รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรื่อง

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยาและการทำความสะอาดที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตแป้ง

Analytical Microbiology Quality and Suitable Cleaning for Flour Process

โดย

นางสาวทัตพิชา อ่อนระยับ B4050490

นางสาวเบญจมาพร เจริญศรี B4050827

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปฏิบัติงาน ณ

บริษัท เยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด

สถานที่ตั้ง 89 หมู่ 3 ถนนสีคิ้ว-ชัยภูมิ ตำบลวังโรงใหญ่

อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

จดหมายนำส่ง

วันที่ 20 ธันวาคม พ.ศ. 2543

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร อ.ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาวทัตพิชา อ่อนระยับ และ นางสาวเบญจมาพร เจริญศรี นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา (305499) ระหว่างวันที่ 5 กันยายน 2543 ถึง 22 ธันวาคม 2543 ในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ณ บริษัท เยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด และได้รับมอบหมายจาก Job Supervisor ให้ทำรายงานเรื่อง การตรวจวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยาและการทำความสะอาดที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตแป้ง(Analytical Microbiology Quality and Suitable Cleaning for Flour Process)

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ได้สิ้นสุดลงแล้ว ข้าพเจ้าจึงส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

คณะผู้จัดทำ

20 ธ.ค. 2543

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

การที่ข้าพเจ้าได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ บริษัทเยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด ตั้งแต่วันที่ 5 กันยายน 2543 ถึง 22 ธันวาคม 2543 ส่งผลให้ข้าพเจ้ามีความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ที่มีค่ามากมาย สำหรับรายงานการสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดีจากความร่วมมือและสนับสนุนจากหลายฝ่ายดังนี้

1. คุณภานุพงศ์ กิตติวงษ์วิวัฒน์ ผู้จัดการบริษัทยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด ที่เห็นความสำคัญของระบบการศึกษาแบบสหกิจศึกษา และให้โอกาสที่มีคุณค่าอย่างยิ่งต่อข้าพเจ้า

2. คุณศราพร ว่องสาทรกิจ ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายพัฒนาผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็น Job Supervisor ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทดลองและการทำรายงาน

3. อาจารย์มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์ อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ซึ่งเป็นผู้มานิเทศการปฏิบัติสหกิจศึกษา และให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทดลองในการใช้คลอรีน

4. อาจารย์ปิยะวรรณ กาสลัก อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ซึ่งให้คำปรึกษาในด้านการตรวจเชื้อจุลินทรีย์

5. คุณสินชัย อยู่อาศรม ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายโรงงาน และ คุณกรกช เงื่อนกลาง หัวหน้าฝ่ายผลิต ผู้ให้ข้อมูลในด้านการผลิต

6. คุณสรินยาพร เฉียงไธสง หัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพ และ คุณลักขณา วิบูลพรชัย เจ้าหน้าที่ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ผู้ให้คำปรึกษาในด้านการจัดทำรายงาน และบุคลากรอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการจัดทำรายงาน

ข้าพเจ้าใคร่ขอขอบพระคุณผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการให้ข้อมูล เป็นที่ปรึกษา ในการทำรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้ประสบการณ์ในการทำงานจริงที่ไม่เคยได้รับในมหาวิทยาลัย ข้าพเจ้าขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

คณะผู้จัดทำ

20 ธันวาคม 2543

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

บริษัท เยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด เป็นบริษัทที่ทำการผลิตแป้ง ซึ่งมีทั้งหมด 2 ชนิด แป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวจ้าว จากการที่ได้เข้าไปปฏิบัติงานของโครงการสหกิจศึกษา ในบริษัท เยนเนอรัล ฟู้ดส์ โปรดักส์ จำกัด ได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานในแผนกควบคุมคุณภาพ ซึ่งเป็นแผนกที่สำคัญเป็นอย่างมากต่อผลิตภัณฑ์แป้ง เพราะเป็นส่วนที่เกี่ยวข้องโดยตรงต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภค ในการเข้าไปปฏิบัติงานนั้นได้ทำการศึกษาในส่วนของการควบคุมคุณภาพด้านจุลชีววิทยา โดยได้ทำการทดลองหาปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์, เครื่องมือ และน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และวิเคราะห์ถึงปัญหาที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ตลอดจนเสนอแนะ การปรับปรุงวิธีการทำความสะอาด โดยใช้สารเคมีได้แก่ คลอรีน ซึ่งจำเป็นต้องทดลองหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำและลดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ นอกจากนั้นยังเสนอวิธีการทำความสะอาดทุกส่วนในกระบวนการผลิตอีกด้วย

ในการปฏิบัติงานดังกล่าวข้างต้น ส่งผลให้มีปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ลดลง และเกิดความสะอาดเรียบร้อยในโรงงาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
จดหมายนำส่ง	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	จ
ประวัติความเป็นมาของบริษัท	ฉ
วัตถุประสงค์ในการปฏิบัติสหกิจศึกษา	ช
แผนการปฏิบัติงาน	ซ
บทที่ 1 การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยา	1-17
จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านการสุขาภิบาลอาหาร	1
ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์	2
การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยา	5
- ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา	5
- เครื่องมือ	5
- บุคลากร	7
- วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์	7
งานที่ปฏิบัติ	17
บทที่ 2 การทำความสะอาดและการแก้ไขปัญหาโรงงานอุตสาหกรรม	18-28
การจำแนกชนิดของสิ่งสกปรก	18
เครื่องมือที่ใช้ช่วยในการทำความสะอาด	19
สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด	21
ความหมายของศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการเติมคลอรีนในน้ำ	24
การปรับปรุงในด้านการทำความสะอาดของโรงงานเยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด	26
งานที่ปฏิบัติ	28
สรุปผลการปฏิบัติงาน	29
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก ก	31-32
ภาคผนวก ข	33
ภาคผนวก ค	34
ภาคผนวก ง	35
ภาคผนวก จ	36

สถาบันเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

		หน้า
รูปที่ 1	ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียที่มองผ่านกล้องจุลทรรศน์	2
รูปที่ 2	ลักษณะรูปร่างของราและยีสต์ที่มองผ่านกล้องจุลทรรศน์	2
รูปที่ 3	Swab Contact Method	8
รูปที่ 4	การเจือจางอาหาร	9
รูปที่ 5	การเก็บรักษา Petrifilm	15
รูปที่ 6	การตรวจวิเคราะห์ Aerobic Count Plate, Coliform / E. coli และ Yeast and Mold	17
รูปที่ 7	แปรงลักษณะต่างๆ	19
รูปที่ 8	เครื่องมือที่ช่วยในการล้างแบบ High pressure water units	21

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทนำ

ประวัติความเป็นมาของบริษัท

บริษัทยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด ได้เริ่มก่อตั้งเมื่อปี พ.ศ. 2539 และได้เปิดทำการเมื่อเดือนกันยายน พ.ศ. 2540 สถานที่ตั้งของบริษัทฯ ตั้งอยู่ที่ 89 หมู่ 3 ถ. สีคิ้ว จ.นครราชสีมา โดยได้เปิดโรงงานแห่งแรกบนเนื้อที่ 28 ไร่ 34 ตารางวา ประกอบไปด้วยอาคารสำนักงาน 2 ชั้น และตัวโรงงานติดกัน มีการเดินเครื่องจักรตลอด 24 ชั่วโมง แบ่งการทำงานออกเป็น 3 กะ คือ กะเช้า ทำงานตั้งแต่เวลา 07.00-16.00 น. กะบ่าย ทำงานตั้งแต่เวลา 15.00-24.00 น. และกะดึก ทำงานตั้งแต่เวลา 23.00-08.00 น. โดยสับเปลี่ยนหมุนเวียนกันกะละ 1 สัปดาห์ และมีวันหยุดคนละ 1 วันต่อสัปดาห์ ส่วนพนักงานทั่วไปทำงานปกติ คือทำงานตั้งแต่เวลา 08.00-17.00 น. และหยุดวันอาทิตย์

ชนิดของผลิตภัณฑ์ที่บริษัทฯ ได้ทำการผลิตได้แก่

1. แป้งข้าวเหนียว
2. แป้งข้าวจ้าว

ทางบริษัทฯ ได้พัฒนากระบวนการผลิต โดยใช้เทคโนโลยีชั้นสูงและทันสมัย มีการขยายกำลังการผลิตให้มากขึ้น และทางบริษัทฯ มีปณิธานแน่วแน่ที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต พัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์และพัฒนาพนักงานของบริษัทฯ ให้มีความสามารถในการปฏิบัติงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วัตถุประสงค์ในการปฏิบัติสหกิจศึกษา

1. เพื่อเข้าใจการทำงานของบุคลากรภายในโรงงานเยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด
2. เพื่อศึกษาวิธีการผลิตแป้งของโรงงานยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด
3. เพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในแป้งของโรงงานฯ
4. เพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจากเครื่องมือและน้ำใช้ในการผลิตแป้งของโรงงานฯ
5. เพื่อหาวิธีลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในแป้งของโรงงานฯ
6. เพื่อศึกษาผลของคลอรีนต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในแป้งของโรงงานฯ
7. เพื่อเสนอการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น และจัดหาวิธีการทำความสะอาดที่เหมาะสมของโรงงาน
8. เพื่อนำประสบการณ์ที่ได้ไปปรับปรุงและพัฒนาทักษะในการทำงานต่อไป

ในการปฏิบัติสหกิจศึกษาครั้งนี้ข้าพเจ้านางสาว ทัตพิชา อ่อนระยับ และนางสาวเบญจมาพร เจริญศรี ได้รับมอบหมายงานจากคุณตราพร ว่องสาทรกิจ ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายพัฒนาสินค้า ซึ่งเป็น Job Supervisor ให้ตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยา โดยการหาปริมาณจุลชีพในผลิตภัณฑ์ของโรงงาน คือ แป้ง รวมทั้งเครื่องมือการผลิตและน้ำที่ใช้ในการผลิต เพื่อระบุจุดที่ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้งยังมอบหมายให้แนะนำวิธีทำความสะอาดโรงงานและสารเคมีที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการลดเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อีกด้วย โดยระยะเวลาที่กำหนดในการทำโครงการดังกล่าวเริ่มตั้งแต่ 5 กันยายน – 22 ธันวาคม พ.ศ. 2543 ซึ่งปฏิบัติงานตามตารางแผนการปฏิบัติงานที่จะกล่าวต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

แผนการปฏิบัติงาน

วันที่	งานที่ปฏิบัติ
5 - 9 ก.ย. 2543	แนะนำโรงงานรวมทั้งเดินดูกระบวนการผลิตทั้งหมด
10 ก.ย. 2543	วันหยุด
11 - 14 ก.ย. 2543	วิเคราะห์ถึงปัญหาด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์แป้งของโรงงาน
15 - 16 ก.ย. 2543	วางแผนเพื่อเตรียมการทดลองด้านจุลินทรีย์
18 - 23 ก.ย. 2543	นำแป้งไปตรวจเชื้อที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
24 ก.ย. 2543	วันหยุด
25 - 26 ก.ย. 2543	ไปตรวจเชื้อที่มหาวิทยาลัย (ต่อ)
27 ก.ย. 2543	ศึกษาสายการผลิตและจัดทำเอกสาร
28 ก.ย. 2543	สำรวจอุปกรณและจำแนกชนิดอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
29 ก.ย. 2543	ตรวจดูสายการผลิตเพื่อจัดหาวิธีการทำความสะอาดและระบุจุดปัญหาในสายการผลิต เพื่อตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์
30 ก.ย. 2543	ตรวจเคมีตกค้างในแป้ง
1 ต.ค. 2543	วันหยุด
2 ต.ค. 2543	วางแผนการตรวจสายการผลิตด้านจุลชีววิทยา และหาข้อมูลเกี่ยวกับการทำความสะอาด
3 ต.ค. 2543	ดูสายการผลิต และตรวจการซักผ้าอัด
4 ต.ค. 2543	ลางาน
5 – 7 ต.ค. 2543	หาข้อมูลการทำความสะอาดที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
8 ต.ค. 2543	วันหยุด
9 – 10 ต.ค. 2543	หาข้อมูลการทำความสะอาดโดยใช้คลอรีน
11 - 21 ต.ค. 2543	ไปตรวจเชื้อทั้งหมดในสายการผลิตที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
23 ต.ค. 2543	สรุปผลและวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ
24 ต.ค. 2543	เรียบเรียงข้อมูลเกี่ยวกับการใช้คลอรีน
25 ต.ค. 2543	ระบุจุดที่ทำให้เกิดอันตรายในกระบวนการผลิต
26 – 27 ต.ค. 2543	เตรียมสารและวางแผนการทดสอบคลอรีนที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุนารี
28 – 30 ต.ค. 2543	ตรวจคุณภาพแป้งร่วมกับลูกค้า
31 ต.ค. 2543	คำนวณและวางแผนการทดลองใช้คลอรีนในสายการผลิต
1-4 พ. ย. 2543	ตรวจผลการปรับปรุงคุณภาพน้ำด้วยคลอรีน
5 พ. ย. 2543	วันหยุด
6-10 พ. ย. 2543	ตรวจผลการปรับปรุงคุณภาพน้ำด้วยคลอรีน(ต่อ)
11 พ. ย. 2543	แก้เอกสารของโรงงานฯ

วันที่	งานที่ปฏิบัติ
12 พ.ย. 2543	วันหยุด
13 - 14 พ.ย. 2543	ทำ ISO เกี่ยวกับกระบวนการผลิตแป้งอย่างคร่าวๆ
15 - 18 พ.ย. 2543	นำน้ำที่ผ่านการเติมคลอรีนไปตรวจเชื้อที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
19 พ.ย. 2543	วันหยุด
20 พ.ย. 2543	ตรวจเชื้อ (ต่อ)
21 พ.ย. 2543	สรุปและวิเคราะห์ผลการตรวจเชื้อ
22 - 23 พ.ย. 2543	ทำรายงาน
24 - 25 พ.ย. 2543	หาข้อมูลเพื่อทำรายงานที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
26 พ.ย. 2543	วันหยุด
27 - 28 พ.ย. 2543	ทำรายงาน
29 พ.ย. – 4 ธ.ค. 2543	ไปตรวจเชื้อที่ได้จากการทดลองคลอรีนที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
5 ธ.ค. 2543	วันหยุด
6 – 9 ธ.ค. 2543	ทำรายงาน
10 ธ.ค. 2543	วันหยุด
11 - 13 ธ.ค. 2543	ทำรายงาน
14 ธ.ค. 2543	ส่งรายงานบางส่วน ให้ Supervisor ตรวจทาน และแก้ไข
15 ธ.ค. 2543	ทำรายงานส่วนที่เหลือต่อ
16 ธ.ค. 2543	รับรายงานคืนและแก้ไขรายงาน
17 ธ.ค. 2543	วันหยุด
18 ธ.ค. 2543	แก้ไขรายงานและทำรายงานส่วนที่เหลือ
19 ธ.ค. 2543	ส่งรายงานให้รายงานให้ Supervisor ตรวจทานและแก้ไข
20 ธ.ค. 2543	Supervisor ตรวจทานและแก้ไขรายงาน
21-22 ธ.ค. 2543	แก้ไข และส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ให้ Supervisor

สถาบันวิทยบริการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยา

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดในการทำให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บกับมนุษย์และการได้รับจุลินทรีย์นั้นอาจเป็นได้หลายทาง เช่น ทางการหายใจ ทางบาดแผลหรือทางอาหาร เป็นต้น สำหรับทางอาหารนั้น จัดว่าเป็นทางที่สำคัญที่สุด เพราะอาหารจะมีการเน่าเสียง่าย เนื่องจากประกอบไปด้วยสารอาหารต่างๆที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นเพื่อช่วยลดการเน่าเสียของอาหารและจำกัดการระบาด จึงควรมีการควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร ถ้าไม่มีการควบคุมกรรมวิธีการแปรรูปอาหารต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นช่วงของการเตรียมวัตถุดิบ การแปรรูปและการเก็บระหว่างรอจำหน่ายให้ถูกสุขลักษณะแล้ว โอกาสที่อาหารจะมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จะมีมากขึ้นด้วย

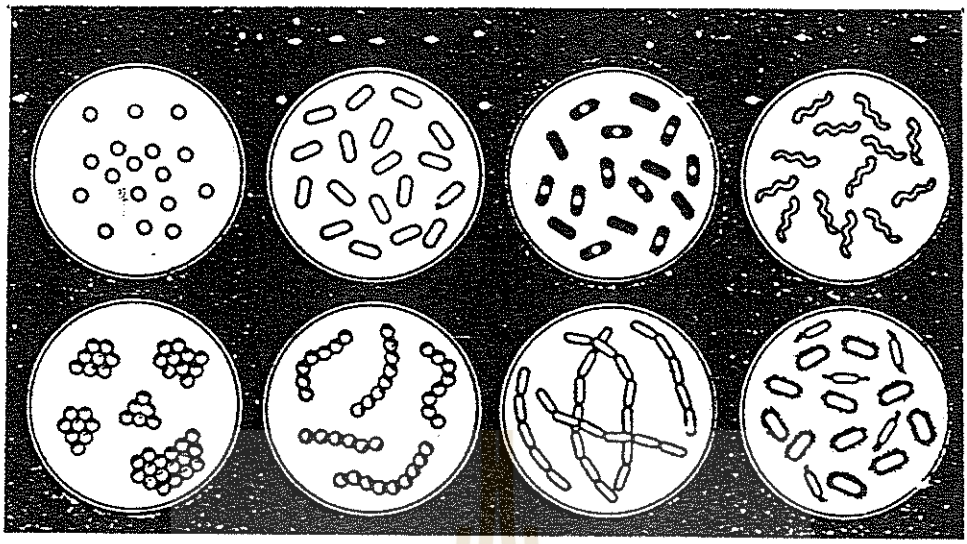
จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านการสุขาภิบาลอาหาร

