช้ ค่าที่กำหนดขึ้น **เช่น** ค่าอุณหภูมิที่วัดได้ เวลา ระดับความชื้นของอาหาร ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (water activity) ค่าคลอรีนอิสระ (available chlorine) ลักษณะทางกายภาพของอาหาร เช่น รูปร่าง ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น สี

9.กำหนดระบบเฝ้าระวังสำหรับแต่ละจุดควบคุมวิกฤติ การเฝ้าระวังอาจทำได้โดยการใช้เครื่องมือวัด หรือใช้ผู้ชำนาญงาน สังเกตว่าผลิตผล ณ จุดควบคุมวิกฤติมีคุณภาพตรงตามระดับหรือค่าที่ ยอมรับที่กำหนดไว้หรือไม่ วิธีการเฝ้าระวังจะต้องสามารถตรวจสอบข้อบกพร่องของมาตรการป้องกัน ณ จุดควบคุมวิกฤติได้ และควรจะสามารถแจ้งข้อมูลการตรวจสอบเฝ้าระวังให้แก่ผู้รับผิดชอบได้ในเวลาอันรวดเร็ว เพื่อที่จะใช้มาตรการแก้ไข ได้อย่างมีประสิทธิภาพและทันต่อสถานการณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากการผลิตมีการเบี่ยงเบนไปจากเกณฑ์ที่กำหนด ข้อมูลจากการเฝ้าระวังจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์โดยบุคลากร ผู้มีความรู้ และมีหน้าที่รับผิดชอบในการใช้มาตรการ แก้ไขเมื่อจำเป็น ถ้าระบบการเฝ้าระวังไม่ต่อเนื่อง มีการทำตามช่วงเวลาที่กำหนด ความถี่ในการเฝ้าระวังจะต้องเพียงพอที่จะประกันว่าจุดควบคุมวิกฤติอยู่ในความควบคุม ผลบันทึกรายงานตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวกับ การเฝ้าระวังจะต้องมีการลงนามโดยผู้ทำการเฝ้าระวัง และมีการตรวจสอบโดยเจ้าหน้าที่รับผิดชอบที่ผู้บริหารมอบหมายตามเวลาที่กำหนด

10.กำหนดมาตรการแก้ไข เพื่อให้ระบบ HACCP มีประสิทธิภาพ จึงต้องมีการกำหนดมาตรการแก้ไขที่เฉพาะเจาะจงสำหรับจุดควบคุมวิกฤติแต่ละจุด มาตรการแก้ไขจะต้องสามารถทำให้เกิดความมั่นใจว่าจุดควบคุมวิกฤติได้ถูกควบคุมอย่างถูกต้อง มาตรการนี้จะต้องระบุรวมถึงการคัดทิ้งหรือคัดแยกผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นในระหว่างที่เกิดข้อผิดพลาดในการผลิต คือ ในขณะที่จุดควบคุมวิกฤติไม่มีการ ควบคุมอย่างถูกต้องด้วย และจะต้องกำหนดให้มีการบันทึกข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น นอกจากนี้เมื่อระบบเฝ้าระวังแสดงว่ามีแนวโน้มที่การควบคุม ณ จุดควบคุมวิกฤติจะไม่ถูกต้อง จะต้องเริ่มใช้มาตรการแก้ไขเพื่อปรับวิธีการผลิต ณ จุดนั้น ให้กลับเข้าสู่สภาวะปกติก่อนที่จะเกิดความเสียหายขึ้นกับผลิตภัณฑ์

11.การตรวจสอบยืนยันความถูกต้อง ต้องกำหนดวิธีการตรวจสอบยืนยันความถูกต้องว่าระบบ HACCP ดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพ ต้องมีการทบทวนว่าวิธีการเฝ้าระวังและการตรวจสอบวิธีการ ชักตัวอย่าง และการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่กำหนดขึ้นนั้นสามารถใช้เป็นเครื่องชี้วัดว่า ระบบ HACCP ที่ใช้อยู่ได้ผลหรือไม่ ความถี่ในการตรวจสอบควรจะเพียงพอที่จะแสดงว่าระบบ HACCP นั้นยังมีประสิทธิภาพ กิจกรรมการตรวจสอบยืนยันความถูกต้องประกอบด้วย

- การทบทวนระบบ HACCP และบันทึกรายงานที่เกี่ยวข้อง
- การทบทวนการเบี่ยงเบนไปจากเกณฑ์ที่กำหนด และการคัดผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขณะที่เกิดความบกพร่องออกจากผลิตภัณฑ์ที่สมบูรณ์
- การตรวจสอบวิธีการปฏิบัติเพื่อสังเกตว่าจุดควบคุมวิกฤติอยู่ภายใต้การควบคุม
- การกำหนดเกณฑ์และค่ายอมรับ ณ จุดควบคุมที่กำหนดขึ้น จะต้องมีความถูกต้อง คือสามารถทำให้เกิดความมั่นใจในความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ได้

12.กำหนดวิธีการบันทึกรายงานและเก็บเอกสารข้อมูล การมีระบบบันทึกข้อมูลที่ถูกต้องเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งในการใช้ระบบ HACCP ไว้ในคู่มือด้วย ข้อมูลที่ต้องมีการบันทึก เช่น ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ ข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการผลิต การบรรจุและการเก็บรักษา การจัดจำหน่าย แฟ้มข้อมูลบันทึกการเบี่ยงเบนไปจากปกติ และการปรับเปลี่ยนระบบ HACCP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP เพื่อการควบคุมคุณภาพการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและความปลอดภัยสูงขึ้นนั้น ผู้ผลิตจะต้องทำ Quality Assurance Plan ซึ่งมีปัจจัยที่สำคัญ ดังนี้

1.Organization chart โครงสร้างองค์กรและหน้าที่ความรับผิดชอบของบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตในระดับต่าง ๆ

2.Process-flow diagram แผนภูมิขั้นตอน กระบวนการผลิตสำหรับอาหารแต่ละชนิด

3.Analytical methods วิธีการตรวจวิเคราะห์

4.Raw material control การควบคุมคุณภาพ วัตถุดิบ

5.Process control การควบคุมกระบวนการผลิต

6.Packaging control การควบคุมการบรรจุ

7.Storage requirements การกำหนดสภาพที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

8.Finished Product evaluation การตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย

9.Sanitation monitoring การเฝ้าระวังด้านสุขาภิบาล

10.Recall Plan แผนการเรียกคืนผลิตภัณฑ์ที่อาจไม่ปลอดภัย

11.Records storage การเก็บรักษาบันทึกรายงาน

การที่จะทำให้ระบบ HACCP มีการใช้ได้โดยให้บังเกิดผลสมบูรณ์นั้น เป็นการจำเป็นที่ฝ่ายบริหารจะต้องถือเป็นนโยบายสำคัญและร่วมดำเนินการอย่างเต็มที่ เพราะจะต้องมีการปฏิบัติในลักษณะที่เป็นกลุ่มงานซึ่งประกอบด้วยผู้ชำนาญงานในหลายสาขา เช่น ด้านการผลิต จุลชีววิทยา เคมี วิศวกรรม การแพทย์และการสาธารณสุข ทั้งนี้เพราะหลักการสำคัญของ HACCP จะต้องทำการศึกษาค้นหาอันตรายที่อาจเกิดจากการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด และหาวิธีการควบคุมเพื่อให้เกิดความปลอดภัย ดังนั้นระบบ HACCP จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนแปลงเครื่องจักร ขั้นตอน หรือกรรมวิธีการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. หลอดทดลอง
2. จานเพาะเชื้อ
3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร (สำหรับเก็บตัวอย่าง)
5. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิลิตร
6. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์
8. เข็มเขี่ยเชื้อ (Loop)
9. แท่งแก้วคน
10. ตะแกรงสำหรับใส่หลอดทดลอง
11. สำลีพันปลายไม้
12. ช้อนตักสาร
13. ลูกยาง
14. Autoclave
15. Hot Air Oven
16. ตู้บ่มเชื้อ
17. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)
18. หม้อ
19. กะละมัง
20. ผ้าขาวบาง
21. เครื่องปั่นไอศกรีม
22. ตู้แช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.85% NaCl Solution
2. Plate Count Agar (PCA)
3. Trypticase Soy Broth (TSB) + 9.5% NaCl
4. Mannitol Salt Egg Yolk Agar (MSEY)
5. Brain Heart Infusion (BHI)
6. Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB. broth)
7. Eosin Methylene Blue Agar (EMB. agar)
8. Tryptophane Broth
9. Simon Citrate Agar
10. MR-VP Medium

3.3 สารเคมี

1. Kovac Solution
2. Methyl red
3. Coagulase plasma
4. 5% naphthol
5. 40% Potassium hydroxide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.4.1 ขั้นตอนในการผลิตไอศกรีมพื้นบ้านไทย (ไอศกรีมกะทิสด)

วัตถุดิบและส่วนผสม

มะพร้าวขูดขาว	1	กิโลกรัม
น้ำตาลทรายขาว	1 1/2	ถ้วย
น้ำสะอาด	5	ถ้วย

กรรมวิธีการผลิต

1. นำมะพร้าวขูดขาวมาคั้นเป็นน้ำกะทิ โดยเติมน้ำสะอาดลงไป 5 ถ้วย
2. กรองน้ำกะทิด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด
3. เติมน้ำตาลทรายขาวลงไป นำไปตั้งไฟ คนให้ละลาย พอเดือดยกลง
4. นำไปทำให้เย็นทันที
5. เทน้ำกะทิที่ได้ลงในเครื่องปั่นไอศกรีม
6. ปั่นประมาณ 30-45 นาที จนได้ไอศกรีมที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี
7. ทำการบรรจุลงในถ้วยไอศกรีม

3.4.2 ขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในไอศกรีมพื้นบ้านไทย

การฆ่าเชื้ออุปกรณ์และเครื่องมือและอาหารเลี้ยงเชื้อ

เครื่องมือที่เป็นเครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ บีกเกอร์สำหรับเก็บตัวอย่าง, ปิเปต, จานสำหรับเพาะเชื้อ (Petri dish) เหล่านี้จะต้องทำการฆ่าเชื้อใน Hot Air Oven อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

ขวดรูปชมพู่บรรจุสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% 225 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น dilution รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ จะต้องทำการฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การเก็บตัวอย่าง

1. เก็บตัวอย่างมะพร้าวที่จะนำไปคั้นเป็นน้ำกะทิ
2. เก็บตัวอย่างน้ำประปาที่ใช้
3. เก็บตัวอย่างน้ำกะทิก่อนการฆ่าเชื้อ
4. เก็บตัวอย่างน้ำกะทิหลังจากการฆ่าเชื้อ
5. เก็บตัวอย่างไอศกรีมหลังจากการบรรจุ
6. เก็บตัวอย่างจากการ Swab
   - Swab จากหม้อและกะละมัง
   - Swab จากผ้าขาวบาง
   - Swab จากเครื่องปั่นและแกนปั่นไอศกรีมก่อนใช้งาน
   - Swab จากเครื่องปั่นและแกนปั่นไอศกรีมหลังใช้งาน
   - Swab จากถ้วยไอศกรีม

3.4.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000

1. ตัวอย่างที่เก็บจากวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ ได้แก่ มะพร้าว น้ำ กะทิก่อนการฆ่าเชื้อ กะทิหลังการฆ่าเชื้อ และไอศกรีม

1.1 ชั่งตัวอย่างแต่ละชนิด ตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เขย่าทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1.2 ทำให้เจือจางเป็น 1:100 โดยปิเปตดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเกลือ 0.85% 9 มิลลิลิตร

1.3 ทำเช่นเดียวกันจนได้ระดับความเจือจางเป็น 1:1000

1.4 สำหรับมะพร้าว ทำให้เจือจางถึงระดับ 1:10000 และ 1:100000

2. ตัวอย่างที่เก็บได้จากการ Swab อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ได้แก่ กะละมัง หม้อ ผ้าขาวบาง เครื่องปั่นและแกนปั่นไอศกรีมก่อนและหลังการใช้งาน ถ้วยไอศกรีม และมือ

2.1 ตัวอย่างที่เก็บได้มีระดับความเจือจาง 1:10

2.2 ทำให้เจือจางเป็น 1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี Total Plate Count

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างแต่ละชนิดที่เจือจางในแต่ละระดับความเจือจาง ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate Count Agar) ที่หลอมเหลวและยังอุ่นอยู่ลงไปประมาณ 15 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างอาหารกระจายไปทั่ว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอาหารวุ้นแข็งตัว

3. บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

4. นับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยเลือกจานที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาผลเฉลี่ยคิดเป็นจำนวนแบคทีเรียต่อกรัมอาหาร

3.4.6 การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างแต่ละชนิดที่เจือจางในแต่ละระดับความเจือจาง ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ TSB + 9.5% NaCl ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

2. บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3. ตรวจผลการเจริญของเชื้อโดยสังเกตจากความขุ่น บันทึกผล

4. Streak เชื้อจากหลอดที่มีการเจริญของเชื้อที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ลงบน Manitol Salt Egg Yolk (MSEY)

5. บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

6. นำจำนวนจานเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกในระดับความเจือจางต่าง ๆ ไปหาปริมาณ *Staphylococcus aureus* จากตาราง MPN

7. ทำการทดสอบ Coagulase โดยถ่ายเชื้อลงในอาหาร Brain Heart Infusion 0.3มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 12-18 ชั่วโมง เติม Coagulase plasma หรือ Rabbit Plasma 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 4-6 ชั่วโมง ถ้ามีการสร้าง Coagulase plasma จะทำให้ Rabbit Plasma แข็งตัวเป็นก้อน (Clotting)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7 การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรีย *Escherichai coli* ด้วยวิธี Most Probable Number, MPN

การตรวจสอบขั้นต้น (Presumptive Test)

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างแต่ละชนิดที่เจือจางในแต่ละระดับความเจือจาง ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ BGLB อยู่ 10 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

3. ตรวจผลบวกจากหลอดที่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ บันทึกผล

การตรวจสอบเพื่อยืนยันผล (Confirm Test)

1. ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกที่ได้จากการตรวจสอบขั้นต้น ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันหลอดละ 2-3 ลูป

2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

3. ตรวจผลบวกจากหลอดที่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ แล้วนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในระดับความเจือจางต่าง ๆ ไปหาปริมาณโคลิฟอร์มจากตาราง MPN

การตรวจหาแบคทีเรีย Escherichia coli

1. นำหลอดที่ให้ผลบวกจากการตรวจนับด้วยวิธี MPN ข้างต้น มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar)

2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3. แยกเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเงาโลหะ (Metallic sheen) สีดำ หรือมีสีเข้มตรงกลางโคโลนี ไปทำให้บริสุทธิ์โดย streak โคโลนีเดี่ยว ๆ ลงบนอาหาร PCA ผิวเอียง (slant)