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านการสุขาภิบาล มีดังต่อไปนี้คือ แบคทีเรีย ราและยีสต์ ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย ราและยีสต์ที่มองผ่านกล้องจุลทรรศน์แสดงไว้ในรูปที่ 1-2

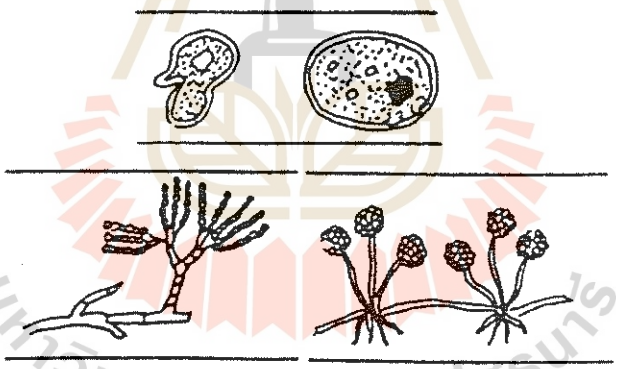
1. <u>แบคทีเรีย</u> เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบคทีเรียจะมีรูปร่างแตกต่างกันไป เช่น กลม รูปแท่งหรือรูปเกลียวเป็นต้น และอาจอยู่รวมกันเป็นคู่ เช่น พวก *pneumococci* อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 4 เซลล์ เช่น *sarcinia* เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (*Stapytococcus*) หรืออาจจับกันเป็นลูกโซ่ยาว เช่น Streptococci เป็นต้น แบคทีเรียบางชนิดจะมีหางและเคลื่อนไหวได้ด้วย แบคทีเรียบางชนิดจะสามารถสร้างสีได้ สีที่แบคทีเรียสร้างจะมีแตกต่างกันไป ตั้งแต่เหลืองอ่อน ไปจนถึงเหลืองเข้ม น้ำตาล ดำ ชมพูอ่อนถึงแดง เขียว ส้ม ม่วง และน้ำเงิน เป็นต้น ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย ถ้าอาหารมีแบคทีเรียที่สร้างสีได้ปนเปื้อนมา จะทำให้สีของอาหารเปลี่ยนไปได้ นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิด เช่น*Clotridium* สามารถสร้างสปอร์ได้ ส่วนใหญ่จัดอยู่ในพวกที่สามารถทนความร้อนได้ดีและสร้างสารพิษซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษกับผู้บริโภค

2. <u>รา</u> เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย มีทั้งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถสร้างเส้นใย ที่มีลักษณะและสีแตกต่างกันออกไป เช่น สีขาวคล้ายสำลี สีเขียว สีเหลืองหรือสีแดงเป็นต้น นอกจากนี้ราบางชนิดยังสามารถสร้างสปอร์เพื่อช่วยในการขยายพันธุ์ได้ สปอร์ของราจะมีสีแตกต่างกันไปตามชนิดของราเช่นกัน ตัวอย่างเช่น สีดำ สีเขียว ฯลฯ ทำให้อาหารที่มีราปนเปื้อนมีสีแตกต่างกันไป โดยทั่วไปราสามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่ายีสต์และแบคทีเรีย

3. <u>ยีสต์</u> เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย สืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ ลักษณะโคโลนีจะมีสีขาว ครีม ขึ้นหรือเป็นเมือก มักจะพบปลิวอยู่ในอากาศคล้ายกับรา



รูปที่ 1 ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียที่มองผ่านกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 2 ลักษณะรูปร่างของราและยีสต์ที่มองผ่านกล้องจุลทรรศน์

ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

เพื่อให้สามารถควบคุมโรงงานอุตสาหกรรมอาหารให้ถูกสุขลักษณะได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้จะได้นำข้อมูลดังกล่าวมาปรับใช้ในโรงงาน เพื่อเป็นการช่วยป้องกันการปนเปื้อนและลดปริมาณของจุลินทรีย์ ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่

อุณหภูมิ จุลินทรีย์แต่ละชนิด จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตแตกต่างกัน นอกจากอุณหภูมิจะสามารถบอกชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาแล้ว ยังสามารถบอกอัตราเร็วในการเจริญเติบโตพร้อมทั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ ได้อีกด้วย ดังนั้นเราสามารถใช้อุณหภูมิควบคุมกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ได้ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยทั่วไปคือ 14-40 ° C แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 ° C หรือสูงกว่า 100 ° C การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตแบ่งออกได้ดังนี้

- Thermophiles จุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มนี้ จะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 45°C ขึ้นไป ตัวอย่าง เช่น *Bacillus stearothermophilus* *Bacillus coagulan* และ *Lactobacillus thermophilus*

- Mesophiles สำหรับจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ จะเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20-45°C ตัวอย่างของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacilli* และ *Staphylococci* เป็นต้น

- Psychrotrophs เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในช่วงของอุณหภูมิระหว่าง -5-20°C ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่ *Pseudomonas* และ *Moraxella Acinetobacter* เป็นต้น

ทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ ต่างก็มีชนิดที่เป็น thermophiles mesophiles และ psychrophiles ด้วยกันทั้งนั้น แต่ราและยีสต์จะเป็น thermophiles น้อยกว่าแบคทีเรีย โดยทั่วไปแล้วเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง จุลินทรีย์หลายชนิดจะยังเจริญได้เพียงแต่อัตราจะช้าลงเท่านั้น แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำลงกว่า 5 °C จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียจะหยุดการเจริญเติบโต และหยุดกิจกรรมต่าง ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ประเภทที่ทำให้เกิดโรคเช่นเดียวกัน

ปริมาณออกซิเจน จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความต้องการออกซิเจนในการดำรงชีพไม่เท่ากัน บางชนิดต้องการมาก บางชนิดต้องการน้อย และบางชนิดไม่ต้องการเลย ซึ่งแบ่งออกได้ดังนี้

- Aerobic micro-organisms เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่เท่านั้น ตัวอย่างเช่น *Pseudomonas spp.* เป็นต้น
- Anaerobic micro-organisms เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน ตัวอย่างเช่น พวก *Clostridium spp.* เป็นต้น

- Facultative micro-organisms เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน หรือไม่มีก็ได้ ตัวอย่างเช่น *Lactobacillus spp.*

ดังนั้นเราสามารถควบคุมปริมาณออกซิเจนในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ได้ เพื่อช่วยจำกัดชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารไม่ได้มาตราฐาน

ความเป็นกรด-ด่าง จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะเจริญได้ดีที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง ต่างกันออกไป ยีสต์จะเจริญได้ในสภาวะที่เป็นกรด ส่วนรานั้นสามารถเจริญได้ในช่วงที่ความเป็นกรด-ด่างที่กว้างกว่าคือ 2-8 และเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด ส่วนแบคทีเรียนั้นจะเจริญได้ดีในช่วงที่ใกล้เป็นกลาง แต่สำหรับ acidophillic bacteria หรือแบคทีเรียที่ชอบกรดนั้น จะเจริญได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่างประมาณ 5.2 ตัวอย่างของแบคทีเรียประเภทนี้ ได้แก่ Lactic acid bacteria และ Acetic acid bacteria เป็นต้น

Water activity การที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้นั้น จะต้องมีน้ำหรือความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญอยู่ด้วย การลดปริมาณน้ำหรือความชื้นในอาหารสามารถลดปริมาณของจุลินทรีย์ลงได้ หรืออีกนัยหนึ่งคือ สามารถช่วยลดการเน่าเสียของอาหารหรือลดการทำให้อาหารเป็นพิษ โดยทั่วไปแบคทีเรียเจริญได้ดีในสภาวะที่มีwater activity สูงกว่ายีสต์และรา ตามลำดับ แบคทีเรียส่วนใหญ่จะไม่เจริญที่water activity ต่ำกว่า 0.91 แต่ราและยีสต์สามารถเจริญได้ที่ water activity 0.80 หรือต่ำกว่า ดังนั้นอาหารแห้งทั้งหลาย มักมีการเน่าเสียที่เกิดจากราและยีสต์มากกว่าแบคทีเรีย

สารอาหาร จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการสารอาหารในปริมาณที่แตกต่างกัน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องการพลังงานจาก คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน เกลือแร่ และไวตามินต่าง ๆ ในการเจริญเติบโต

สารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อาจทำได้โดยการใช้สารยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้นอาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

- Bacteriostatic หรือสารที่เพียงแต่ชลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เท่านั้น ตัวอย่างเช่น โซเดียมเบนโซเอท เป็นต้น
- Bacteriocidal หรือสารที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ ถ้าหากใช้ในปริมาณมากพอ ตัวอย่างเช่น สารปฏิชีวนะ เป็นต้น

ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน ความเป็นกรด - ด่าง Water activity สารอาหารและสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อจำกัดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งบริษัทเยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด ได้เลือกนำเอาปัจจัยด้านอุณหภูมิมาใช้ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ แต่ในการใช้อุณหภูมิเพียงปัจจัยเดียวไม่เพียงพอที่จะลดปริมาณจุลินทรีย์ตามที่ต้องการได้ เนื่องจากมีการปนเปื้อนในสายการผลิต เช่น เครื่องมือ และน้ำที่ใช้ เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องทราบถึงกระบวนการผลิตทั้งหมด เพื่อระบุจุดที่ทำให้เกิดปัญหาและหาวิธีการป้องกัน

เมื่อพิจารณากระบวนการผลิต จะพบจุดที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ซึ่งแบ่งออกเป็นส่วนต่างๆดังนี้

- วัตถุดิบ เช่น ข้าวเหนียว
- น้ำที่ใช้ในการผลิต
- เครื่องมือ
- พนักงาน
- ผลิตภัณฑ์ในแต่ละจุดของการผลิต
- ผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่น แป้งข้าวเหนียวและ แป้งข้าวจ้าว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยา

การตรวจสอบคุณภาพด้านจุลชีววิทยานั้นต้องประกอบไปด้วย

1. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
2. เครื่องมือ
3. บุคลากร
4. วิธีการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่ดีควรมีลักษณะดังต่อไปนี้

- บริเวณที่เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและล้างเครื่องแก้วควรแยกจากบริเวณวิเคราะห์ทดสอบ
- เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ควรวางไว้ในตำแหน่งที่ทำให้มีพื้นที่การทำงานมากที่สุด
- โดยทั่วๆ ไปแล้วควรมีพื้นที่สำหรับผู้วิเคราะห์แต่ละคนห่างกัน ประมาณ 6 ฟุต เป็นอย่างน้อย
- ความสูงของโต๊ะประมาณ 36 - 38 นิ้ว และลึก 28 - 30 นิ้ว
- ฝาผนังและเพดานของห้องปฏิบัติการควร cover ด้วย good - grade enamel หรือ eposy paint หรือวัตถุดิบชนิดอื่นๆ

เครื่องมือ เครื่องมือที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ได้แก่

1. Incubators

จะต้องรักษาอุณหภูมิให้คงที่ตลอดเวลาและทุกๆ จุดใน incubator โดยจะต้องไม่เปลี่ยนแปลง มากกว่า $\pm$ 0.5 °C ในกรณีที่ห้องปฏิบัติการมีอุณหภูมิห้องเปลี่ยนแปลงมาก การนำ incubators มาอยู่รวมกันในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ ให้ต่ำกว่าอุณหภูมิของตู้ incubator เล็กน้อยก็จะเป็นการดี

ควรมีเทอร์โมมิเตอร์ที่สอบกลับได้ไปยังสถาบันที่เป็นที่ยอมรับ (เช่น NIST) แช่อยู่ใน glycerine น้ำ หรือ mineral oil วางอยู่ในตู้ตรงชั้นที่ใช้งานเพื่ออ่านอุณหภูมิ (ควรจดบันทึกอุณหภูมิของตู้เช้าและบ่าย)

สำหรับ water bath ควรจะมีฝาปิดเพื่อลดการสูญเสียน้ำและความร้อน เพื่อจะรักษาอุณหภูมิ 44.5 $\pm$ 0.2 °C ถ้าไม่สามารถรักษาอุณหภูมินี้ได้ควรใช้ water recirculation รักษาระดับของน้ำใน water bath ให้อยู่ไม่ต่ำกว่าระดับสูงสุดของอาหารเชื้อในหลอด

2. Hot - Air Sterilizing Ovens

เลือกขนาดที่เหมาะสมกับการใช้งาน เพื่อป้องกันการใส่ของที่แน่นเกินไป มีการออกแบบเพื่อให้มีอุณหภูมิคงที่ ที่ 170 $\pm$ 10 °C ควรมี thermometer ที่เหมาะสมติดไว้ ซึ่งได้รับการสอบเทียบกลับไปยังสถาบันที่เป็นที่ยอมรับ (เช่น NIST) ต้องมีการบันทึกเวลาและอุณหภูมิที่ใช้

3. Autoclaves

เลือกขนาดที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการใส่ของแน่นจนเกินไป ออกแบบให้มีการรักษาอุณหภูมิ ให้สม่ำเสมอ ใน chamber มี pressure และ temperature guages ควรมีเทอร์โมมิเตอร์ที่สอบเทียบแล้ว ตั้งอยู่ที่ exhaust line เพื่อจะวัดอุณหภูมิต่ำสุดใน sterilizing chamber ควรมีระบบบันทึกสำหรับแต่ละครั้งที่ใช้ โดยบันทึกข้อมูลต่อไปนี้

- อุณหภูมิและเวลาที่ตั้ง
- สิ่งของที่อยู่ใน autoclave
- ความดันและอุณหภูมิที่อ่านได้เมื่อ autoclave ถึงอุณหภูมิที่ตั้งไว้
- เวลาที่เริ่มใช้และสิ้นสุดการใช้

การทดสอบว่า autoclave ใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่โดย ใช้biological indicators ที่มีขายอยู่หลายบริษัท ได้แก่ Bacillus Stearothermophilus spores ampoules หรือ strips และการทดสอบสมบัติทางฟิสิกส์ทำได้โดยใช้ thermocouples และ maximum thermometer ควรทำทั้ง biological และ physical tests เพื่อยืนยันความถูกต้องของ autoclave การทำ physical validations โดยใช้ thermocouples วางตามจุดต่างๆ ใน autoclave โดยทำปีละครั้ง ส่วน biological indicator ให้ทำทุกครั้งที่ใช้งาน

4. pH meter

ควรมีการ standardization ด้วย buffer อย่างน้อย 2 ชนิด (pH 4.0, pH 7.0 หรือ pH 10.0) ก่อนใช้งาน buffer ที่แบ่งมาใช้ในการวัดแต่ละครั้งควรจะทิ้งหลังจากใช้แล้ว ควรบันทึกวันที่รับ buffer เข้ามาใน lab และวันหมดอายุหลังจากเปิดแล้ว pH meter ควรมีค่าถูกต้องภายใน 0.1 pH unit อายุของ electrode จะเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับยี่ห้อ และความถี่ในการใช้งาน ควรมีการบันทึกการ verify pH meter ก่อนใช้งาน

5. Balances

การตรวจสอบความถูกต้องก่อนใช้งานควรใช้ Standard reference weights ซึ่งได้รับการสอบเทียบทุกปี โดยใช้ตุ้มน้ำหนักที่มีใบรับรองจากสถาบันที่เป็นที่ยอมรับ ปกติแล้วเครื่องชั่งจะถูกตรวจสอบโดยตุ้มน้ำหนักหลายอัน

6. Temperature- Monitoring Devices

ใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบแก้วหรือโลหะที่มีขีดแบ่ง 0.5° ซ เพื่อวัดอุณหภูมิใน incubator และตู้เย็น การ verify ความถูกต้องของ Thermometer โดยใช้เทียบกับ Thermometer ที่มีใบรับรองจากสถาบันที่เป็นที่ยอมรับ(เช่น NIST)

7. Pipettes

ใช้ pipette ขนาดเหมาะสม เพื่อสามารถปล่อยของเหลวออกมามีปริมาตรถูกต้องและรวดเร็ว ใช้pipette ที่มีขีดแบ่งเห็นชัดเจนและปลายไม่แตก ไม่ควรใช้ปากดูด pipette ให้ใช้ pipette aid

8. Refrigerator

ใช้ตู้เย็นที่รักษาอุณหภูมิที่ 2 ถึง 8 ° ซ สำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อ reagents และอื่น ๆ ไม่ใส่ volatile solvents ในตู้เย็นปะปนกับอาหารเลี้ยงเชื้อ

บุคลากร

คุณภาพของการวิเคราะห์ทดสอบจำเป็นต้องขึ้นอยู่กับคุณภาพของผู้วิเคราะห์ทดสอบซึ่งต้องมีความรู้ประสบการณ์ และแรงจูงใจที่จะปฏิบัติงานในหน้าที่ของตน

การคัดเลือกบุคลากรที่เหมาะสมมีความสำคัญพอๆ กับการจัดการ (Management) ซึ่งรวมทั้งการจูงใจ การฝึกอบรม การควบคุมงาน บุคลากรทั้งใหม่และเก่าจะต้องได้รับการจัดหาสถานที่ปลอดภัย มี facility ที่เหมาะสมให้ มีเครื่องมือเครื่องใช้พอเพียงพอในการทำงาน

วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. **การเก็บตัวอย่างเพื่อไปตรวจวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์**

1.1 การเก็บตัวอย่างที่เป็นอาหาร

การเก็บตัวอย่างเพื่อไปตรวจจะทำในลักษณะคล้ายคลึงกัน คือไม่ว่าจะเป็นของเหลวหรือของแข็ง จะมีการเก็บใส่ในภาชนะที่ปลอดเชื้อ และนำไปตรวจทันทีเพื่อให้ได้ข้อมูลที่แน่นอน ดังนั้นการตรวจข้าว, น้ำ, น้ำแป้ง,แป้งอัด, และแป้งผง จึงใช้วิธีเดียวกันดังนี้ คือ

1. นำภาชนะที่ต้องการเก็บ เช่น หลอดแก้วฝาเกลียว ไปนึ่งใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2. เก็บตัวอย่างจากแหล่งต่าง ๆ ด้วยวิธี Aseptic Technique ดังนี้

-เปิดฝาเกลียวหลอดทดลอง

-ลนไฟที่ปากหลอดทดลอง

-ตักตัวอย่างใส่หลอดทดลองด้วยภาชนะที่ปลอดเชื้อ เช่น ช้อนให้จุ่มในแอลกอฮอล์ 90% แล้วลนไฟ

-ลนไฟที่ปากหลอดอีกครั้งแล้วปิดฝาให้สนิท

3. นำตัวอย่างไปตรวจสอบทันที

1.2 การเก็บตัวอย่างจากพนักงานและพื้นผิว

ในกรณีที่ต้องการตรวจพนักงานและพื้นผิวเครื่องมือ จะใช้เทคนิค Swab Contact Method ดังนี้

1. นำสารละลาย 0.1% peptone water, สำลีพันไม้(Swab) และหลอดแก้วฝาเกลียว ไปทำให้ปลอดเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

2. ตวง 0.1 % peptone water ใส่หลอดแก้วฝาเกลียวให้ได้ปริมาตร 5ml

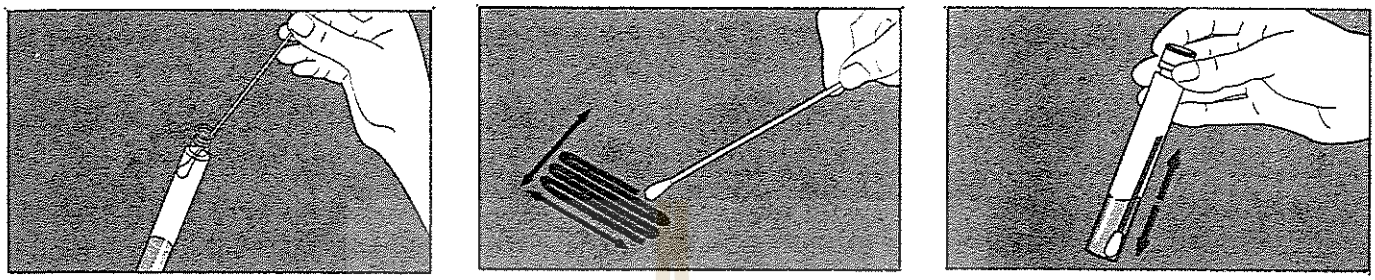
3. จุ่มปลาย Swab ลงใน 0.1% peptone water แล้วกดกับหลอดแก้วข้างใน เพื่อรีดไม่ให้สารละลายชุ่มเกินไป ดังรูปที่ 3a

4. จรด Swab ทำมุม 30 ° กับพื้นผิว และปาดพื้นผิวที่ต้องการอย่างช้า ๆ ในลักษณะซิกแซก ดังรูปที่ 3b

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5. หักปลายไม้ที่พันสำลีออก ใส่ในสารละลาย 0.1% peptone water ปิดฝาเกลียวแล้วเขย่าหลอดแก้วแรงๆ 10 วินาที ดังรูปที่ 3c

6. ปิเปตสารละลาย 1 ml ใส่จานเลี้ยงเชื้อหรือ Petrifilm เพื่อวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ต่อไป



a b c

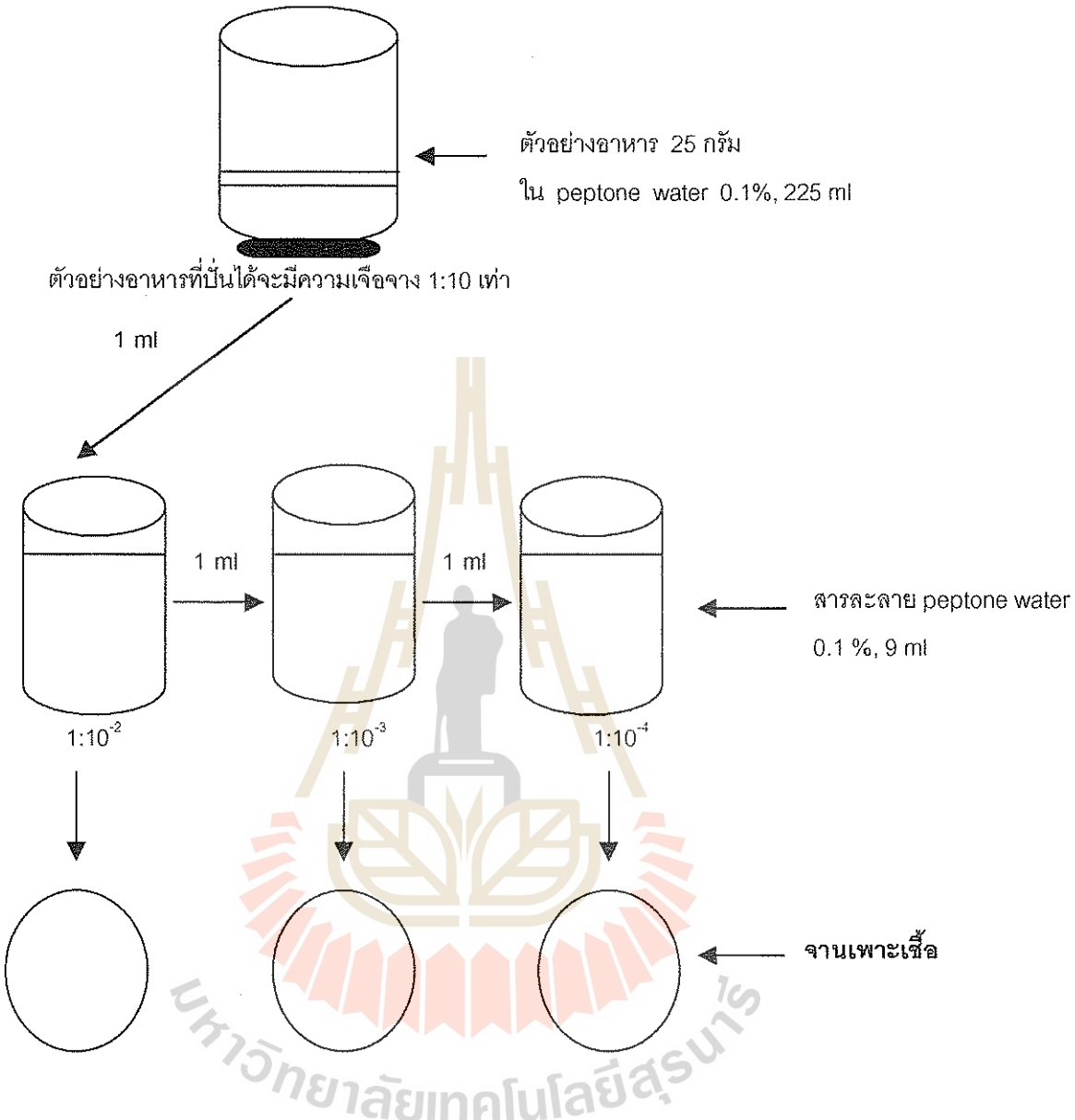
รูปที่ 3 Swab Contact Method

2. **การเจือจางอาหาร เพื่อวิเคราะห์และตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์**

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25.00 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง แล้วใส่ในโถปั่นปลอดเชื้อ เติมสารละลาย 0.1% peptone water 225 ml ปั่น 2 นาที จนอาหารเป็นเนื้อเดียวกัน

2. เจือจางสารละลายจากข้อ 1 โดยปิเปตสารละลายดังกล่าว 1 ml ใส่ในสารละลาย 0.1% peptone water 9 ml ที่อยู่ในหลอดทดลอง โดยเจือจางเป็น 1:100, 1:1000 และ 1:10000 ดังรูปที่ 4

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 4 การเจือจางตัวอย่างอาหาร

3. **การวิเคราะห์และตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยจานเลี้ยงเชื้อ** (Petri dish)

3.1 Aerobic Plate Count

วัสดุและอุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml และ 10 ml ชนิดละ 1 กระบอก
2. ลูกยาง
3. แท่งแก้วงอ (Spreader)
4. หลอดทดลอง (Tube)

5. ขวดใส่ peptone water
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petridish)
8. โถปั่นอาหาร (Blender)
9. เครื่องผสม (Vortex mixer)
10. เครื่องนับจำนวนโคโลนี
11. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 32 $^{\circ}$ C (Incubator)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. PCA (Plate Count Agar)
2. 0.1% peptone water
3. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

<u>การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์, อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. วัสดุและอุปกรณ์

นำหลอดทดลอง, ขวดใส่ peptone water, ปิเปต, โถปั่น,จานเลี้ยงเชื้อ และกระบอกตวง นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อPCA (Plate Count Agar) ดังภาคผนวก ก
3. การเตรียมสารเคมี 0.1% peptone water diluent ดังภาคผนวก ก

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เทอาหาร PCA ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีตัวอย่างอาหาร ประมาณ 15 ml หรือให้มีความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 mm.
2. ทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจาง(ดังวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น) 0.1 ml (spread plate) ปล่อยลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 2
4. ใช้แท่งแก้วงอเกลี่ยตัวอย่างอาหารให้ทั่วผิวหน้าจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งให้ผิวหน้าแห้ง
5. คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. เลือกนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี
7. รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 ml หรือ 1 กรัมอาหาร(CFU/ml หรือg)ดังภาคผนวก ค

<u>ข้อควรระวัง</u>

1. ทำความสะอาดบริเวณที่ทำการทดลองด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่อยู่บริเวณพื้นผิว
2. ก่อนนำแท่งแก้วงอไปใช้ควรนำไปจุ่มแอลกอฮอล์ 90% แล้วผ่านไฟ ปล่อยให้แท่งแก้วเย็นราว 10-15 วินาที

3. คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำไปบ่ม เพื่อป้องกันหยดน้ำที่เกิดจากการระเหยหยดลงมา ทำให้แบคทีเรียเกิดการปนเปื้อน

4. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการตรวจเรียบร้อยแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาด เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อดังกล่าว

3.2 Coliform/ E. coli

วัสดุและอุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml และ 10 ml ชนิดละ 1 กระบอก
2. ลูกยาง
3. หลอดทดลอง (Tube)
4. ขวดใส่ peptone water
5. กระบอกตวง (Cylinder)
6. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petridish)
7. โถปั่นอาหาร (Blender)
8. เครื่องผสม (Vortex mixer)
9. เครื่องนับจำนวนโคโลนี
10. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 $^{\circ}$ C (Incubator)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. VRBA (Violet Red Bile Agar)
2. BGB (Brilliant Green Lactose Bile Broth, 2%)
3. 0.1% peptone water
4. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์, อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. วัสดุและอุปกรณ์

นำหลอดทดลอง, ขวดใส่ peptone water, ปิเปต, โถปั่น,จานเลี้ยงเชื้อ และกระบอกตวง นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA (Violet Red Bile Agar) และ BGB (Brilliant Green Lactose Bile Broth, 2%) ดังภาคผนวก ก

3. การเตรียมสารเคมี 0.1% peptone water diluent ดังภาคผนวก ก

วิธีการทดลอง

● วิธี Solid Medium Method (VRBA)

1. เตรียม violet red bile agar ในวันที่ต้องการจะใช้ ก่อนใช้ทำให้เย็นลงถึง 48 $^{\circ}$C และ pH ควรอยู่ในช่วง 7.0 - 7.2

2. ดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจาง 1 ml (pour plate)ปล่อยลงในจานเลี้ยงเชื้อเปล่า

3. เท VRBA 10 ml ที่มีอุณหภูมิ 48 °C ลงในจานเลี้ยงเชื้อในข้อ 2 ผสมให้เข้ากันโดยหมุนจานตามเข็มนาฬิกา ทิ้งไว้ให้แข็ง

4. เททับด้วย VRBA 5 ml แล้วทิ้งไว้ให้แข็ง

5. คว่ำจานเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. นับโคโลนีที่มีสีม่วง - แดงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 มม. โดยนับจานที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30 - 100 โคโลนี

7. รายงานผลเป็น CFU/ml หรือ g ดังภาคผนวก ค

● วิธีการยืนยันผล (Confirm test)

1. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะต่างๆ จากจานเลี้ยงเชื้อ มาใส่ในหลอดทดลองที่มี BGB broth โดยใช้ loop ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม.

2. นำไปบ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. ตรวจผล โดยหลอดที่มีแก๊สจะยืนยันการเป็น coliform

ข้อควรระวัง

1. ทำความสะอาดบริเวณที่ทำการทดลองด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่อยู่บริเวณพื้นผิว

2. ในการเตรียมอาหาร VRBA ไม่ควรฆ่าเชื้อโดยการนำไปนึ่งใน Autoclave เพราะความร้อนสูงจะไปลดความสามารถในการเจริญของเชื้อ

3. คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำไปบ่ม เพื่อป้องกันหยดน้ำที่เกิดจากการระเหยหยดลงมา ทำให้แบคทีเรียเกิดการปนเปื้อน

4. นำจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการตรวจเรียบร้อยแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาด เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อดังกล่าว

3.3 แบคทีเรียทนร้อน (Thermophilic Bacteria)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml และ 10 ml ชนิดละ 1 กระบอก
2. ลูกยาง
3. แท่งแก้วงอ (Spreader)
4. หลอดทดลอง (Tube)
5. ขวดใส่ peptone water
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petridish)
8. โถปั่นอาหาร (Blender)
9. เครื่องผสม (Vortex mixer)
10. เครื่องนับจำนวนโคโลนี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

11. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 55 $^{\circ}$ C (Incubator)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. PCA (Plate Count Agar)
2. 0.1% peptone water
3. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

<u>การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์, อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. วัสดุและอุปกรณ์

นำหลอดทดลอง, ขวดใส่ peptone water, ปิเปต, โถปั่น,จานเลี้ยงเชื้อ และกระบอกตวง นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อPCA (Plate Count Agar) ดังภาคผนวก ก
3. การเตรียมสารเคมี 0.1% peptone water diluent ดังภาคผนวก ก

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เทอาหาร PCA ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีตัวอย่างอาหาร ประมาณ 15 ml หรือให้มีความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 mm.
2. ทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจาง(ดังวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น) 0.1 ml (spread plate) ปล่อยลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 2
4. ใช้แท่งแก้วงอเกลี่ยตัวอย่างอาหารให้ทั่วผิวหน้าจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งให้ผิวหน้าแห้ง
5. คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 $^{\circ}$C เป็นเวลา 3-5 วัน
6. เลือกนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี
7. รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 ml หรือ 1 กรัมอาหาร (CFU/ml หรือg) ดังภาคผนวก ค

<u>ข้อควรระวัง</u>

1. ทำความสะอาดบริเวณที่ทำการทดลองด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่อยู่บริเวณพื้นผิว
2. ก่อนนำแท่งแก้วงอไปใช้ควรนำไปจุ่มแอลกอฮอล์ 90% แล้วผ่านไฟ ปล่อยให้แท่งแก้วเย็นราว 10-15 วินาที
3. คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำไปบ่ม เพื่อป้องกันหยดน้ำที่เกิดจากการระเหยหยดลงมา ทำให้แบคทีเรียเกิดการปนเปื้อน
4. นำจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการตรวจเรียบร้อยแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาด เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อดังกล่าว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.4 ยีสต์และรา (Yeast and Mold)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml และ 10 ml ชนิดละ 1 กระบอก
2. ลูกยาง
3. แท่งแก้วงอ (Spreader)
4. หลอดทดลอง (Tube)
5. ขวดใส่ peptone water
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petridish)
8. โถปั่นอาหาร (Blender)
9. เครื่องผสม(Vortex mixer)
10. เครื่องนับจำนวนโคโลนี
11. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 25 $^{\circ}$ C (Incubator)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. PDA (Potato Dextrose Agar)
2. 0.1% peptone water
3. Tartaric acid 10%
4. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์, อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. วัสดุและอุปกรณ์

นำหลอดทดลอง, ขวดใส่ peptone water, ปิเปต, โถปั่น,จานเลี้ยงเชื้อ และกระบอกตวง นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อPDA (Potato Dextrose Agar) ดังภาคผนวก ก
3. การเตรียมสารเคมี 0.1% peptone water diluent ดังภาคผนวก ก