4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง

5. ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (IMViC Test)ดังนี้

- ทดสอบการสร้างสารอินโดล (indole) ในอาหารเหลวทริปโตเฟน โดยใช้ Kovac Solution จะให้ผลบวก คือ ชั้นบนของของเหลวจะเป็นสีแดง

- ทดสอบการสร้างกรดและสาร acetoin จากอาหาร MR-VP โดยใช้ Methyl red เป็นอินดิเคเตอร์ จะให้ผลบวกเป็นสีแดง และ Vi จะให้ผลการทดสอบเป็นสีชมพูแดง

- ทดสอบการใช้ซิเตรท (Citrate) จากอาหาร Simmon Citrate เป็นแหล่งคาร์บอน โดยจะเปลี่ยนสีอาหารจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

เชื้อ *Escherichia coli* จะให้ผลการทดสอบ เป็น + + - - หรือ - + - - ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.8 การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella spp.* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

Selective enrichment

ใช้ปิเปตปลอดเชื้อถ่ายเพาะเชื้อจากตัวอย่างที่บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวเพาะเชื้อ TTB (9 มิลลิลิตร) และ SCB (9 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำหลอดทั้งหมดไปบ่มในตู้อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

Plating on selective and differential media

เขี่ยเพาะเชื้อจากหลอด TTB และ SCB ลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar ควั่วจาน และบ่มจานเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งเพาะเชื้อ SS และ XLD agar ซึ่งโคโลนีของเชื้อซาลโมเนลลาบนอาหารแแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองจะมีลักษณะดังนี้

SS agar ลักษณะโคโลนีของซาลโมเนลลา จะกลมใส มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

XLD agar ลักษณะโคโลนีของซาลโมเนลลา จะกลม มีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดโคโลนีสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

Biochemical screening test

นำลักษณะเฉพาะของโคโลนีดังกล่าวในแต่ละอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการตรวจสอบปฏิกิริยาชีวเคมีโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar slant และ LIA agar slant นำหลอดทดสอบทั้งหมดไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIA agar slant ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาจะให้คุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

- TSI agar slant บนผิว slant จะมีสีแดงหรือชมพูบานเย็น และที่ก้นหลอดทดสอบ (butt) จะมีสีเหลือง อาจมีหรือไม่มีตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ และอาจมีหรือไม่มีฟองอากาศดันวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและก๊าซเพียงเล็กน้อย

- LIA agar slant จะมีสีม่วงทั้งหลอด เนื่องจากเชื้อซาลโมเนลลามีเอนไซม์ไลซีนดีคาร์บอกซิเลส (Lysine decarboxylase) ไปย่อยไลซีน ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้บรอมครีซอลเพอเพิล (brom cresol purple) ซึ่งใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในอาหารดังกล่าว และมีสีม่วงที่ค่าพีเอชเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มมากขึ้น ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีเอนไซม์ดังกล่าวนี้

- Tryptophane broth จะไม่เกิดสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา Kovac เนื่องจากซาลโมเนลลาไม่มีเอนไซม์ทริปโตเฟเนส (Tryptophanase) จึงไม่เกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.9 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีฮีโดนิคสเกล (Hedonic scale) ให้คะแนนการทดสอบ 1-9 ทำการทดสอบกับผู้ชิม 20 คน โดยใช้ตัวอย่างที่ทดสอบเป็นไอศกรีมกะทิที่แช่เย็นเป็นระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ โดยทดสอบคุณภาพทางด้านลักษณะปรากฏ ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส ความหวาน ความชอบรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ตารางที่ 4.1 จำนวนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ตัวอย่าง	ระดับความเจือจาง	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนี) ในแต่ละซ้ำ				จำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัม			
		1	2	3	4	1	2	3	4
มะพร้าว	1:10	>300	>300	>300	>300	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
	1:100	>300	>300	>300	>300				
	1:1000	>300	>300	>300	>300				
	1:10000	>300	>300	>300	>300				
	1:100000	>300	>300	>300	>300				
กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	1:10	>300	>300	>300	>300	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
	1:100	>300	>300	>300	>300				
	1:1000	>300	>300	>300	>300				
กะทิหลังฆ่าเชื้อ	1:10	19	0	0	0	<300	<10	<10	<10
	1:100	11	0	0	0				
	1:1000	4	0	0	0				
น้ำ	1:10	0	0	0	0	<10	<10	<10	<10
	1:100	0	0	0	0				
	1:1000	0	0	0	0				
ไอศกรีม	1:10	17	0	0	0	<300	<10	<10	<10
	1:100	6	0	0	0				
	1:1000	2	0	0	0				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ตัวอย่าง	ระดับความเจือจาง	การเจริญของ *S.aureus* บน MSEY ในแต่ละซ้ำ				MPN				Coagulase Test			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
มะพร้าว	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+	+	+	+	+
	1:100	+++	+++	+++	+++								
	1:1000	+++	+++	+++	+++								
กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+				
	1:100	+++	+++	+++	+++					+	+	+	+
	1:1000	+++	+++	+++	+++								
กะทิหลังฆ่าเชื้อ	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	0.0	0.0	0.0	0.0				
	1:100	- - -	- - -	- - -	- - -								
	1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -					-	-	-	-
น้ำ	1:10	- - -	- - -	- - -	- - -								
	1:100	- - -	- - -	- - -	- - -	0.0	0.0	0.0	0.0				
	1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -								
										-	-	-	-
ไอศกรีม	1:10	+++	- - -	- - -	- - -								
	1:100	+ - -	- - -	- - -	- -	1.1	0.0	0.0	0.0				
	1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -								
										+	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์ *Escherichia coli* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ตัวอย่าง	อาหารเลี้ยงเชื้อ	ระดับความเจือจาง	จำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละซ้ำ				MPN			
			1	2	3	4	1	2	3	4
มะพร้าว	LST	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
	BGLB	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
	Ec-broth	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	LST	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
	BGLB	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
	Ec-broth	1:10	+++	+++	+++	+++	1100+	1100+	1100+	1100+
		1:100	+++	+++	+++	+++				
		1:1000	+++	+++	+++	+++				
กะทิหลังฆ่าเชื้อ	LST	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	11	<3	<3	<3
		1:100	+ - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	+ - -	- - -	- - -	- - -				
	BGLB	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	3.6	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
	Ec-broth	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	3.6	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- -	- - -	- - -	- - -				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำ	LST	1:10	- - -	- - -	- - -	- - -	<3	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
	BGLB	1:10	- - -	- - -	- - -	- - -	<3	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
	Ec-broth	1:10	- - -	- - -	- - -	- - -	<3	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
ไอศกรีม	LST	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	3.6	<3	<3	<3
		1:100	- -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
	BGLB	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	3.6	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				
	Ec-broth	1:10	+ - -	- - -	- - -	- - -	3.6	<3	<3	<3
		1:100	- - -	- - -	- - -	- - -				
		1:1000	- - -	- - -	- - -	- - -				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Escherichia coli*

ครั้งที่	ตัวอย่าง	การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี			
		Tryptophane	MR	Vi	Citrate
1	มะพร้าว	+	+	-	-
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	+	+	-	-
2	มะพร้าว	-	-	+	+
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	-	-	+	+
3	มะพร้าว	+	-	-	+
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	+	-	-	+
4	มะพร้าว	-	-	+	+
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	-	-	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella spp.* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ			
		XLD agar		SS agar	
		SCB	TTB	SCB	TTB
มะพร้าว	1	โคโลนีสีชมพู มีจุดดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู มีจุดดำตรงกลาง	โคโลนีสีชมพู บางโคโลนีมีสีดำ	โคโลนีมีสีดำ บางโคโลนีมีสีชมพู
	2				
	3				
	4				
กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	1	โคโลนีมีสีชมพู มีจุดดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู มีจุดดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีดำ บางโคโลนีสีชมพู	โคโลนีมีสีชมพู บางโคโลนีมีสีดำ
	2				
	3				
	4				
กะทิหลังฆ่าเชื้อ	1	โคโลนีมีสีเหลือง ไม่มีจุดสีดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีเหลือง ไม่มีจุดดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู ไม่มีสีดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู
	2				
	3				
	4				
น้ำ	1	ไม่มีโคโลนีใด ๆ เกิดขึ้น	ไม่มีโคโลนีใด ๆ เกิดขึ้น	ไม่มีโคโลนีใด ๆ เกิดขึ้น	ไม่มีโคโลนีใด ๆ เกิดขึ้น
	2				
	3				
	4				
ไอศกรีม	1	โคโลนีมีสีขาว - สีเหลือง	โคโลนีมีสีเหลือง ไม่มีสีดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู ไม่มีสีดำตรงกลาง	โคโลนีมีสีชมพู ไม่มีสีดำตรงกลาง
	2				
	3				
	4				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Salmonella spp.*

ครั้งที่	ตัวอย่าง	ผลการทดสอบทางปฏิกิริยาชีวเคมี		
		TSI	LIA	Tryptophane
1	มะพร้าว	K/A , H_2S +	+	-
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	K/A , H_2S +	+	-
2	มะพร้าว	K/A , H_2S +	+	-
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	K/A , H_2S +	+	-
3	มะพร้าว	K/A , H_2S +	+	-
	กะทิก่อนฆ่าเชื้อ	K/A , H_2S +	+	-

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 จำนวนจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

ตัวอย่าง	ระดับความเจือจาง	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนี) ในแต่ละซ้ำ				จำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัม			
		1	2	3	4	1	2	3	4
มือ	1:10	20	0	0	0	200	<10	<10	<10
	1:100	6	0	0	0				
	1:1000	2	0	0	0				
กะละมัง	1:10	0	0	0	0	<10	<10	<10	<10
	1:100	0	0	0	0				
	1:1000	0	0	0	0				
ผ้าขาวบาง	1:10	12	4	0	0	120	40	<10	<10
	1:100	10	0	0	0				
	1:1000	2	0	0	0				
เครื่องปั่นก่อนการใช้	1:10	120	11	0	0	6700	110	<10	<10
	1:100	58	2	0	0				
	1:1000	13	0	0	0				
เครื่องปั่นหลังการใช้	1:10	152	47	28	23	89000	28000	3900	230
	1:100	72	18	5	7				
	1:1000	18	6	0	0				
ถ้วยไอศกรีม	1:10	0	0	0	0	<10	<10	<10	<10
	1:100	0	0	0	0				
	1:1000	0	0	0	0				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบเพื่อเปรียบเทียบผลการแช่แข็งไอศกรีมกะทิระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

คุณภาพทางประสาทสัมผัส	ค่าเฉลี่ยของ 0 วัน	ค่าเฉลี่ยของ 7 วัน	คะแนนเฉลี่ย
ลักษณะปรากฏ	7.60[a]	7.25[b]	7.425
ลักษณะเนื้อสัมผัส	7.40[a]	6.95[a]	7.175
กลิ่นรส	7.45[a]	7.00[a]	7.225
ความหวาน	6.80[a]	6.90[a]	6.850
ความชอบรวม	7.65[a]	7.15[a]	7.400

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรตัวเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบฮีโดนิคสเกล กำหนดคะแนนที่ให้เป็น 1-9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ ได้แก่ การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด การตรวจวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ผลที่ได้เป็นดังนี้

5.1.1 *จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด* ในการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในวัตถุดิบ ผลการตรวจนับเป็นดังนี้

- มะพร้าว จากผลการทดลองทั้ง 4 ครั้ง ในแต่ละระดับความเจือจางจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจนับได้มีมากกว่า 300 โคโลนีต่อกรัม

- น้ำ จากผลการทดลองทั้ง 4 ครั้ง ปรากฏว่าไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียใด ๆ แสดงว่าน้ำประปาที่ใช้มีความสะอาด ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ สามารถนำมาใช้บริโภคได้ และสามารถสรุปได้ว่าการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไม่ได้มีสาเหตุมาจากน้ำประปาที่ใช้

- กะทิก่อนการฆ่าเชื้อ จากผลการทดลองทั้ง 4 ครั้ง ในแต่ละระดับความเจือจางจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจนับได้มีมากกว่า 300 โคโลนีต่อกรัม ทั้งนี้เนื่องมาจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบคือมะพร้าว หรือเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต นอกจากนี้อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนของการคั้นกะทิ

- กะทิหลังการฆ่าเชื้อ จากผลการทดลองครั้งที่ 1 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจพบมีน้อยกว่า 300 โคโลนีต่อกรัม ส่วนการทดลองครั้งที่ 2, 3 และ 4 ปรากฏว่าตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อใด ๆ ทั้งนี้เนื่องจากในการทดลองครั้งแรก ผู้ทำการทดลองยังไม่มีการป้องกันหรือระมัดระวังในเรื่องของการสุขาภิบาล เช่น การล้างเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตโดยไม่มีการลวกน้ำร้อนฆ่าเชื้อก่อนการใช้งาน การใช้เวลาและความร้อนในกระบวนการฆ่าเชื้อน้ำกะทิไม่เพียงพอ เป็นต้น

- ไอศกรีม จากผลการทดลองครั้งที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจพบมีน้อยกว่า 300 โคโลนีต่อกรัม ส่วนการทดลองครั้งที่ 2, 3 และ 4 ปรากฏว่าตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อใด ๆ เช่นเดียวกับกะทิหลังการฆ่าเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจากในการทดลองครั้งแรก ผู้ทำการทดลองยังไม่มีการป้องกันหรือระมัดระวังในเรื่องของการสุขาภิบาลในกระบวนการผลิต และเครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการผลิตไม่ได้เป็นแบบอัตโนมัติ ต้องใช้แรงงานคน ทำให้เกิดการสัมผัสระหว่างผลิตภัณฑ์กับมือของผู้ทดลอง ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ลงไปในผลิตภัณฑ์ได้ สำหรับการทดลองครั้งที่ 2, 3 และ 4 ผู้ทดลองได้มีการปรับปรุงและระมัดระวังในเรื่องของการสุขาภิบาลในแต่ละขั้นตอนของกระบวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตที่มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ การลวกเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตด้วยน้ำร้อนก่อนการใช้ การปรับปรุงสุขวิทยาส่วนบุคคลของผู้ทดลองให้ดีขึ้น เป็นต้น รวมทั้งป้องกันไม่ให้เกิดความผิดพลาดขึ้นในขั้นตอนการผลิต เช่น การใช้ความร้อนและเวลาในการฆ่าเชื้ออย่างถูกต้องเหมาะสม