วิธีการทดลอง

1. เทอาหาร PDA ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีตัวอย่างอาหาร ประมาณ 15 ml หรือให้มีความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 mm.
2. ทิ้งไว้จนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจาง(ดังวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น) 0.1 ml (spread plate) ปล่อยลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 2
4. ใช้แท่งแก้วงอเกลี่ยตัวอย่างอาหารให้ทั่วผิวหน้าจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งให้ผิวหน้าแห้ง
5. ไม่ต้องคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3-5 วัน
6. เลือกนับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีปรากฏ 25-250 โคโลนี

7. รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 ml หรือ 1 กรัมอาหาร(CFU/ml หรือ g) ดังภาคผนวก ค

ข้อควรระวัง

1. ทำความสะอาดบริเวณที่ทำการทดลองด้วยแอลกอฮอล์ 70% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่อยู่บริเวณพื้นผิว

2. ก่อนนำแท่งแก้วงอไปใช้ควรนำไปจุ่มแอลกอฮอล์ 90% แล้วผ่านไฟ ปล่อยให้แท่งแก้วเย็นราว 10-15 วินาที

3. ไม่ต้องคว่ำจานอาหารก่อนนำไปบ่ม

4. นำจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการตรวจเรียบร้อยแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนล้างทำความสะอาด เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อดังกล่าว

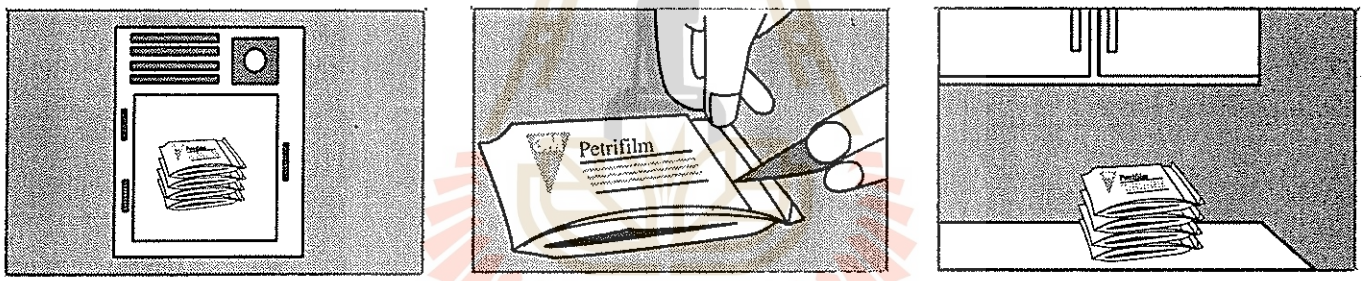
4. การวิเคราะห์และตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วย Petrifilm

4.1 การเก็บรักษา Petrifilm

1. แช่เย็นที่ 4-8 °C สำหรับของที่ยังไม่ได้เปิดใช้

2. เวลาจะนำมาใช้ให้ตัดตามรอยประด้านเดียว

3. หลังจากเปิดซองแล้วให้เก็บที่ 25 °C และความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกิน 50 % ห้ามนำเข้าแช่เย็นอีกเด็ดขาด (ซองที่เปิดแล้วสามารถเก็บที่สภาพข้างต้นได้นาน 1 เดือน) ดังรูปที่ 5



รูปที่5 การเก็บรักษา Petrifilm

4.2 การตรวจวิเคราะห์ Aerobic Plate Count , Coliform /E. coli และ Yeast and Mold

วัสดุและอุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml 1 กระบอก
2. ลูกยาง
3. หลอดทดลอง (Tube)
4. ขวดใส่ peptone water
5. กระบอกตวง (Cylinder)
6. Spreader
7. โถปั่นอาหาร (Blender)
8. เครื่องผสม(Vortex mixer)
9. เครื่องนับจำนวนโคโลนี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

10. ตู้บ่มเชื้อที่มีอุณหภูมิ 25 และ35 $^{\circ}$ C (Incubator)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. Petrifilm 3 ชนิด คือ Aerobic Count Plate (AC) , Coliform and E. coli Count Plate (CC and EC), Yeast and Mold Count Plate (YM)

2. 0.1% peptone water

3. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

<u>การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์, อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. วัสดุและอุปกรณ์

นำหลอดทดลอง, ขวดใส่ peptone water, ปิเปต, โถปั่น และกระบอกตวง นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารเคมี 0.1% peptone water diluent ดังภาคผนวก ก

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. วาง petrifilm บนพื้นราบ โดยให้แผ่นฟิล์มอยู่ด้านบน

2. ค่อย ๆ ปล่อยสารละลายตัวอย่างแต่ละความเจือจาง 1 ml ในแนวตั้ง พยายามให้สารละลายตกอยู่เหนือตรงกลางแผ่นเล็กน้อย

3. สำหรับ AC และ YM ให้ปล่อยแผ่นฟิล์มด้านบนลงได้ทันที สำหรับ CC และ EC ให้ค่อย ๆ ปล่อยแผ่นฟิล์มด้านบนลงช้า ป้องกันการเกิดฟองอากาศ

4. วาง Spreader ลงบน Petrifilm

-สำหรับ AC ใช้ Spreader ด้านที่มีร่องรูปวงกลม

-สำหรับ CC และ EC ใช้ Spreader ด้านเรียบ

-สำหรับ YM ใช้ Spreader พิเศษ

5. ค่อย ๆ ใช้นิ้วชี้หรือนิ้วโป้งกดลงตรงกลาง Spreader เพื่อให้สารละลายกระจายตัวเต็มวงกลม (อย่าใช้แรงบิดหรือเคลื่อนSpreader ไปมา) ขั้นตอนนี้ทำ 2-3 ครั้ง ก็จะสามารถกำหนดแรงของตนเองได้

6. ยก Spreader ออก ทิ้งไว้ประมาณ 1 นาทีเพื่อรอให้วุ้นแข็งตัว

7. บ่ม petrifilm เรียงซ้อนกันได้สูงไม่เกิน 20 แผ่น

- AC บ่มที่อุณหภูมิ 32 $^{\circ}$C เวลา 48 ชั่วโมง

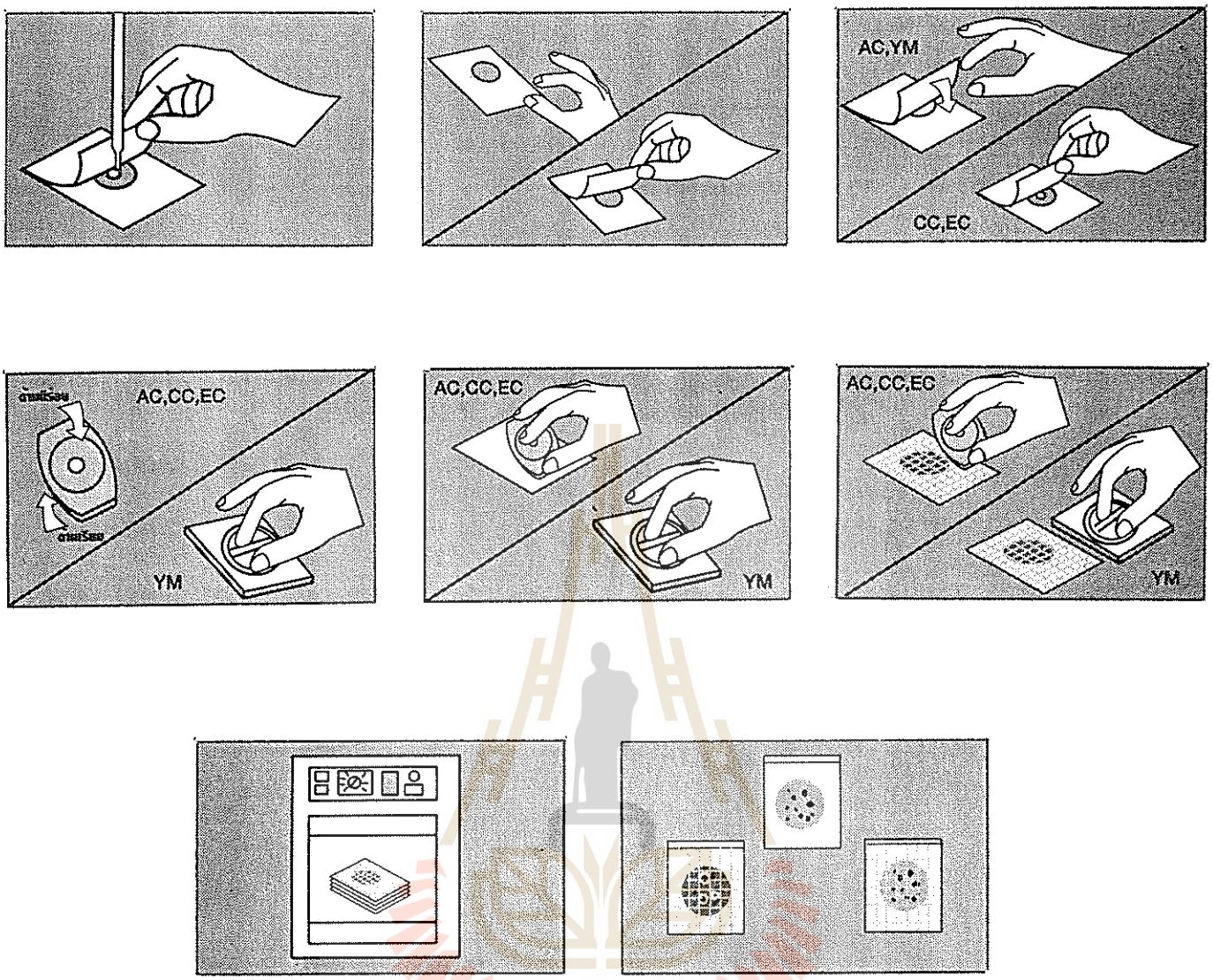
- CC บ่มที่อุณหภูมิ 35 $^{\circ}$C เวลา 24 ชั่วโมง

- EC บ่มที่อุณหภูมิ 35 $^{\circ}$C เวลา 24-48 ชั่วโมง

- YM บ่มที่อุณหภูมิ 25 $^{\circ}$C เวลา 3 -5 วัน

-Thermophilic (ใช้ petrifilm ชนิด AC) บ่ม 55 $^{\circ}$C 3 -5 วัน ดังรูปที่ 6

8. อ่านผลโดยใช้เอกสารแนะนำวิธีการอ่านผลตามชนิดของจุลินทรีย์ (Interpretation Guide) เป็นแนวทางดังภาคผนวก ข



รูปที่ 6 การตรวจวิเคราะห์ Aerobic Plate Count, Coliform/E.coli และ Yeast and Mold

งานที่ปฏิบัติ

ในการปฏิบัติงานครั้งนี้ ทางโรงงานได้มอบหมายให้ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ ในส่วนต่างๆ ดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ 4 ชนิด โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจ คือ Aerobic Plate Count , Coliform Plate Count , E.coli Plate Count , Thermophilic Plate Count และYeast & Mold Plate Count
2. ผลิตภัณฑ์ของจุดต่างๆ ในสายการผลิต 8 จุด โดยตรวจเฉพาะ Aerobic Plate Count
3. เครื่องมือ 9 ชนิด โดยวิธีswab test
4. น้ำ 5 ชนิด โดยตรวจ Aerobic Plate Count , Coliform Plate Count , E.coli Plate Count

เมื่อทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนต่างๆ แล้วได้ระบุจุดที่ก่อให้เกิดปัญหา และหาวิธีในการแก้ไขต่อไป

<u>หมายเหตุ</u>

ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองไม่สามารถนำเสนอได้ เนื่องจากเป็นความลับของทางโรงงาน

บทที่ 2
การทำความสะอาดและการแก้ไขปัญหาโรงงานอุตสาหกรรม

การที่จะทำให้โรงงานสามารถผลิตอาหารที่มีคุณภาพดีและถูกสุขลักษณะนั้น นอกจากจะต้องมีการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบและกรรมวิธีในการแปรรูปแล้ว ความสะอาดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตตลอดถึงตัวอาคารโรงงานจะต้องมีการคำนึงถึงด้วย ซึ่งการที่จะทำให้อุปกรณ์ในการแปรรูปต่างๆ และตัวอาคารโรงงานสะอาดได้นั้น นอกจากจะต้องมีการระมัดระวังไม่ให้สกปรกหรือมีการปนเปื้อนแล้ว ควรจะต้องมีการล้างให้บ่อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ เวลาที่เสร็จสิ้นการผลิตแต่ละครั้ง ควรจะล้างทำความสะอาดเครื่องมือ อุปกรณ์ต่างๆ โต๊ะที่ใช้ในการผลิตและบริเวณพื้นที่ทันทีส่วนตัวอาคารโรงงานนั้น อาจไม่จำเป็นจะต้องล้างหรือทำความสะอาดบ่อยนัก แต่ทั้งนี้จะขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่จะผลิตและความเหมาะสมอื่นๆ ด้วย

การจำแนกชนิดของสิ่งสกปรก

ชนิดของสิ่งสกปรกที่พบในแต่ละโรงงานนั้น จะแตกต่างกันไปและขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารที่โรงงานนั้นผลิต ขึ้นกับองค์ประกอบของวัตถุดิบ กรรมวิธีที่ใช้ในการแปรรูป สุขลักษณะส่วนบุคคลของพนักงานและสิ่งแวดล้อมของโรงงานด้วย สิ่งสกปรกที่พบนั้น อาจอยู่ในรูปลักษณะเป็นฝุ่นหรืออาจจับติดในลักษณะแห้งกรัง หรือเหนียวเป็นเมือกหรือมันๆ เป็นต้น

การจำแนกชนิดของสิ่งสกปรกนั้นสามารถจะแบ่งออกได้ตามวิธีการขจัดได้ดังนี้ คือ

1. สิ่งสกปรกที่ละลายได้ในน้ำหรือตัวทำละลายที่ไม่มีผงซักฟอกหรือน้ำยาที่ใช้ทำความสะอาดอยู่ สิ่งสกปรกที่กล่าวนี้รวมถึงพวกเกลืออนินทรีย์ชนิดต่างๆ น้ำตาล แป้ง และเกลือแร่ชนิดต่างๆ สำหรับสิ่งสกปรกต่างๆ ที่กล่าวนี้มักจะไม่ค่อยมีปัญหา เนื่องจากสามารถขจัดออกได้ง่ายในช่วงของการใช้น้ำล้าง

2. สิ่งสกปรกที่สามารถละลายได้ในสารละลายที่ใช้ในการทำความสะอาด ซึ่งมีสารที่ช่วยให้มีการละลายและ detergent อยู่ด้วย

2.1 สิ่งสกปรกที่ละลายได้ในกรด จะสามารถละลายได้ในสารละลายกรดที่มีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 7 สำหรับสิ่งสกปรกที่มีการเกาะติดที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ สนิมเหล็กออกไซด์ของโลหะต่าง ๆ ที่จับบนเหล็กปลอดสนิท zinc carbonate, calcium oxalates, water stone เป็นต้น

2.2 สิ่งสกปรกที่ละลายได้ในด่าง เป็นสิ่งสกปรกที่สามารถละลายได้ในสารละลายด่างที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 7 กรดไขมัน เลือด โปรตีน และสารอินทรีย์อื่น ๆ ที่จับติดอยู่ จะสามารถละลายได้ในสารละลายที่เป็นด่าง ในสภาวะที่เป็นด่าง ไขมันจะทำปฏิกิริยากับด่างเกิดเป็นสบู่ ซึ่งปฏิกิริยานี้เรียกว่าsaponnification สบู่ที่เกิดจากปฏิกิริยาที่กล่าวจะละลายได้ และมีหน้าที่เป็นตัวช่วยให้สิ่งสกปรกที่เหลือมีการละลายและกระจายตัวได้ดีขึ้น