5.1.2 *Staphylococcus aureus*

ผลการตรวจวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ เป็นดังนี้

- มะพร้าวและกะทิก่อนการฆ่าเชื้อ จากผลการทดลองทั้ง 4 ครั้ง พบว่ามีการเจริญของ *S. aureus* บนอาหาร MSEY ในแต่ละระดับความเจือจางเป็น 3, 3, 3 ตามลำดับ เมื่อประเมินผลเป็นค่า MPN จะได้ค่า MPN/กรัม มากกว่า 1100 และเมื่อทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคอะกูเลส (Coagulase Test) ให้ผลการทดสอบเป็นบวกทั้ง 4 ครั้ง แสดงให้เห็นว่า เชื้อที่เจริญบนอาหาร MSEY นั้นเป็น *S. aureus* เนื่องจาก *S. aureus* สามารถสร้างเอนไซม์โคอะกูเลส ซึ่งมีผลทำให้พลาสมาเกิดการตกตะกอนและแข็งตัว (Clot)

- น้ำ ผลการตรวจวิเคราะห์ ไม่มีการเจริญของ *S. aureus* บนอาหาร MSEY แสดงว่าน้ำประปาที่ใช้มีความสะอาด ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถสรุปได้ว่าการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมกะทิไม่ได้มีสาเหตุมาจากน้ำ

- กะทิหลังการฆ่าเชื้อ ผลการตรวจวิเคราะห์ ปรากฏว่าไม่มีการเจริญของ *S. aureus*

- ไอศกรีม จากผลการทดลองครั้งที่ 1 ตรวจพบว่ามีการเจริ ญของ *S. aureus* บน MSEY ที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 เป็น 3, 1, 0 ตามลำดับ เมื่อประเมินค่า MPN จะได้ค่า MPN/กรัม เท่ากับ 43 และเมื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์โคอะกูเลส ให้ผลการทดสอบเป็นบวก เนื่องจากในขั้นตอนของการผลิตช่วงการปั่นไอศกรีม มีการสัมผัสระหว่างผลิตภัณฑ์กับมือผู้ทดลอง

5.1.3 *Escherichia coli*

- มะพร้าวและกะทิก่อนการฆ่าเชื้อ จากผลการตรวจวิเคราะห์ *E. coli* ในการทดลองทั้ง 4 ครั้ง พบว่าจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเจือจาง เท่ากับ 3, 3, 3 ตามลำดับ นำผลที่ได้ไปประเมินค่า MPN จะได้ค่า MPN/กรัม มากกว่า 1100 และเมื่อทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (IMViC Test) ให้ผลดังนี้

ครั้งที่ 1 : + + - - แสดงว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*
ครั้งที่ 2 : - - + + แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*
ครั้งที่ 3 : + - - + แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*
ครั้งที่ 4 : - - + + แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีจะเห็นได้ว่า ครั้งที่ 1 มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในมะพร้าว แสดงให้เห็นว่าผู้ประกอบการและแหล่งผลิตวัตถุดิบ มีการสุขาภิบาลไม่ดี ผู้ทำการทดลองจึงเปลี่ยนแหล่งวัตถุดิบใหม่

- น้ำ พบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ Coliforms

- กะทิหลังการฆ่าเชื้อ จากการตรวจวิเคราะห์ครั้งแรก จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในอาหาร LST เท่ากับ 1, 1, 1 นำผลที่ได้ไปประเมินค่า MPN จะได้ MPN/กรัม เท่ากับ 11 และจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในอาหาร BGLB และ Ec-broth เท่ากับ 1, 0, 0 นำผลที่ได้ไปประเมินค่า MPN จะได้ค่า MPN/กรัม เท่ากับ 3.6 แต่เมื่อทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีปรากฏว่าไม่ใช่ *E. coli*

- ไอศกรีม จากผลการตรวจวิเคราะห์ในครั้งแรก จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LST, BGLB และ EC-broth คือ 1, 0, 0 นำไปประเมินค่า MPN จะได้ค่า MPN/กรัม เท่ากับ 3.6 แต่เมื่อทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ปรากฏว่าไม่ใช่ *E. coli* ส่วนครั้งที่ 2, 3 และ 4 ไม่มีหลอดใดให้ ผลบวกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LST แสดงให้เห็นว่าผู้ทำการทดลองได้มีการปรับปรุงในเรื่องการสุขาภิบาลกระบวนการผลิตให้ดีขึ้นกว่าในครั้งแรก

5.1.4 *Salmonella spp.*

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella spp.* ในวัตถุดิบคือมะพร้าวและกะทิก่อนการฆ่าเชื้อ ส่วนน้ำพบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ *Salmonella spp.* สำหรับกะทิหลังการฆ่าเชื้อและไอศกรีมไม่พบเชื้อ *Salmonella spp.* ทั้งนี้เนื่องจาก *Salmonella spp.* ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนในการฆ่าเชื้อ (72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที)

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่าในการทดลองครั้งแรกตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต ได้แก่ มือ กะละมัง ผ้าขาวบาง เครื่องปั่นก่อนและหลังการใช้งาน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์มีมากกว่าครั้งที่ 2, 3 และ 4 ทั้งนี้เนื่องจากในการทดลองครั้งแรกมีการสุขาภิบาลการผลิตไม่ดีพอ และเมื่อทำการปรับปรุงสุขาภิบาลและสุขวิทยาส่วนบุคคลแล้วพบว่าผลการทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิต ตั้งแต่การเตรียมวัตถุดิบ เครื่องมือเครื่องใช้ในกระบวนการผลิตไม่สะอาด การฆ่าเชื้อด้วยความร้อนไม่เพียงพอ การสุขาภิบาลและสิ่งแวดล้อมของสถานที่ผลิตไม่ดี รวมทั้งสุขวิทยาส่วนบุคคลของผู้ผลิตหรือผู้ทดลองไม่ดีพอ โดยเฉพาะการตรวจพบ *E. coli* บ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากอุจจาระ (Index of Fecal Contamination) ส่วนสาเหตุของการปนเปื้อนจาก *S.aureus* มักมาจากผู้ประกอบการผลิตเอง ได้แก่ จากแผลบริเวณมือและผิวหนัง หรือจากลำคอและจมูก โดยการไอหรือจาม ซึ่งการตรวจพบ *S.aureus* ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนบ่งชี้ถึงสุขวิทยาส่วนบุคคลไม่ดีพอ เนื่องจากการผลิตไอศกรีมกะทิทุกขั้นตอนต้องใช้แรงงานคน ไม่ได้ใช้เครื่องจักรอัตโนมัติ เช่น การคั้นกะทิ การบรรจุ เป็นต้น ดังนั้นวิธีการที่ทำให้คุณภาพของไอศกรีมเป็นไปตามมาตรฐาน สามารถทำได้โดยการปรับปรุงการสุขาภิบาลของกระบวนการผลิตให้ดีขึ้น ได้แก่ การใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในกระบวนการผลิตที่สะอาด มีการลวกน้ำร้อนก่อนการใช้งาน ไม่ควรหยิบหรือสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ด้วยมือ หากไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ก็ควรล้างมือให้สะอาดก่อน ซึ่งน่าจะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อได้อีกทางหนึ่ง รวมทั้งจะต้องทำการปรับปรุงสุขวิทยาส่วนบุคคลของผู้ผลิตเองด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบเพื่อเปรียบเทียบผลของการแช่แข็งไอศกรีมกะทิระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

1.ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านลักษณะปรากฏของไอศกรีมกะทิแช่แข็งระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน พบว่ามีความแตกต่างระหว่างลักษณะปรากฏของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของไอศกรีมกะทิแช่แข็งระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน พบว่ามีความแตกต่างระหว่างลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