3. สิ่งสกปรกที่ไม่ละลายในสารละลายที่ใช้ในการทำความสะอาด

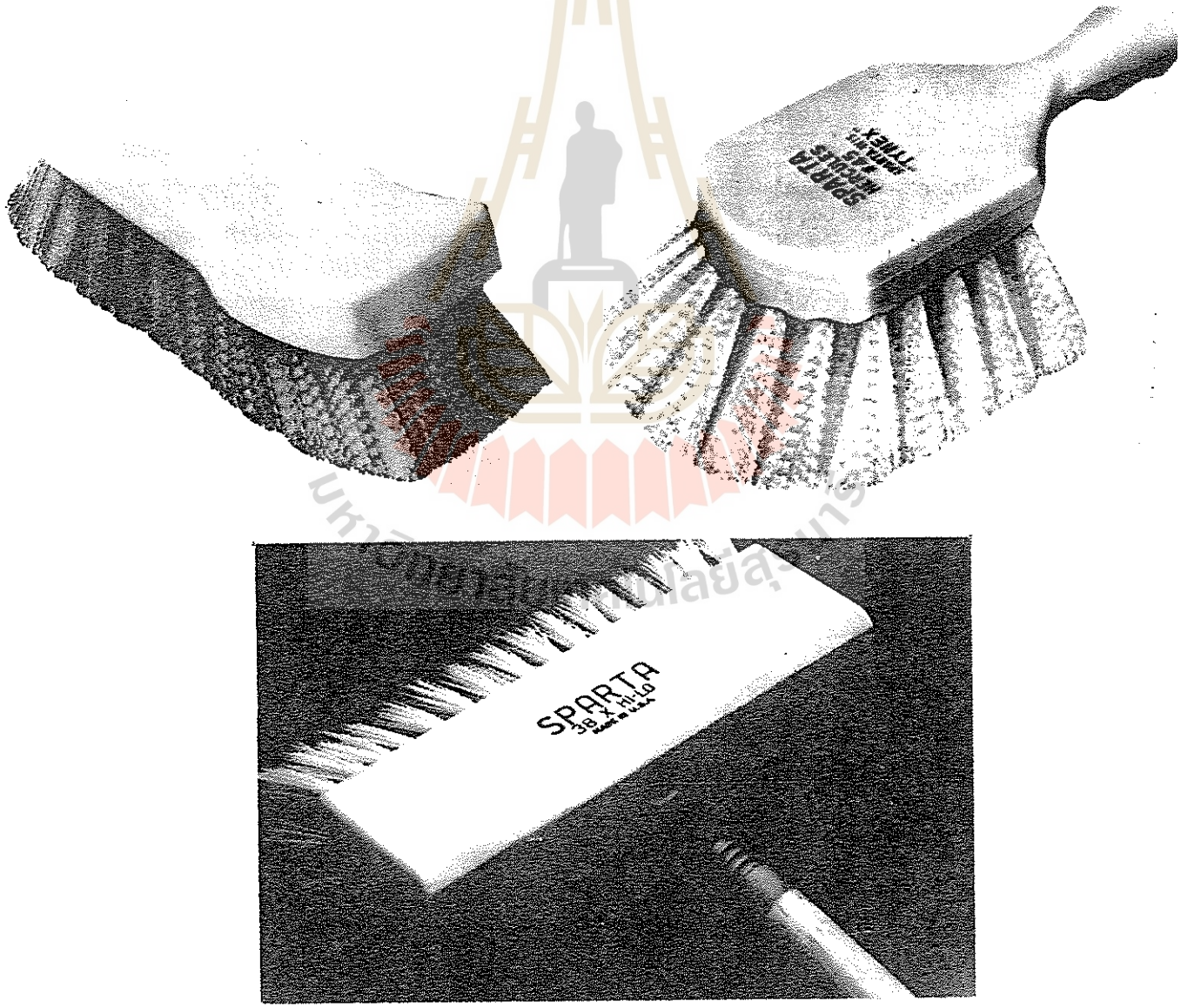
สิ่งสกปรกที่ไม่ละลายในสารละลายที่ใช้ในการทำความสะอาดทั่วๆ ไป สิ่งสกปรกที่จัดอยู่ในประเภทที่กล่าวมาแล้วข้างต้นอาจจัดอยู่ในประเภทอื่นๆ ได้อีก ถ้าหากมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารที่ใช้ในการทำความสะอาด ตัวอย่างเช่น น้ำตาลซึ่งปรกติละลายในน้ำ ถ้าหากทำความสะอาดใช้น้ำ สิ่งสกปรกที่เป็นน้ำตาลนี้จะจัดอยู่ในประเภทหนึ่งที่กล่าวมาแล้วนั้น แต่ถ้าการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการทำความสะอาดแล้ว สิ่งสกปรกที่เป็น

น้ำตาลนั้น จะจัดอยู่ในอีกประเภทหนึ่งแตกต่างจากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ฉะนั้นในการทำความสะอาด จึงต้องมีการเลือกชนิดของตัวทำละลาย สารที่ใช้ในการทำความสะอาด รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำความสะอาดให้เหมาะสม

เครื่องมือที่ใช้ช่วยในการทำความสะอาด

ในการทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ หรืออาคารโรงงานนั้น ถ้าจะให้มีประสิทธิภาพดี ควรจะมีการนำเครื่องมือต่างๆ เข้ามาช่วยด้วย ซึ่งเครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ ที่นิยมนำมาใช้ช่วยให้การล้างมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ได้แก่แปรงชนิดต่างๆ ไม้กวาดชนิดต่างๆ เครื่องดูดฝุ่น เครื่องถูพื้น เครื่องขัดพื้น เครื่องมือที่ใช้ช่วยในการแคะหรือขูดผ้าและฟองน้ำเป็นต้น

การเลือกใช้เครื่องมือชนิดใดเพื่อนำมาใช้ช่วยในการล้างนั้น ต้องมีการเลือกให้เหมาะสมกับชนิดของงาน ตัวอย่างเช่น การใช้แปรงและไม้กวาดช่วยในการทำความสะอาดควรจะเลือกใช้แปรงและไม้กวาดที่เหมาะสมกับชนิดของพื้นผิวของเครื่องมือที่จะล้าง และควรจะมีที่จับ หรือด้ามยาวพอให้ทำความสะอาดได้สะดวก สะอาดหมดจดและทั่วถึง ควรจะเป็นชนิดแข็ง แต่ไม่ควรจะแข็งจนกระทั่งทำลายผิวของเครื่องมือ การจะเลือกใช้แปรงที่มีขนแข็งเท่าใดนั้นควรจะพิจารณาจากบริเวณหรือพื้นผิวที่ต้องการจะล้าง ดังรูปที่ 7

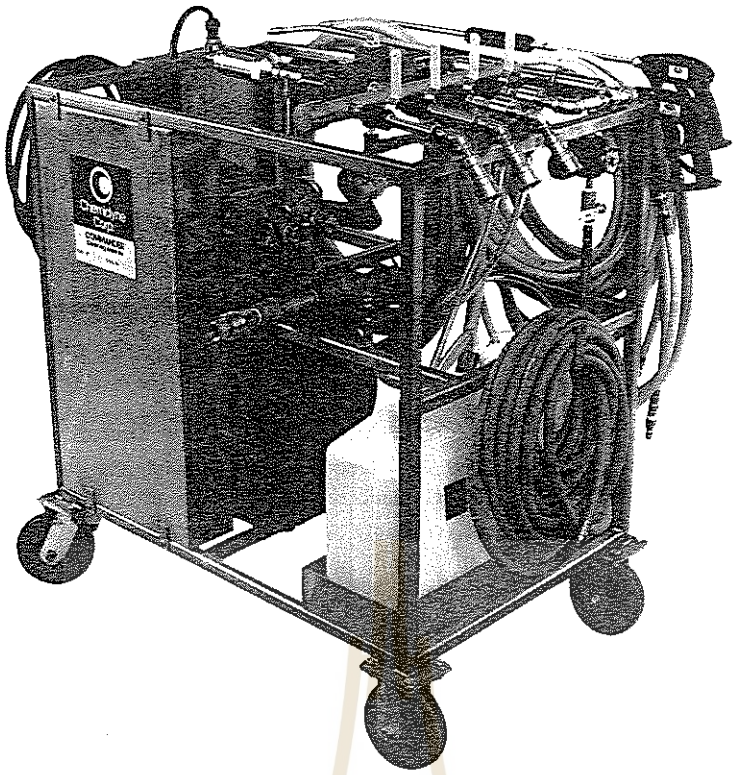


รูปที่ 7 แปรงลักษณะต่าง ๆ

ขนแปรงที่ทำด้วย Bassine fiber นั้น เหมาะสำหรับใช้กับพื้นซึ่งหยาบมากและมีสิ่งสกปรกสะสมอยู่มาก และสามารถใช้กับ detergent ที่แรงได้ เพราะจะไม่ทำให้ขนแปรงเกิดการอ่อนตัว สำหรับบริเวณที่ต้องการใช้แปรงไม่แข็งนัก อาจใช้แปรงที่มีขนทำด้วย Palmyra fiber ซึ่งจะเป็นแปรงที่มีขนแข็งปานกลางและยังสามารถรักษารูปทรงของแปรงให้คงรูปอยู่ได้ใน detergent ที่แรง ส่วนแปรงที่มีขนทำด้วย Tampico fiber นั้น เป็นแปรงที่มีขนอ่อนกว่าแปรงที่มีขนที่ทำด้วย Palmyra fiber แต่ไม่ค่อยเหมาะสำหรับการใช้ล้างทั่วๆ ไป เพราะขนของแปรงชนิดนี้จะอ่อนตัวใน detergent แปรงที่ทำด้วยลวดก็เช่นเดียวกัน ไม่เหมาะสมที่จะใช้งานล้างทั่วๆ ไป ทั้งนี้เพราะลวดอาจจะไปขีดข่วนผิวของเครื่องมือได้ อย่างไรก็ดีแปรงลวดก็เหมาะกับการล้างที่ต้องการขจัดสิ่งสกปรกที่จับอยู่อย่างแน่นกับเครื่องมือ หรือในกรณีที่ไม่กลัวว่าจะมีรอยขีดข่วนบนพื้นผิวของเครื่องมือ หรือในกรณีที่ต้องการเอาสนิมหรือสีออก นอกจากนี้แปรงที่ขนทำด้วยใยสังเคราะห์ เช่น epoxy vinyl เป็นแปรงที่เหมาะกับงานล้างทั่วๆ ไปมาก สำหรับเครื่องมือที่ใช้ในการช่วยแคะ แซะ หรือขูดนั้น จะมีประโยชน์มากในกรณีที่มีสิ่งสกปรกจับเครื่องมือแน่น อย่าใช้แปรงที่ทำด้วยวัสดุที่ขาดหรือหักง่าย เพราะจะทำให้มีเศษขน หรือชิ้นส่วนของแปรงตกค้างอยู่ ซึ่งอาจจะปะปนหรือปนเปื้อนเข้าไปในอาหารได้ นอกจากจะใช้แปรงหรือไม้กวาดที่กล่าวมาแล้ว อาจใช้แปรงที่มีมอเตอร์ หรือเครื่องถูพื้น เครื่องขัดพื้น หรือเครื่องดูดฝุ่น เข้าช่วยในงานล้างทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องใช้และอาคารโรงงานเพื่อให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

นอกจากเครื่องมือที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีเครื่องมือที่ใช้ช่วยในการล้างประเภทที่อาศัยความร้อนของน้ำช่วยด้วย เช่น เครื่องมือที่ใช้ช่วยในการล้างแบบ Low pressure high temperature units เป็นต้น เครื่องมือประเภทนี้จะประกอบด้วยแทงค์ใส่ detergent ซึ่งสามารถทำให้ร้อนได้ด้วยไอน้ำ มีปั๊มซึ่งสามารถทำให้น้ำมีความดันได้ 50 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) มีท่อซึ่งสามารถจะต่อกับหัวฉีดแบบต่าง ๆ ได้ เป็นเครื่องที่อาจติดตั้งอยู่กับที่หรือเคลื่อนย้ายได้ มักจะนิยมใช้ในงานล้างก่อนที่จะมีการล้างแบบที่อาศัยความดันสูง ซึ่งสามารถช่วยในการกำจัดคราบน้ำมันน้ำมันหล่อลื่นต่างๆ ที่จับติดอยู่กับอุปกรณ์เครื่องมือและบริเวณอาคารโรงงานได้

เครื่องมือที่ช่วยในการล้างแบบ High pressure water units สำหรับเครื่องมือชนิดนี้ก็เช่นกัน ที่อาจจะติดอยู่กับที่หรืออาจเคลื่อนย้ายได้ มีปั๊มซึ่งสามารถทำให้ได้ความดันไอมากกว่า 600 psi ขึ้นไป และในการล้างนั้นอาจจะใช้น้ำร้อนซึ่งมีความดันสูง โดยจะมี detergent หรือไม่มี detergent อยู่ด้วยก็ได้ ทั้งนี้แล้วแต่สิ่งที่จะล้าง บริเวณที่จะล้างและความสกปรกในบริเวณที่จะล้างด้วยว่าสกปรกมากเท่าใด ความดันของน้ำควรจะสูงกว่า 15psi และความดันของน้ำควรจะสูงกว่า 50 psi มีท่อซึ่งสามารถจะต่อกับหัวฉีดชนิดต่างๆ ได้ ข้อควรระวังของการใช้เครื่องมือช่วยล้างแบบ high pressure water units คือควรจะมีการอบรมผู้ล้างให้รู้วิธีการล้างแบบนี้ก่อน โดยผู้ล้างควรจะสวมเสื้อที่กันน้ำได้ ถุงมือที่กันร้อนได้และเมื่อมีการใช้น้ำเย็นหรือ detergent ที่แรง ก็ควรมีหน้ากากหรือเครื่องป้องกันหน้าด้วย ปั๊มควรจะทำด้วยวัสดุที่มีผิวหน้าซึ่งทนทานต่อการกัดกร่อน ก่อนจะทำการล้างแบบ high pressure water units ควรจะทำต่อจากการล้างแบบ low pressure high temperature units ก่อน ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 เครื่องมือที่ช่วยในการล้างแบบ High pressure water units

สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด

การทำความสะอาดอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ นั้น นอกจากจะมีการใช้เครื่องมือต่างๆ ช่วยแล้ว ยังมีการใช้สารเคมีช่วยด้วย น้ำที่ใช้กับสารเคมีเหล่านี้ ควรใช้น้ำอ่อนหรือน้ำที่ผ่านกรรมวิธีการกำจัดแร่ธาตุและสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ออกแล้ว เพื่อช่วยประหยัดสารเคมีที่จะใช้ สารเคมีที่ใช้ช่วยในการทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือและอาคารโรงงาน อาจแบ่งออกได้เป็นประเภทใหญ่ๆ 2 ประเภท คือ

ก. Detergent

ข. Disinfectant

Detergent

Detergent เป็นสารเคมีที่ใช้ช่วยในการทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือและอาคารโรงงานที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย detergent ควรจะสามารถขจัดสิ่งสกปรกต่างๆ ได้ แต่ไม่จำเป็นต้องช่วยทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา แต่ในทางปฏิบัติปรากฏว่า detergents ส่วนใหญ่นอกจากจะช่วยขจัดสิ่งสกปรกแล้ว ยังช่วยทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาด้วยบางส่วน ซึ่งเป็นผลดีในการช่วยให้การทำความสะอาดมีประสิทธิภาพในขั้นต่อไปง่ายขึ้น โดย detergent สามารถจำแนกออกได้เป็นหลายชนิด ได้แก่

1. Inorganic alkali
2. Inorganic and organic acids
3. Surface active agents

ปัจจัยที่ใช้ในการเลือกสารเคมีที่ใช้ช่วยในการล้างและทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือได้แก่

1. สิ่งสกปรกที่ต้องการจะกำจัด คุณสมบัติของสิ่งสกปรกที่ต้องการจะกำจัด จะเป็นตัวกำหนดชนิดของ detergent ที่จะใช้ ตัวอย่างเช่น หากสิ่งสกปรกที่ต้องการจะกำจัดเป็นสารประกอบที่เป็นด่าง เช่น มีสารประกอบพวก calcium oxalate หรือมีตะกรันจับติดอยู่ สารเคมีที่เลือกมาช่วยในการล้างควรจะเป็นกรดอ่อนๆ หากล้างไม่ออกจึงเปลี่ยนเป็นกรดแก่แทน

2. พื้นผิวที่จะทำความสะอาด detergent ที่จะเลือกมาช่วยในการล้างนั้น ควรจะเป็นชนิดที่ไม่ทำให้เกิดการกัดกร่อนต่อพื้นผิวที่ทำการล้าง ปรกติแล้วเหล็กปลอดสนิมนั้น จะเป็นวัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อนมากที่สุด แต่ยังมีพวกสารประกอบคลอไรด์ที่สามารถทำให้เกิดการกัดกร่อนต่อเหล็กปลอดสนิมได้ ดังนั้นการทำความสะอาดควรหลีกเลี่ยงการใช้ detergent ที่มีกรดเกลืออยู่

3. ปริมาณของdetergent ที่จะต้องใช้ ความเข้มข้นของ detergent ที่จะใช้มีความสำคัญมากทั้งนี้เพราะว่าประสิทธิภาพของ detergent มักจะขึ้นกับความเข้มข้น detergent และอัตราส่วนประกอบของ detergent ที่ใช้ ถ้าหากใช้มากเกินไปอาจทำให้เกิดการกัดกร่อนหรือถ้าใช้น้อยไปอาจไม่เพียงพอต่อการทำความสะอาด

4. วิธีการใช้ detergent เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่จะต้องคำนึงถึง ตัวอย่างเช่น ไม่ควรพ่น detergent ที่มีคุณสมบัติเป็นด่างแก่หรือกรดแก่ไปยังเครื่องมือโดยตรง เพราะจะทำให้เกิดอันตรายต่อพื้นผิวของเครื่องมือที่ล้างได้ หากต้องการล้างเครื่องมือโดยวิธีพ่น ควรจะใช้detergent ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อน การล้างด้วยมือหรือแปรงหากต้องสัมผัสdetergent นั้นเป็นเวลานาน

Disinfectants

สำหรับการทำความสะอาดเครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูปนั้น บางชนิดจะใช้การทำความสะอาดแบบธรรมดา แต่บางชนิดจะต้องมีการทำความสะอาดชนิดให้ปราศจากเชื้อโรคเลยทีเดียว ทั้งนี้แล้วแต่ประเภทของงาน ซึ่งวิธีการที่ใช้นั้นมีหลายวิธี ความร้อนและสารเคมีเป็นวิธีที่มีการใช้กันมากที่สุด สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดแบบนี้ เรียกว่า disinfectants

การจำแนกชนิดของ disinfectants

Disinfectants ที่มีการใช้กันในอุตสาหกรรมอาหารทั่วไปนั้น อาจแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มคือ

1. Quaternary ammonium compounds
2. Amphoteric compounds
3. Iodophors
4. Chlorine-relesing compounds

Quaternary ammonium compounds (QACs)

สารประกอบควอเทอร์นารีแอมโมเนียมเป็นสารซักฟองที่มีประจุบวกชนิดหนึ่ง ตัวอย่างได้แก่ Cetrimide, Ceepryn, Zephirol และ Diaparene สารซักฟอกกลุ่มนี้มีความสามารถในการทำลายแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดี ความเข้มข้นที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้อยู่ระว่าง 1 ส่วนต่อหลายพันส่วน จนถึง 1 ส่วนต่อหลายแสนส่วน สารละลายที่เจือจางมาก ๆ ทำหน้าที่เป็นแบคทีรีโอสแตซิสได้ด้วย เช่น สารชนิดหนึ่งที่ความเข้มข้น 1 : 30,000 สามารถทำลายแบคทีเรียได้ แต่ที่ความเข้มข้น 1 : 200,000 เพียงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สารซักฟอกชนิดนี้ยังมีฤทธิ์ทำลายเชื้อราและโพรโทซัวที่ทำให้เกิดโรคด้วย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เนื่องจากสารนี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ มีพิษน้อย ละลายน้ำได้ดี มีความคงตัวในสิ่งแวดล้อม ไม่กัดกร่อนโลหะ จึงนิยมใช้เป็นสารทำลายเชื้อสำหรับผิวหนัง และใช้ในการเตรียมเครื่องสำอาง ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ตามพื้น ผนังตามโรงพยาบาล สถานที่พักฟื้นและสถานที่สาธารณะ รวมทั้งใช้ล้างภาชนะต่างๆ

กลไกการทำลายจุลินทรีย์ คือ ทำให้โปรตีนเสียสภาพจากปกติ เกิดการขัดขวางกระบวนการไกลโคลิซิส และทำลายเยื่อหุ้มเซลล์

Amphoteric compounds

Amphoteric compounds เป็น disinfectants อีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้กันในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับ disinfectants ชนิดอื่นๆ เนื่องจากมีราคาแพงกว่า ประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียดีสู้ disinfectants ชนิดอื่นๆ ไม่ได้ แต่อาจทำให้ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นได้โดยการนำมาผสมกับ QACs นอกจากนี้ยังพบว่า Amphoteric compounds จะค่อนข้างคงตัวในน้ำกระด้างและในน้ำที่มีสารประกอบอินทรีย์ ไม่ทำให้เกิดการกัดกร่อน ไม่เป็นพิษและไม่มีกลิ่น สำหรับ Amphoteric compounds ที่มีการใช้กันเช่น γ - oxypropionic imidazole เป็นต้น

ส่วน disinfectants อีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้มาก คือ phenol เป็น disinfectants ซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ดีมาก แต่เนื่องจากมีกลิ่นค่อนข้างแรง จึงไม่นิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากอาจเป็นสาเหตุให้อาหารเกิดกลิ่นไม่ดีได้ สำหรับวิธีการเลือกใช้ disinfectants นั้น จะต้องพิจารณาดูวัตถุประสงค์ในการทำความสะอาดเสียก่อน ว่าจะทำความสะอาดเครื่องมืออะไร และเพื่อใช้ในงานชนิดใดเพื่อจะได้เลือกใช้ชนิดและวิธีการทำความสะอาดที่เหมาะสมได้

Iodophors

Iodophors เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยไอโอดีน และ surfactant ซึ่งทำหน้าที่เป็นพาหะของไอโอดีน และส่วนที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย คือ ไอโอดีน Iodophors เป็น disinfectants ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียได้มากคล้าย hypochlorites และประสิทธิภาพไม่ลดลงถึงแม้ว่าจะมีสารประกอบอินทรีย์อยู่ด้วย แต่ทั้งนี้จะต้องไม่มากเกินไปและความเป็นกรด – ด่าง จะต้องต่ำกว่า 4 ด้วย แต่ประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์จะสู้ hypochlorites ไม่ได้

ถึงแม้ Iodophors จะมีราคาแพงกว่า แต่มีข้อดีกว่า คือ ไม่ทำให้เกิดการกัดกร่อน ไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคือง ไม่เป็นพิษและมีกลิ่นเล็กน้อย สำหรับอุปกรณ์ที่ทำด้วยพลาสติกและยาง จะต้องใช้อย่างระมัดระวัง เพราะทั้งพลาสติกและยางจะดูดซึมสารนี้ไว้ได้ ถ้าหากมีการแช่ไว้นานเกินไป อาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารได้ ส่วนข้อดีอีกประการหนึ่งของการใช้ Iodophors คือ สามารถใช้กับน้ำกระด้างได้ นองจากนั้นยังพบว่าสามารถทำลายแบคทีเรียประเภทที่ไม่สร้างสปอร์ได้ และประสิทธิภาพจะดีที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำ และจะลดลงเมื่อความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น

สำหรับ Iodophors นั้น นิยมใช้ในอุตสาหกรรมนมและอุตสาหกรรมเบียร์ มักจะใช้ในความเข้มข้น 10-100 ส่วนในล้านส่วน และที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส

Chlorine-relesing compounds

ชนิดของ disinfectants กลุ่มนี้ ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ hypochlorites, chlorine gas, chloramines, chlorinated trisodium phosphate, derivatives ของ isocyanuric acid และ dichlorodimethyl hydantoin เป็นต้น disinfectants ในกลุ่มนี้ จัดเป็น disinfectants ที่มีประสิทธิภาพดีมาก สามารถทำลายแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ ทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้บ้าง และคงตัวได้ดีในน้ำกระด้าง มีราคาค่อนข้างถูก แต่มีข้อเสียคือ ประสิทธิภาพจะลดลง ถ้าหากมีสารประกอบอินทรีย์อยู่ด้วย และถ้าหากล้างออกไม่หมด จะทำให้เกิดการกัดกร่อนได้ Chlorine-relesing compound ที่นิยมใช้ได้แก่ hypochlorites

Hypochlorites

เป็นเกลือของกรด hypochlorous เมื่ออยู่ในสารละลายเกลือนี้จะแตกตัวให้ OCl^- ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดี สำหรับเกลือ hypochlorites ที่การใช้มากได้แก่ sodium hypochlorite มักมีขายในรูปที่เป็นของเหลว ซึ่งมี available chlorine อยู่ประมาณ 10-14% และ calcium hypochlorite ซึ่งจะอยู่ในรูปผงมี avaible chlorine อยู่ประมาณร้อยละ 30 hypochlorite สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ 90 % ในเวลาน้อยกว่า 10 วินาที ในส่วนของสปอร์แบคทีเรียจะทนต่อสารชนิดนี้มากกว่าเซลล์ เวลาที่จะลดจำนวน 90 % จึงนานกว่า ซึ่งอยู่ในช่วง 7 วินาที ถึง 20 นาที ประสิทธิภาพของสารชนิดนี้จะดีที่สุดที่ความเป็นกรด-ด่าง 4-5 และมีการกัดกร่อนมากที่สุดที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 ฉะนั้นเวลาใช้จึงมักเตรียมสารนี้ให้มีความเป็นกรด-ด่าง 10-11 และให้มีการควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำ เพราะว่าถ้าหากอุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการกัดกร่อนขึ้นได้ โดยทั่วไปจะใช้ในความเข้มข้นประมาณ 50-200 ส่วนในล้านส่วน available chlorine และให้เวลาสัมผัส3-30 นาที ถ้าหากสามารถทั้งปริมาณความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ลงได้ จะเป็นการช่วยป้องกันการกัดกร่อนที่อาจเกิดขึ้น

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า การทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือและอาคารโรงงานนั้น นอกจากจะต้องอาศัยน้ำ เครื่องมือต่าง ๆ แล้ว บางครั้งยังอาจต้องอาศัยสารเคมีต่าง ๆ ช่วยด้วย และการล้างหรือทำความสะอาดอุปกรณ์แต่ละชนิด จะใช้น้ำ เครื่องมือและสารเคมีที่แตกต่างกันออกไป และยังขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่จะผลิตด้วย ฉะนั้นการจะทำความสะอาดแต่ละครั้ง จึงควรมีการศึกษารายละเอียดต่าง ๆให้รอบคอบเสียก่อน เพื่อให้โรงงานมีสุขาภิบาลที่ถูกต้องจริง ๆ

ความหมายของศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการเติมคลอรีนในน้ำ

Chlorine dosage คือ ปริมาณของคลอรีนที่เติมลงไปในน้ำจะมีหน่วยเป็นส่วนในล้านส่วนและจะไม่ขึ้นกับ chlorine demand ของน้ำ ซึ่งจะมีหน่วยเป็นจำนวนปอนด์ / 24 ชั่วโมง

Chlorine demand เมื่อเติมคลอรีนลงไปในน้ำที่ไม่ใช่น้ำกลั่น คลอรีนที่เติมลงไปประมาณ 0.25 – 0.75 ส่วนในล้านส่วน จะทำปฏิกิริยากับสารไม่บริสุทธิ์ต่างๆ ที่อยู่ในน้ำ ซึ่งปริมาณคลอรีนที่ไปทำปฏิกิริยานี้ จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารต่างๆ ที่อยู่ในน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาที่สัมผัส อุณหภูมิ และปริมาณคลอรีนที่เติมลงไป ผลต่างระหว่างปริมาณคลอรีนที่เติมลงไป (chlorine dosage) และอนุมูลคลอรีนที่เหลืออยู่ (residual chlorine) เรียกว่า " chlorine demand " ของน้ำ สารต่างๆ ที่อยู่ในน้ำ จะทำปฏิกิริยากับคลอรีนนี้ได้แก่ เหล็ก แมงกานีส ไนไตรท์ และซัลไฟด์ เป็นต้น คลอรีนซึ่งไปทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ ที่กล่าวนี้ จะไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ อีก และจะไม่สามารถนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของปริมาณคลอรีนโดยวิธีtitrate

ได้ เมื่อต้องการทราบค่า chlorine demand เราจำเป็นจะต้องทราบความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิของน้ำ เวลาครั้งแรกที่จะมีอนุมูลเกิดขึ้น ปรกติแล้วมักจะมีการหา chlorine demand หลังจากมีการเติมคลอรีนแล้ว 10, 15 หรือ 20 นาที

Total residual chlorine เมื่อเติมคลอรีนปริมาณที่ต้องการลงไปในน้ำ ปริมาณอนุมูลของคลอรีนที่เหลือหลังจากไปทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ในน้ำเรียกว่า" Total residual chlorine " เป็นความเข้มข้นของคลอรีน ซึ่งจะสามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธี starch iodine titration

Free residual chlorine อนุมูลของคลอรีนในน้ำจะอยู่ในรูปของ free chlorine หรือ chlorine ซึ่งอาจจะจับกันอย่างหลวมๆ กับสารประกอบไนโตรเจน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบ chloro – nitrogen เวลานำมาทำ orthotolidine flash test นั้นจะมีแต่ free residual chlorine เท่านั้นที่จะให้สี

Combined residual chlorine คลอรีนซึ่งรวมกับพวกสารประกอบไนโตรเจน(nitrogenous compounds) ในน้ำ แล้วทำให้เกิด chloramine หรือสารประกอบ chloronitrogenous อื่นๆ เรียกว่า " Combined residual chlorine "

Break – point chlorination เมื่อเติมคลอรีนปริมาณเล็กน้อยลงในน้ำภายใต้สภาวะที่มีการควบคุม คลอรีนส่วนหนึ่งจะถูกใช้ไปเกี่ยวกับ chlorine demand ของน้ำและในขณะเดียวกันคลอรีนจะจับกันอย่างหลวมๆ กับสารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำ ทำให้เกิด chloramines หรือ สารประกอบ chloro – nitrogen อื่นๆ และถ้าเติมคลอรีนเพิ่มลงไปในน้ำอีก จะมี free residual เกิดขึ้น residual นี้จะค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนกระทั่งถึงความเข้มข้นหนึ่งซึ่งที่จุดนี้จะมีปฏิกิริยา oxidation เกิดขึ้นระหว่าง free chlorine และสารประกอบ chloronitrogen อนุมูล free chlorine จะค่อยๆ ลดลง เนื่องจากส่วนหนึ่งจะไป oxidize สารประกอบ chloro – nitrogen การเพิ่มปริมาณคลอรีนลงในน้ำจนเลยจุดนี้ จะทำให้มีการเพิ่มความเข้มข้นของอนุมูลคลอรีนอิสระ ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเกือบจะเป็นอัตราส่วนโดยตรงต่อปริมาณคลอรีนที่เติมลงไป อนุมูลคลอรีนอิสระที่มีอยู่คือ ค่าของ in – plant chlororination จุดที่อนุมูลคลอรีนอิสระเพิ่มขึ้นหลังจากการเพิ่มครั้งแรก แล้วมีอนุมูลคลอรีนอิสระเหลืออยู่ต่ำสุดเรียก" Break point " น้ำที่มีการเติมคลอรีนและไม่มีการถึงจุด Break point แสดงว่าอาจมีสารประกอบ chloro – nitrogen อยู่ในน้ำได้ การมีคลอรีนอยู่ในรูปสารประกอบที่กล่าวแล้วจำนวนมาก จะทำให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่ดี หรือกลิ่นคลอรีนในน้ำ (Chlorinated water flavor) ซึ่งมักจะสังเกตพบตามน้ำประปาทั่วไป แต่ถ้าหากมีเพิ่มปริมาณคลอรีนในน้ำจนเลยจุด break point ไป กลิ่นและรสไม่ดีเหล่านี้จะถูกกำจัดไปด้วย ไม่จำเป็นว่าการเติมคลอรีนในน้ำทุกครั้ง จะต้องมี break point เกิดขึ้น และสำหรับน้ำที่มีจุด break point เกิดขึ้นนั้น break point curve ที่เกิดขึ้นอาจจะแตกต่างจาก typical break point curve น้ำบนดินหรือน้ำที่ค่อนข้างสะอาด ซึ่งปราศจากสารอินทรีย์และสารเคมีต่างๆ จะไม่มีจุด break point เกิดขึ้นในเวลาที่เติมคลอรีนลงไป หรือมีเพียงเล็กน้อยซึ่งสังเกตไม่พบ break point ของน้ำแต่ละชนิดจะหาได้ โดยการทำการทดสอบน้ำชนิดนั้น break point chlorination curves ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจาก chlorine demand

การปรับปรุงในด้านการทำความสะอาดของโรงงานเยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด

สิ่งสกปรกซึ่งตกค้างในเครื่องมือการผลิตผลิตภัณฑ์ของโรงงานฯ ก็คือแป้ง ซึ่งแป้งมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ จึงง่ายต่อการทำความสะอาด โดยอาจจะไม่จำเป็นต้องใช้ Detergent มาช่วยในการล้าง แต่อย่างไรก็ตามน้ำเพียงอย่างเดียวไม่อาจทำให้อุปกรณ์ปราศจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าหากเป็นน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยแล้ว อาจจะยิ่งส่งเสริมให้เครื่องมือปนเปื้อนยิ่งขึ้น ดังนั้นทางโรงงานควรมีการใช้สารเคมีซึ่งเป็น disinfectant เพื่อใช้ปรับปรุงคุณภาพน้ำและช่วยในการกำจัดจุลินทรีย์ ซึ่งสารประกอบคลอรีน เป็น disinfectant ตัวหนึ่งที่มีคุณสมบัติดีดังได้กล่าวข้างต้น และเป็นสารเคมีที่มีการใช้งานในส่วนอื่นอยู่แล้วในบริษัทฯ ซึ่งไม่ลำบากในการจัดซื้อจัดหา จึงเลือกสารดังกล่าวมาใช้ในปรับปรุงคุณภาพน้ำ เพื่อนำไปสู่การลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

การใช้คลอรีนในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ ตลอดจนทำความสะอาดเครื่องมือจำเป็นต้องคำนึงถึง ความต้องการคลอรีน (chlorine demand) และปริมาณคลอรีนอิสระที่เหลืออยู่ residual chlorine) เพื่อจะได้ใช้คลอรีนในความเข้มข้นที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

การหา Chlorine demand

<u>สารเคมี</u>

(1) สารละลายมาตรฐานคลอรีน (1,000 มก. ต่อลิตร): เจือจางสารละลาย hypochlorite ซึ่งมีคลอรีนเทียบเท่ากับ 30,000-50,000 มก. ต่อลิตร ให้ได้สารละลายที่มีคลอรีน 1,000 มก. ต่อลิตร

(2) conc. Acetic acid (glacial)

(3) Potassium iodide (KI) crystals

(4) สารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ (0.025 N)

(5) สารละลายน้ำแป้ง (0.5%)

<u>การเตรียมสารเคมี</u> (ภาคผนวก จ)

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. นำน้ำตัวอย่าง จำนวน 10 ชุด ชุดละ 200 มล. ทำ 2 ซ้ำ แล้วเติมคลอรีนในชุดต่าง ๆ เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3….,1.0 ppm ดังนี้

-ชุดที่ 1 เติมคลอรีน 20 µl

-ชุดที่ 2 เติมคลอรีน 40 µl

-ชุดที่ 3 เติมคลอรีน 60 µl

-ชุดที่ 4 เติมคลอรีน 80 µl

-ชุดที่ 5 เติมคลอรีน 100 µl

-ชุดที่ 6 เติมคลอรีน 120 µl

-ชุดที่ 7 เติมคลอรีน 140 µl

-ชุดที่ 8 เติมคลอรีน 160 µl

-ชุดที่ 9 เติมคลอรีน 180 µl

-ชุดที่ 10 เติมคลอรีน 200 µl

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. ตั้งทิ้งไว้ให้ได้เวลาสัมผัส 15 นาที (Contact time)
3. ตรวจ Total available residual chlorine
4. เขียนกราฟแสดงปริมาณคลอรีนที่เติมกับคลอรีนที่เหลืออยู่