3.ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านกลิ่นรสของไอศกรีมกะทิแช่แข็งระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน พบว่ามีความแตกต่างระหว่างกลิ่นรสของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

4.ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านความชอบรวมของไอศกรีมแช่แข็งระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน พบว่ามีความแตกต่างระหว่างความชอบรวมของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าในการแช่แข็งไอศกรีมเป็นระยะเวลา 7 วัน จะทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งในไอศกรีม เมื่อบริโภคแล้วจะรู้สึกว่าเนื้อสัมผัสไม่เนียนเหมือนเก็บไว้ 0 วัน สำหรับคุณภาพด้านกลิ่นรสของไอศกรีมแช่แข็ง 7 วันจะเกิดกลิ่นหืนเนื่องจากเอนไซม์ไลเปส (lipase) สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำ จึงย่อยไขมันในกะทิให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระจึงเกิดกลิ่นหืนเมื่อเก็บไอศกรีมไว้เป็นระยะเวลานาน

5.ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านความหวานของไอศกรีมกะทิแช่แข็งระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างความหวานของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าระยะเวลาการเก็บไม่มีผลต่อความหวานของไอศกรีมแต่มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % เนื่องจากความชอบของแต่ละบุคคลไม่เหมือนกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.ควรเลือกแหล่งวัตถุดิบที่มีการสุขาภิบาลการผลิตที่ถูกสุขลักษณะ และผู้ผลิตควรมีสุขวิทยาส่วนบุคคลที่ดี เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีได้มาจากวัตถุดิบที่มีคุณภาพดี ซึ่งสามารถสังเกตได้จากเครื่องขูดมะพร้าว สถานที่ผลิต การแต่งกายของผู้ผลิต เป็นต้น

2.ในการทดลองนี้ใช้มะพร้าวขูดขาวเป็นวัตถุดิบ ดังนั้นจึงควรที่จะคัดเลือกวัตถุดิบให้มีความสม่ำเสมอในแต่ละครั้งเพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ มะพร้าวที่ใช้ไม่ควรมีกากสีน้ำตาลของกะลามะพร้าวปะปนมา เนื่องจากมีผลต่อลักษณะปรากฏของไอศกรีม คือ ทำให้ไอศกรีมมีสีคล้ำ ไม่ขาว

3.ไม่ว่าจะเป็นการผลิตโดยการใช้แรงงานคนหรือเครื่องจักร ควรจะมีการควบคุมการสุขาภิบาลของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต สถานที่ผลิต และสุขวิทยาส่วนบุคคล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองสารวัตรอาหาร. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2538 คู่มือการตรวจสอบสถานที่ผลิตไอศกรีม. 80 น.

จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช. 2535. ข้อกำหนดสุขลักษณะของอาหารทั่วไป. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 34(2) : 47-52.

ชูรัฐ แปลกสงวนศรี. 2531. การศึกษาชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการสุขาภิบาลฟาร์มโคนมและโรงงานนมพาสเจอร์ไรส์ขนาดเล็กที่จังหวัดเชียงราย.วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ดวงดาว วงศ์สมมาตร์ และคณะ. 2536. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 35(3) : 201-206.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพมหานคร. 214 น.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2537. สาระน่ารู้เกี่ยวกับอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ การตรวจหาแบคทีเรียซาลโมเนลลาในอาหาร. 24(4) : 282-290.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2529. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 282 น.

พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ. 2529) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) 103 ร.จ. 6 ตอนที่ 132 (ฉบับพิเศษ) ลงวันที่ 31 กรกฎาคม 2529.

พัฒน์ สุขจำนงค์. 2532. กฎหมายควบคุมอาหารและมาตรฐานอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพมหานคร. 285 น.

ลัดดาวัลย์ รัศมิทัต. 2536. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยบูรพา. 248 น.

วรรณา ตั้งเจริญชัย และ วิบูลย์ศักดิ์ กาวิละ. 2531. นมและผลิตภัณฑ์นม. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพมหานคร. 187 น.

ศรีวัย พิกุล. 2502. จำนวนแบคทีเรียในไอศกรีมที่ขายตามท้องตลาดในกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ ระดับปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2529. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 417 น.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2523. *Staphylococcus aureus* ในไอศกรีม. วารสารวิทยาศาสตร์การอาหาร. 11(3) : 1-5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2539. คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยา. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 71 น.

อภิจิตต์ ณ นคร. 2538. HACCP ระบบการป้องกันและควบคุมคุณภาพสินค้าที่ต้องจับตามอง. ผู้ส่งออก. 199(9) : 21-29.

อัจฉรา พุ่มฉัตร. 2536. HACCP แนวทางใหม่ในการควบคุมคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 35(1) : 57-65.

Charles R. Mcintyre, R.P.S. 1991. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Identification. Dairy, Food and Environmental Sanitation. 11(7) : 357-358.

Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. (BAM) 1992. 7th ed., AOAC International.

Jose M. Concon. 1992. Food Toxicology Contaminants and Additives : Part B. Marcel Dekker, Inc. Madison Avenue, New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแบบทดสอบคุณภาพทางประสาทประสาทสัมผัสของไอศกรีมพื้นบ้านไทยรสกะทิ

ผลิตภัณฑ์.....

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่.....

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาชิมตัวอย่าง 2 ตัวอย่างนี้ตามลำดับ และให้คะแนนตามความรู้สึกที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

9 - ชอบมากที่สุด 8 - ชอบมาก 7 - ชอบปานกลาง 6 - ชอบเล็กน้อย 5 - บอกไม่ได้

4 - ไม่ชอบเล็กน้อย 3 - ไม่ชอบปานกลาง 2 - ไม่ชอบมาก 1 - ไม่ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	ลักษณะเนื้อสัมผัส	กลิ่นรส	ความหวาน	ความชอบรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านลักษณะปรากฏของไอศกรีมกะทิแช่แข็ง ระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

S.O.V	df	SS	MS	Fcal	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between group.	1	1.225	1.225	4.422*	4.38	8.18
Within group.	19	9.275	0.488	1.762^{NS}	2.15	3.00
Error	19	5.275	0.277			
Total	39	15.775				

มีความแตกต่างระหว่างลักษณะปรากฏของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ก2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของไอศกรีมกะทิแช่แข็งระยะเวลา 0 วันและ 7 วัน

S.O.V	df	SS	MS	Fcal	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between group.	1	2.025	2.025	8.58**	4.38	8.18
Within group.	19	5.275	0.277	1.174^{NS}	2.15	3.00
Error	19	4.475	0.236			
Total	39	11.775				

มีความแตกต่างระหว่างลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านกลิ่นรสของไอศกรีมกะทิแช่แข็ง ระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

S.O.V	df	SS	MS	Fcal	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between group.	1	2.025	2.025	8.59**	4.38	8.18
Within group.	19	6.475	0.3408	1.45^{NS}	2.15	3.00
Error	19	4.475	0.2355			
Total	39	12.975				

มีความแตกต่างระหว่างกลิ่นรสของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 99%
ไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ก4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านความหวานของไอศกรีมกะทิแช่แข็ง ระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

S.O.V	df	SS	MS	Fcal	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between group.	1	0.10	0.1	0.388^{NS}	4.38	8.18
Within group	19	32.1	1.689	6.546**	2.15	3.00
Error	19	4.9	0.258			
Total	39	37.1				

ไม่มีความแตกต่างระหว่างความหวานของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับคุณภาพด้านความชอบรวมของไอศกรีมแช่แข็ง ระยะเวลา 0 วัน และ 7 วัน

S.O.V	df	SS	MS	Fcal	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between group.	1	2.50	2.5	7.31*	4.38	8.18
Within group	19	6.60	0.347	1.015^{NS}	2.15	3.00
Error	19	6.50	0.342			
Total	39	15.60				

มีความแตกต่างระหว่างความชอบรวมของตัวอย่างทั้งสองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Brain Heart Infusion Broth

Calf brain, infusion from	200.0	g.
Beef heart, infusion from	250.0	g.
Proteose peptone or Polypeptone	10.0	g.
Dextrose	2.0	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Disodium phosphate	2.5	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolved 37 grams of commercial dehydrated ingredients in distilled water by bringing to a boil and make up to 1 litre. Dispense into tubes and autoclave for 15 minutes at 121 C. Final reaction should be pH 7.4 ± 0.2.