การหา Total available residual chlorine

<u>สารเคมี</u>

(1) conc. Acetic acid (glacial)

(2) Potassium iodide (KI) crystals

(3) สารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ (0.01 N)

<u>การเตรียมสารเคมี</u> ภาคผนวก จ

<u>วิธีทดลอง</u>

1. นำน้ำตัวอย่างทั้ง 10 ชุด จากข้างต้น เติม Acetic acid เข้มข้น 5 ml และเติม KI 1 g
2. ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate 0.01 N
3. เมื่อสีเหลืองของไอโอดีนเริ่มจางหาย จึงเติมน้ำแป้ง 1ml
4. ไทเทรตต่อจนสีม่วงจางหาย
5. บันทึกปริมาตร Sodium thiosulfate ที่ใช้
6. คำนวณหาปริมาณคลอรีนที่เหลืออยู่

<u>สูตรการคำนวณ</u>

$$Cl\ (\text{มก. ต่อลิตร}) = \frac{(A - B) \times N \times 35500}{\text{จำนวน มล. ของตัวอย่าง}}$$

เมื่อ A = ปริมาณ มล. ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B = ปริมาณ มล. ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างกับ blank

N = normality ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$

<u>การคำนวณหา Chlorine demand</u>

ความต้องการคลอรีน = ปริมาณคลอรีนที่เติม – อนุมูลคลอรีนที่เหลืออยู่

(chlorine demand) (chlorine dosage) (residaual chlorine)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

งานที่ปฏิบัติ

จากการพิจารณาชนิดของสารเคมี ที่ใช้ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ พบว่าคลอรีนมีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากคลอรีนมีคุณสมบัติที่ดี และเป็นสารเคมีที่มีการใช้งานในส่วนอื่นอยู่แล้วในโรงงาน ดังนั้นจึงนำคลอรีนมาปรับปรุงคุณภาพในโรงงาน ซึ่งในการปรับปรุงคุณภาพน้ำนั้น ได้ทำการทดสอบดังต่อไปนี้

1. หา Chlorine demand ของน้ำ 5 ชนิด
2. หา Total available residual chlorine ของน้ำ 5 ชนิด (ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับข้อที่ 1)
3. ยืนยันผล โดยนำน้ำที่เติมคลอรีนในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ที่ได้จากการทดลองข้อ 1 และ 2 ไปตรวจปริมาณจุลินทรีย์
4. ทดลองใช้คลอรีนในความระดับเข้มข้นที่เหมาะสม กับสายการผลิตจริง
5. ตรวจปริมาณจุลินทรีย์ในสายการผลิตเมื่อใช้คลอรีน เทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ในสายการผลิตก่อนใช้คลอรีน

<u>หมายเหตุ</u>

ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองไม่สามารถนำเสนอได้ เนื่องจากเป็นความลับของทางโรงงาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สรุปผลการปฏิบัติงาน

การปฏิงาน ณ บริษัทยนเนอรัล ฟู้ด โปรดักส์ จำกัด ในแผนกควบคุมคุณภาพ ในด้านการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และการทำความสะอาดสายการผลิตนั้น ส่งผลให้ประโยชน์หลาย ๆ ด้านดังนี้

1. ด้านสังคม

- ได้รู้จักการวางตัวกับบุคคลในระดับต่าง ๆ มากขึ้น
- ได้รับประสบการณ์ในการทำงานจริง และชีวิตประจำวันในการทำงาน

2. ด้านทฤษฎี

- ได้ศึกษาหาความรู้เพิ่มเติมในด้านจุลินทรีย์และการใช้คลอรีนมาช่วยในการลดเชื้อจุลินทรีย์ ในสายการผลิต
- ได้ทราบถึงวิธีการทดลองและการเตรียมสารเคมี ละเอียดยิ่งขึ้น

3. ด้านปฏิบัติ

- ได้ฝึกและทำการใช้เครื่องมือ เพื่อตรวจสอบคุณภาพแป้ง ทำให้เกิดความชำนาญมากขึ้น
- ได้เรียนรู้เกี่ยวกับกระบวนการผลิตแป้ง และทราบหลักการทำงานของเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต
- ได้ทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ในแป้ง น้ำ และเครื่องมือทั้งหมดในสายการผลิต
- ได้ทำการทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของคลอรีน เพื่อให้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ
- ได้ตรวจสอบคุณภาพแป้งร่วมกับ ลูกค้าชาวญี่ปุ่น
- มีประสบการณ์ในการทำ ISO 9002
- ได้เสนอความคิด การแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับการลดจุลินทรีย์ในสายการผลิต โดยการเสนอการทำความสะอาดที่เหมาะสม และออกแบบเครื่องมือที่ช่วยลดการสะสมจุลินทรีย์

ซึ่งการปฏิบัติงานครั้งนี้มีประโยชน์เป็นอย่างมาก ในการพัฒนาความรู้และทักษะของข้าพเจ้า และทำให้เห็นการปฏิบัติงานจริง ที่นอกเหนือจากทฤษฎี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ . 2541. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ปิยะวรรณ กาสลัก. 2539. **เอกสารประกอบการสอนวิชาปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหาร**. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2538. **คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งข้าวจ้าว. **มอก**. 638 – 2529.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งข้าวเนียว. **มอก**. 639 – 2529.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2536. **การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุเวทย์ นิงสานนท์. **เอกสารประกอบการสอน** Food Process I : เรื่องคุณภาพน้ำใช้ในอุตสาหกรรม. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Carl, V and Don, F. S. 1992. Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Food. Third Edition. American Public Health Association. Washington, DC.

Gould, W. A. 1994. CGMP'S / Food Plant Sanitation. CIT Publications Inc., Maryland. USA.

Marriott, N. G. 1994. Principles of Food Sanitation. Third Edition. Chapman & Hall Inc., New York. USA

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (Plate Count Agar)

Tryptone	5.0 กรัม
Yeast extract	2.5 กรัม
Dextrose	1.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ให้ความร้อนจนเดือด เพื่อละลายส่วนผสม แบ่งใส่หลอดหรือขวดรูปชมพู่ นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที pH วัดครั้งสุดท้าย 7.0 ± 0.2 ก่อนใช้ให้เติมสารปฏิชีวนะ Chlortetracycline – HCl บวก Chloramphenicol 2 ml ต่ออาหาร 100 ml

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar)

Potato dextrose infusion from	4.0 กรัม
Dextrose	20.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นให้ความร้อนโดยกวนเป็นครั้งคราวจนเดือดเพื่อให้วุ้นละลาย ถ่ายใส่ขวดขนาด 250 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 ° C เป็นเวลา 15 นาที อุ่นในอ่างน้ำอุ่นให้ได้อุณหภูมิ 45 - 50 ° C ปรับให้เป็นกรดด้วย Tartaric 10% ซึ่งนึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ pH 3.5 (ใช้กรดประมาณ 1.8 มล. ต่ออาหาร 100 มล.)

3. VRBA (Violet Red Bile Agar)

Yeast extract	3.0 กรัม
Peptone หรือ Gelysate	7.0 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Bile salts or Bile salt No. 3	1.5 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Neutral red	0.03 กรัม
Crystal violet	0.002 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 3-4 นาที ผสมให้เข้ากันแล้วปรับ pH ให้ได้ 7.4 ± 2 ให้ความร้อนจนเดือดนาน 2 นาที พร้อมคนตลอดเวลา ห้ามนึ่งฆ่าเชื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. BGB (Brilliant Green Lactose Bile Broth, 2%)

Peptone	10 กรัม
Lactose	10 กรัม
Oxgall	20 กรัม
Brilliant green	0.0133 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นโดยใช้ความร้อนไม่รุนแรง ใส่หลอดขนาด 20 x 150 มม. หลอดละประมาณ 10 มล. บรรจุหลอดขนาด 10 x 75 มม. ให้คว่ำอยู่ข้างในหลอด นึ่งฆ่าเชื้อ 15 นาที ที่ 121 °C มี pH สุดท้าย 7.2 ± 0.2 ก่อนเปิดหม้อนึ่งจ้องรอให้อุณหภูมิต่ำกว่า 75 °C

การเตรียมสารเคมี

1. 0.1% peptone water diluent

peptone	1.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลาย peptone ในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.1 ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดที่จะทำการเจือจาง โดยเผื่อปริมาตรที่จะหายระหว่างการฆ่าเชื้อ ฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 ° C เป็นเวลา 15 นาที

2. 10% Tartaric acid

ละลาย Tartaric acid 10 กรัม ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 มล.

น้ำกลั่นปลอดเชื้อ

นำน้ำกลั่นใส่ภาชนะที่สะอาด แล้วนำไป ฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 ° C เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ข

วิธีการอ่านผลจาก Petrifilm

ภาคผนวก ค

การคำนวณจุลินทรีย์เป็น CFU/ml **หรือ** g

1. <u>เมื่อนับโคโลนีได้ 25-250 โคโลนี</u>

จะใช้การคำนวณโดยเทียบบัญญัติไตรยางศ์ ดังนี้

กรณีทำ Spread plate : ใช้ตัวอย่างอาหารเจือจาง 0.1 ml

เช่น ที่ระดับความเจือจาง 10^{-3}

นับจำนวนโคโคนีได้ 249 โคโลนี

ตัวอย่างการคำนวณ

อาหารเจือจาง 0.1 ml x 10^{-3} มีจำนวนโคโลนี 249 โคโลนี

อาหารเจือจาง 1 ml มีจำนวนโคโลนี $\frac{249 \times 1 \text{ ml}}{0.1 \text{ ml} \times 10^{-3}}$ โคโลนี

$= 2.49 \times 10^{6}$ CFU/ml

กรณีทำ Pour plate : ใช้ตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 ml

เช่น ที่ระดับความเจือจาง 10^{-4}

นับจำนวนโคโคนีได้ 69 โคโลนี

ตัวอย่างการคำนวณ

อาหารเจือจาง 1 ml x 10^{-4} มีจำนวนโคโลนี 69 โคโลนี

อาหารเจือจาง 1 ml มีจำนวนโคโลนี $\frac{69 \times 1 \text{ ml}}{1 \text{ ml} \times 10^{-4}}$ โคโลนี

$= 6.9 \times 10^{5}$ CFU/ml

<u>หมายเหตุ</u>

ในกรณีที่ทำ 2 ซ้ำ ให้นำค่าที่ได้จากการคำนวณมาเฉลี่ย

2. <u>เมื่อนับโคโลนีได้น้อยกว่า 25 โคโลนี</u>

รายงานดังนี้ 25 x 1/d

เมื่อ d = ระดับความเจือจางแรกที่นับโคโลนีได้น้อยกว่า 25 โคโลนี

ตัวอย่างเช่น 1:100 นับได้ 18, 0 และ 1:1000 นับได้ 2,0 รายงานเป็น <2500 CFU/ml

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ง

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งข้าวเหนียว

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1.	ความชื้น ร้อยละ ไม่เกิน	13.0
2.	แป้ง ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่น้อยกว่า	85.0
3.	ความเป็นกรด – ด่าง	4.5 ถึง 7.0
4.	เถ้า ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่เกิน	0.50
5.	เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่เกิน	0.030
6.	อะมิโลส ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่น้อยกว่า	9.0
7.	ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน	30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
8.	จุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน	1 X 106 โคโลนีต่อกรัม
9.	รา ไม่เกิน	100 โคโลนีต่อกรัม

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแป้งจ้าว

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1.	ความชื้น ร้อยละ ไม่เกิน	13.0
2.	แป้ง ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่น้อยกว่า	85.0
3.	ความเป็นกรด – ด่าง	5.0 ถึง 7.0
4.	เถ้า ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่เกิน	0.50
5.	เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่เกิน	0.030
6.	อะมิโลส ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่น้อยกว่า	15.0
7.	ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน	30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
8.	จุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน	1 X 106 โคโลนีต่อกรัม
9.	รา ไม่เกิน	100 โคโลนีต่อกรัม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก จ

การเตรียมสารเคมีเพื่อใช้ในการทดลองคลอรีน

1. สารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate (0.1 N)

ละลาย $Na_2S_2O_3 . 5H_2O$ 25 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มล. จะได้สารละลาย 0.100 N เก็บไว้ในขวดสีชา 2 สัปดาห์ ก่อนตรวจวัดค่าที่แน่นอนด้วย Potassium dichromate

2. การตรวจค่าสารละลาย Sodium thiosulfate

ละลาย Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)ที่ผ่านการอบเป็นเวลา 2 ชั่วโมง 4.904 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มล. จะได้สารละลาย 0.1000 N เก็บไว้ในขวดแก้วปิดฝา

เติม 1 ml conc. H_2SO_4 ลงไปในฟลาสที่มีน้ำกลั่น 80 มล. เขย่าตลอดเวลา แล้วเติม 0.1000 N $K_2Cr_2O_7$ 10.00 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืด 6 นาที ก่อนไตเตรท 0.1 N $Na_2S_2O_3$ จนสีเหลืองของไอโอดีนเกือบจางหมด จึงเติมน้ำแป้ง 1 มล. แล้วไตเตรทต่อจนหมดสีน้ำเงิน นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{Normality} = \frac{\text{g } K_2Cr_2O_7 \times 1000}{\text{ml. } Na_2S_2O_3 \times 49.032}$$

3. สารละลายมาตรฐานของ Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไตเตรท (0.01N)

เจือจางสารละลายมาตรฐาน 0.1 N Sodium thiosulfate ในข้อ (1) ด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดและทิ้งให้เย็นแล้ว และเติม $CHCl_3$ มล. ต่อสารละลาย 1 ลิตร หรือSodium borate 0.4 กรัม กับ Mercuric iodide 10 มก. ต่อสารละลาย 1 ลิตร ตรวจความเข้มข้นทุกวันด้วย 0.01 N $K_2Cr_2O_7$

4. สารละลายน้ำแป้ง (0.5%)

ละลายแป้ง 5 กรัม ในน้ำเย็นปริมาณเล็กน้อย ให้เป็นน้ำแป้ง แล้วเทใส่ลงในน้ำเดือด 1 ลิตร คนให้แป้งละลายหมด ทิ้งไว้ค้างคืน ใช้แต่ส่วนที่ใส อาจเติม Salicylic acid 1.25 กรัม หรือzinc chloride 4 กรัม หรือ Sodium propionate 4 กรัม รวมกับ Sodium azide 2 กรัม ต่อน้ำแป้ง 1 ลิตร เพื่อกันเสีย

การเทียบค่า

เติม acetic acid 2 มล. ลงในน้ำตัวอย่าง 10 - 25 มล. แล้วเติม KI 1 กรัม แล้วใส่สารละลายคลอรีนที่เหมาะสม (1 มล. 0.025 N Thiosulfate titrant จะมีค่าสมมูลย์กับคลอรีน 0.9 มก

ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานของ 0.025 N Sodium thiosulfate จนกระทั่งสีเหลืองของไอโอดีนเกือบหายหมด จึงเติมน้ำแป้ง 1 - 2มล. แล้วไตเตรทต่อจนหมดสีน้ำเงิน

ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น เติมกรด KI และน้ำแป้งในปริมาณที่เท่ากับที่ใช้กับตัวอย่างน้ำคลอรีน

$$\text{Cl (มก. ต่อลิตร)} = \frac{(A - B) \times N \times 35500}{\text{จำนวน มล. ของตัวอย่าง}}$$

เมื่อ A = ปริมาณ มล. ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B = ปริมาณ มล. ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างกับ blank