Brilliant Green Lactose Bile Broth

Peptone	10.0	g.
Lactose	10.0	g.
Oxgall	20.0	g.
Brilliant green	0.0133	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolved ingredients by suspending in distilled water and heating gently. Dispense into tubes. Add inverted fermentation vial. Autoclave 15 minutes at 121 C. Final pH 7.2 ± 0.2. Autoclave temperature must drop slowly below 75 C. before thedoor is opened.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Citrate Agar, Simmons'

Sodium chloride	5.0	g.
Magnesium sulfate	0.2	g.
Monoammonium phosphate	1.0	g.
Dipotassium phosphate	1.0	g.
Sodium citrate	2.0	g.
Agar	15.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Mix ingredients in the distilled water. Add 40 ml of 1:500 bromthymol blue indicator solution. Sterilize at 121 C. for 15 minutes, and slant the tubes so as to obtain a 1 inch butt and a 1.5 inch slant.

EC Broth

Pancreatic digest of casein	20.0	g.
Bile salt mixture or Bile salts No.3	1.5	g.
Lactose	5.0	g.
Dipotassium phosphate	4.0	g.
Potassium phosphate	1.5	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolve ingredients in distilled water, and distribute 8 ml portions into 16x150 mm test tubes containing inverted 10x75 fermentation tube. Autoclave 15 minutes at 121 C. Final pH 6.9 ± 0.2. Do not open autoclave door until temperature has dropped below 75 C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactose Broth

Beef extract	3.0	g.
Peptone	5.0	g.
Lactose	5.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Heat slightly to dissolve ingredients in distilled water and dispense fermentation tubes. Autoclave for 15 minutes at 121 C. pH should be between 6.8 and 7.0, preferably 6.9 ± 0.2. Allow temperature in autoclave to drop slowly below 75 C.before opening.

Lauryl Sulfate Tryptose Broth

Tryptose or Trypticase	20.0	g.
(Pancreatic digest of casein)		
Lactose	5.0	g.
Dipotassium phosphate	2.75	g.
Monopotassium phosphate	2.75	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Sodium lauryl sulfate	0.1	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolve ingredients in distilled water and dispense 10 ml portions in 20x150 mm test tubes containing inverted 10x75 mm fermentation tubes. Autoclave 15 minutes at 121 C. Final pH 6.8 ± 0.2.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lysine Iron Agar

Peptone	5.0	g.
Yeast extract	3.0	g.
Glucose	1.0	g.
L-lysine	10.0	g.
Ferric ammonium citrate	0.5	g.
Sodium thiosulfate	0.04	g.
Bromcresol purple	0.02	g.
Agar	15.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolve ingredients in distilled water by boiling. Dispense in 4 ml amounts in 100x13 mm tubes and sterilize at 121 C for 12 minutes. Slant tubes so as to obtain a deep butt and a short slant.

Mannitol Salt Agar

Beef extract	1.0	g.
Sodium chloride	75.0	g.
Polypeptone	10.0	g.
Mannitol	10.0	g.
Agar	15.0	g.
Phenol red	0.025	g.
Distilled water	1.0	l.
Final pH	7.4 ± 0.2	

Dissolve ingredients in distilled water by boiling. Sterilize at 121 C for 15 minutes in autoclave.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MR-VP Broth

Buffered peptone	7.0 g.
Glucose	5.0 g.
Dipotassium hydrogen phosphate	5.0 g.
Distilled water	1.0 l.
Final pH	6.9 ± 0.2

Dissolve ingredients in distilled water 800 ml by low heating. Fill distilled water 200 ml in the mixture when it colded. Sterile in autoclave at 121 C for 15 minutes.

Plate Count Agar

(Standard Methods Agar)

Tryptone (Pancreatic Digest of Casein USP)	5.0 g.
or Trypticase	
Yeast extract	2.5 g.
Glucose	1.0 g.
Agar	15.0 g.
Distilled water	1.0 g.

Dissolve ingredients in distilled water by boiling, and adjust to pH 7.1 ± 0.1. Dispense into tubes or flasks and autoclave 15 minutes at 121 C. Final reaction should be pH 7.0 ± 0.1. To make plate count agar with bromcresol purple, add 0.04 g. BCP per litre of medium.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Selenite Cystine Broth

Polypeptone	5.0 g.
Lactose	4.0 g.
Sodium acid selenite	4.0 g.
Sodium hydrogen phosphate	5.5 g.
L-Cystine	0.01 g.
Potassium dihydrogen phosphate	4.5 g.
Distilled water	1.0 l.
Final pH	7.0 ± 0.2

Dissolve ingredients in distilled water by heating. Disperse 10 ml into tubes. Do not autoclave. Should be prepared day by day.

SS Agar

Beef extract	5.0 g.
Proteose peptone or Polypeptone	5.0 g.
Lactose	10.0 g.
Bile salts	8.5 g.
Sodium citrate	8.5 g.
Sodium thiosulfate	8.5 g.
Ferric citrate	1.0 g.
Brilliant green	0.00033 g.
Neutral red	0.025 g.
Agar	13.5 g.
Distilled water	1.0 l.

Dissolve ingredients in distilled water by bringing to a boil. Final reaction should be approximately pH 7.0 ± 0.2.Do not sterilize in the autoclave.

As soon as all ingredients are in solution, cool until the flask can be handled, and pour about 20 ml of medium into each Petri plate. The plates should be in a draftless area of low contamination. After pouring, partially remove the covers of the dishes to allow vapor to escape and dry the surface of the agar for 2 hours.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MR-VP Broth

Buffered peptone	7.0	g.
Glucose	5.0	g.
Dipotassium hydrogen phosphate	5.0	g.
Distilled water	1.0	l.
Final pH	6.9 ± 0.2	

Dissolve ingredients in distilled water 800 ml by low heating. Fill distilled water 200 ml in the mixture when it colded. Sterile in autoclave at 121 C for 15 minutes.

Plate Count Agar

(Standard Methods Agar)

Tryptone (Pancreatic Digest of Casein USP)	5.0	g.
or Trypticase		
Yeast extract	2.5	g.
Glucose	1.0	g.
Agar	15.0	g.
Distilled water	1.0	g.

Dissolve ingredients in distilled water by boiling, and adjust to pH 7.1 ± 0.1. Dispense into tubes or flasks and autoclave 15 minutes at 121 C. Final reaction should be pH 7.0 ± 0.1. To make plate count agar with bromcresol purple, add 0.04 g. BCP per litre of medium.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Selenite Cystine Broth

Polypeptone	5.0 g.
Lactose	4.0 g.
Sodium acid selenite	4.0 g.
Sodium hydrogen phosphate	5.5 g.
L-Cystine	0.01 g.
Potassium dihydrogen phosphate	4.5 g.
Distilled water	1.0 l.
Final pH	7.0 ± 0.2

Dissolve ingredients in distilled water by heating. Disperse 10 ml into tubes. Do not autoclave. Should be prepared day by day.

SS Agar

Beef extract	5.0 g.
Proteose peptone or Polypeptone	5.0 g.
Lactose	10.0 g.
Bile salts	8.5 g.
Sodium citrate	8.5 g.
Sodium thiosulfate	8.5 g.
Ferric citrate	1.0 g.
Brilliant green	0.00033 g.
Neutral red	0.025 g.
Agar	13.5 g.
Distilled water	1.0 l.

Dissolve ingredients in distilled water by bringing to a boil. Final reaction should be approximately pH 7.0 ± 0.2.Do not sterilize in the autoclave.

As soon as all ingredients are in solution, cool until the flask can be handled, and pour about 20 ml of medium into each Petri plate. The plates should be in a draftless area of low contamination. After pouring, partially remove the covers of the dishes to allow vapor to escape and dry the surface of the agar for 2 hours.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

When used for streaking, agar surface should appear dry in order to obtain well isolated colonies.

Tetrathionate Broth

(Muller, 1923: modified by Kauffmann, 1935)

Polypeptone or proteose peptone	5.0	g.
Bile salts	1.0	g.
Calcium carbonate	10.0	g.
Sodium thiosulfate	30.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Heat the ingredients in distilled water to boiling temperature, cool to less than 45 C, add 2 ml of iodine solution to each 100 ml of base. Add 1 ml of 1:1000 solution of brilliant green per 100 ml of base medium as recommended in Kauffmann's Combined Enrichment Medium. The basal medium, with or without added brilliant green, may be tubed, sterilized at 121 C for 15 minutes, and stored. In this case,iodine solution is added (0.2 ml per 10 ml of medium) prior to use.

Triple Sugar Iron Agar

Polypeptone	20.0	g.
Lactose	10.0	g.
Sucrose	10.0	g.
Glucose	1.0	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Ferrous ammonium sulfate 6 H_2O	0.2	g.
Sodium thiosulfate	0.2	g.
Phenol red	0.025	g.
Agar	13.0	g.
Distilled water	1.0	l.

Add ingredients to distilled water and bring to a boil. Distribute in tubes using enough medium to obtain a deep butt. Autoclave 15 minutes at 121 C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Remove from autoclave and slant to obtain a deep butt. Final reaction should be approximately pH 7.4 ± 0.1.

or

Beef extract	3.0	g.
Yeast extract	3.0	g.
Peptone	15.0	g.
Proteose peptone	5.0	g.
Lactose	10.0	g.
Sucrose	10.0	g.
Dextrose	1.0	g.
Ferrous sulfate	0.2	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Sodium thiosulfate	0.3	g.
Agar	12.0	g.
Phenol red	0.024	g.
Distilled water	1.0	l.

Add ingredients to distilled water and bring to a boil. Distribute in tubes using enough medium to obtain a deep butt. Autoclave 15 minutes at 121 C. Remove from autoclave and slant to obtain a deep butt. Final pH 7.4 ± 0.2.

Trypticase (Trypticase) Soy Broth

Tryptone or Trypticase	17.0	g.
Phytone or Soytone	3.0	g.
Sodium chloride	5.0	g.
Dipotassium phosphate	2.5	g.
Dextrose	2.5	g.
Distilled water	1.0	l.

Dissolve ingredients in distilled water; warm slightly if necessary to complete solution. Dispense into tubes or bottles, and sterilize by autoclaving 15 minutes at 121 C. Final reaction should be pH 7.3 ± 0.2.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Voges-Proskauer Medium

Proteose peptone	7.0 g.
Dextrose	5.0 g.
Sodium chloride	5.0 g.
Distilled water	1.0 l.
Final pH	6.5 ± 0.2

Dissolve ingredients in distilled water and disperse in 5 ml amounts in 20x150 mm tubes and sterile at 121 C for 10 minuted in autoclave.

XLD Agar

Yeast extract	3.0 g.
L-lysine	5.0 g.
Xylose	3.5 g.
Lactose	7.5 g.
Sucrose	7.5 g.
Sodium chloride	5.0 g.
Phenol red	0.08 g.
Agar	13.5 g.
Distilled water	1.0 l.

Heat mixture in distilled water to boiling temperature to dissolve the ingredients. Sterilize at 121 C. for 15 minutes, and then cool to 55 to 60 C. Aseptically add 20 ml of sterile solution containing:

Sodium thiosulfate	34.0 g.
Ferric ammonium ct\itrate	4.0 g.
Distilled water	100.0 ml

Mix well to obtain a uniform suspension. Then adding 25 ml of 10% sterile solution of sodium deoxycholate per litre. Mix well and adjust to pH 6.9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีเอเจนท์และอินดิเคเตอร์

Coagulase Plasma

A. Desiccated coagulase plasma (rabbit) with EDTA: Reconstitute according to manufacturer's directions.

B. If plasma containing EDTA is not available, reconstitute desicatedrabbit plasma and add Na_2H_2 EDTA to a final concentrate of 0.1% in the reconstituted plasma.

Kovacs' Reagent

p-Dimethylaminobenzaldehyde	5.0	g.
Amyl alcohol	75.0	g.
Hydrochloric acid (concentrated)	25.0	ml

Slowly add the hydrochloric acid. To test for indole,add 0.2 to 0.5 ml of reagent to 5 ml of a 48 hour culture of bacteria in tryptone broth. A dark red color in the surface layer constitutes a positive test for indole.

Methyl red indicator

Methyl red	0.10	g.
Alcohol, 95% (ethanol)	300.0	g.

Dissolve methyl red in 300 ml of alcohol and make up to 500 ml with distilled water. Incubate test cultures 5 days at 30 C. Alternatively incubate at 37 C for 48 hours. Add 5 or 6 drops of reagent to cultures. Do not perform tests on cultures incubated less than 48 hours. If equivocal results are obtained, repeat tests on cultures incubated 4 or 5 days. Duplicate tests should be incubated at 22 to 25 C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sodium chloride, 0.85% NaCl

Sodium chloride	8.5	g.
Distilled water	1.0	l.

Dispense into flasks, bottles, or tubes and autoclave at 121 C for 15 minutes

Voges-Proskauer (V-P) Test Reagents

Solution A:

α-naphthol	5.0	g.
Absolute ethanol	100.0	ml

Solution B:

Potassium hydroxide	40.0	g.
Distilled water q.s.	100.0	ml

Perform Voges-Proskauer (V-P) test at room temperature by transferring 1 ml of 48 hours culture to test tube and adding 0.6 ml of α-naphthol (Solution 1) and 0.2 ml of 40% potassium hydroxide (Solution 2); shake after addition of each solution. To intensify and speed reactions, add a few crystals of creatine to test medium. Read results 4 hours after adding reagents. Positive V-P test is the development of an eosin pink color.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	<3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	16	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.2	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

ที่มา : Bam (1990)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรวิภา เวฬุกาญจนา เกิดเมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2517 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2539 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนศึกษานารี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปี พ.ศ. 2535

นางสาวมยุรี ดิษย์เมธาโรจน์ เกิดเมื่อวันที่ 8 พฤศจิกายน 2516 ที่จังหวัดลำปาง สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2539 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปี พ.ศ. 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้