N = normality ของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$

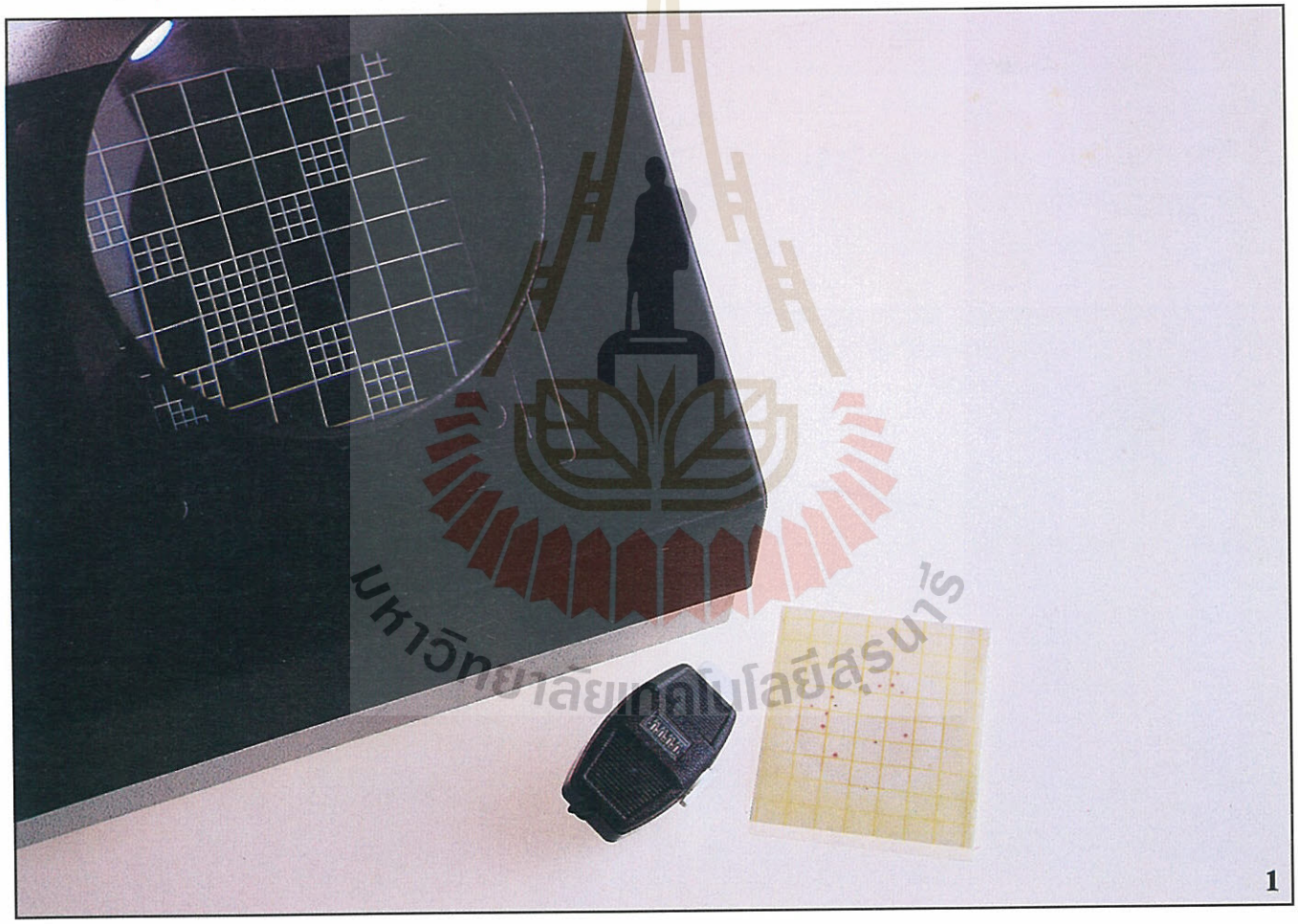
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คู่มือการแปลผล

3M Petrifilm™

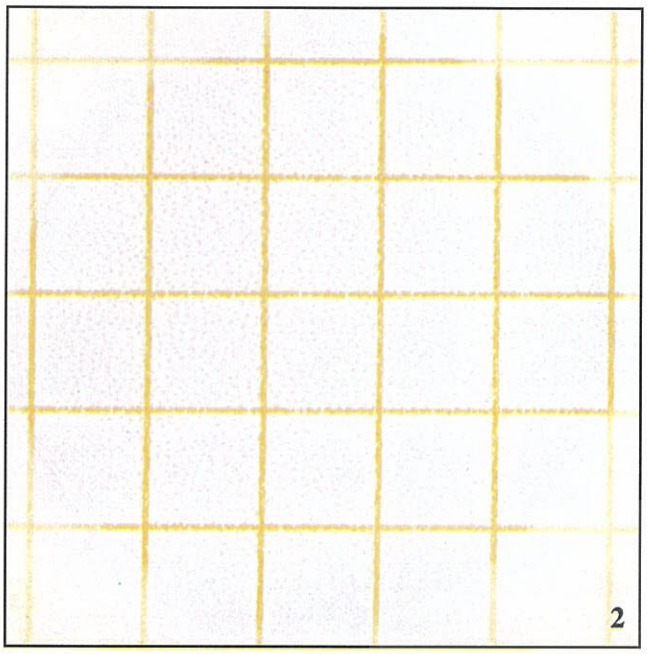
Aerobic Count Plate

คู่มือฉบับนี้ใช้เป็นแนวทางในการอ่านผลการเพาะเชื้อบนแผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป Petrifilm™ Aerobic Count Plate กรุณาติดต่อขอข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่ บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัดหรือที่ตัวแทนจำหน่ายที่ท่านติดต่อ



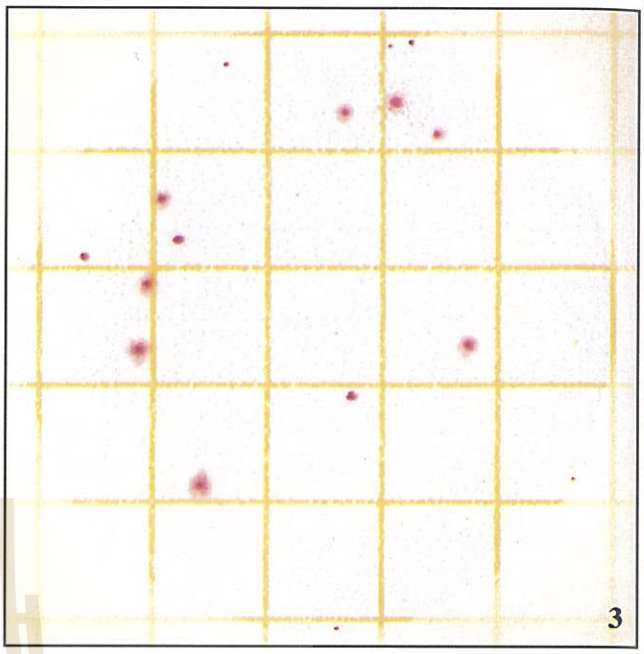
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Petrifilm™ Aerobic Count Plate



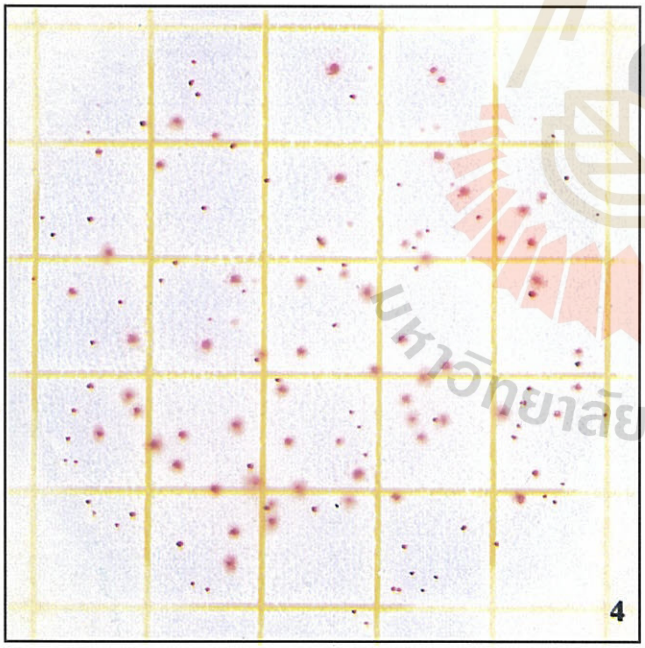
Count = 0

รูปที่ 2 แสดงถึงแผ่น Petrifilm™ Aerobic Count ที่ไม่มีโคโลนีของจุลินทรีย์



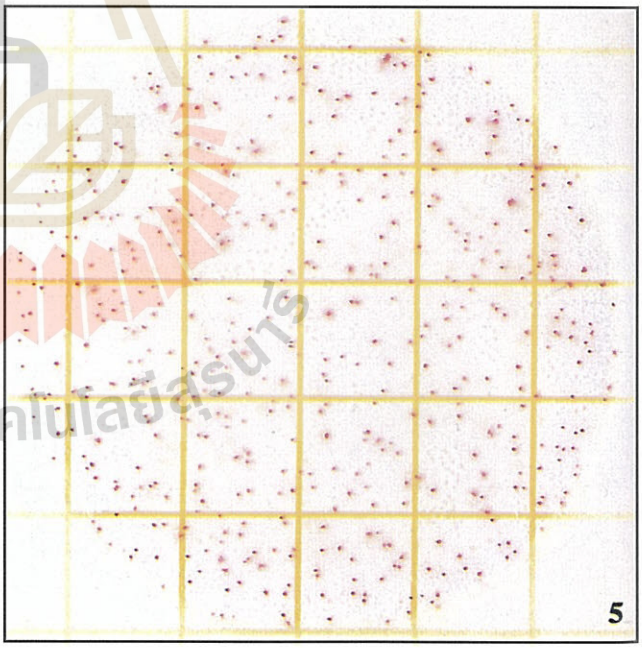
Count = 16

รูปที่ 3 แสดงถึงแผ่น Petrifilm™ Aerobic Count ที่ปรากฏโคโลนีของแบคทีเรียอยู่เล็กน้อย อินดิเคเตอร์ย้อมสีโคโลนีให้เป็นสีแดงนับจำนวนโคโลนีที่ติดสีแดงทั้งหมดไม่ว่าจะมีขนาดเล็กหรือใหญ่หรือมีสีเข้มหรืออ่อน ใช้เครื่องนับแบบ Quebec-type ช่วยในการนับ



Count = 143

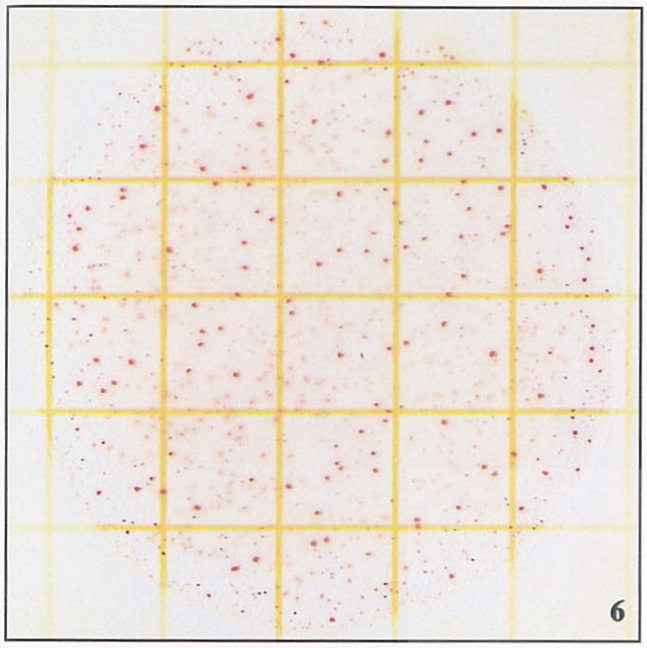
รูปที่ 4 แผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ Aerobic Count มีช่วงของการนับระหว่าง 25 ถึง 250 โคโลนี เช่นเดียวกับวิธีมาตรฐาน (pour plate)



Estimated count = 420

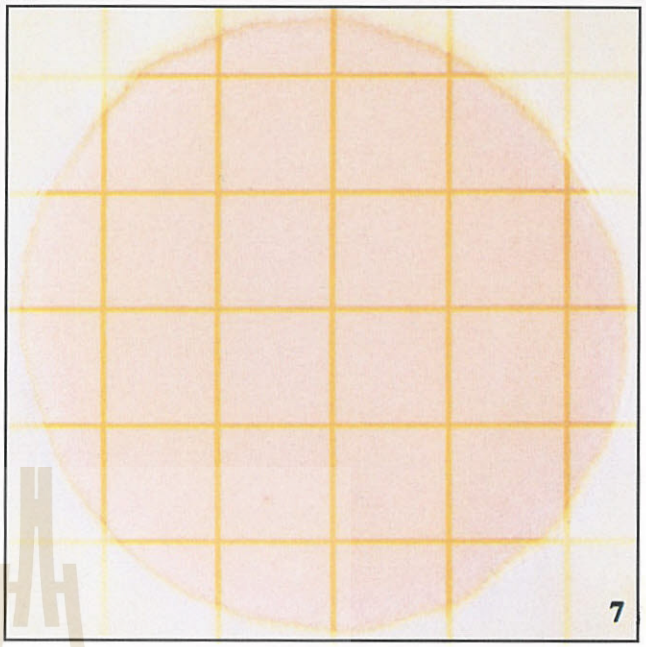
รูปที่ 5 ถ้าพบว่ามีจำนวนโคโลนีมากกว่า 250 โคโลนีให้ทำการนับโดยประมาณ เลือกนับจำนวนโคโลนีในหนึ่งช่องของ Petrifilm™ (1ตร.ซม.) เป็นตัวแทนแล้วคูณจำนวนที่นับได้ด้วย 20 ก็จะได้จำนวนโคโลนีทั้งหมดในแผ่นโดยประมาณ บริเวณวงกลมที่เชื้อเจริญเติบโตมีพื้นที่ประมาณ 20 ตร.ซม.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



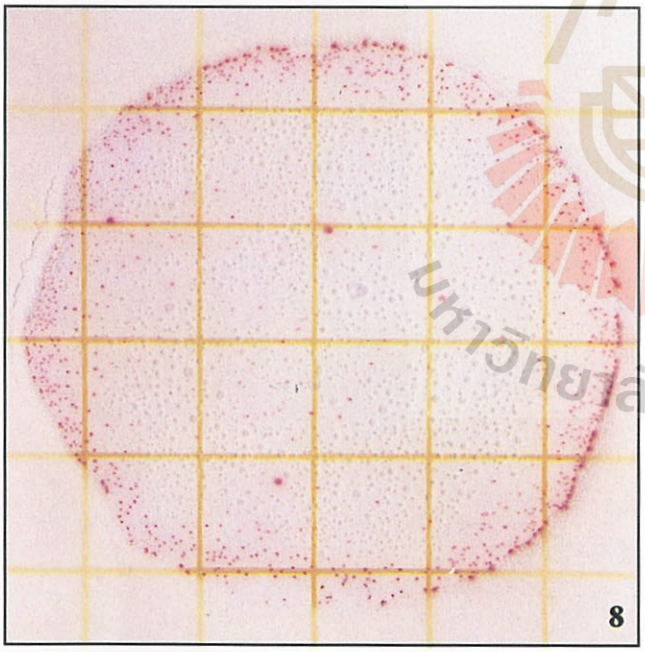
Count = TNTC

รูปที่ 6 แสดงถึงแผ่น Petrifilm™ Aerobic Count ซึ่งมีจำนวนโคโลนีมากเกินกว่าจะนับได้ (TNTC)



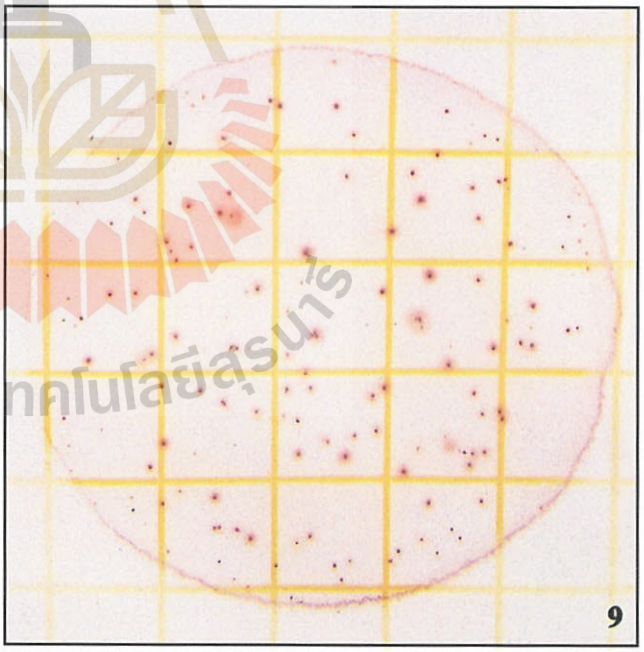
Count = TNTC

รูปที่ 7 ถ้ามีจำนวนโคโลนีอยู่หนาแน่นมาก บริเวณเจลที่มีการเจริญของเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู อาจสังเกตเห็นโคโลนีเป็นจุดๆ ได้ที่บริเวณขอบวงกลมเท่านั้น ในกรณีนี้ให้บันทึกผลเป็น TNTC



Count = TNTC

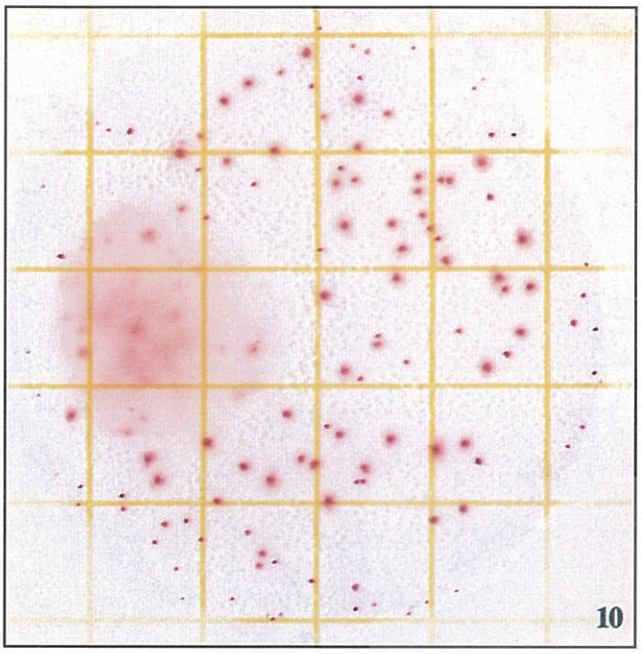
รูปที่ 8 ในบางครั้งโคโลนีดูจะกระจายตัวกันไม่สม่ำเสมอลักษณะเช่นนี้เป็นเครื่องบ่งชี้ได้อีกอย่างว่ามีจำนวนโคโลนีมากเกินกว่าจะนับได้ (TNTC) ในความเป็นจริงแล้ว การกระจายตัวของโคโลนียังคงสม่ำเสมออยู่



Count = TNTC

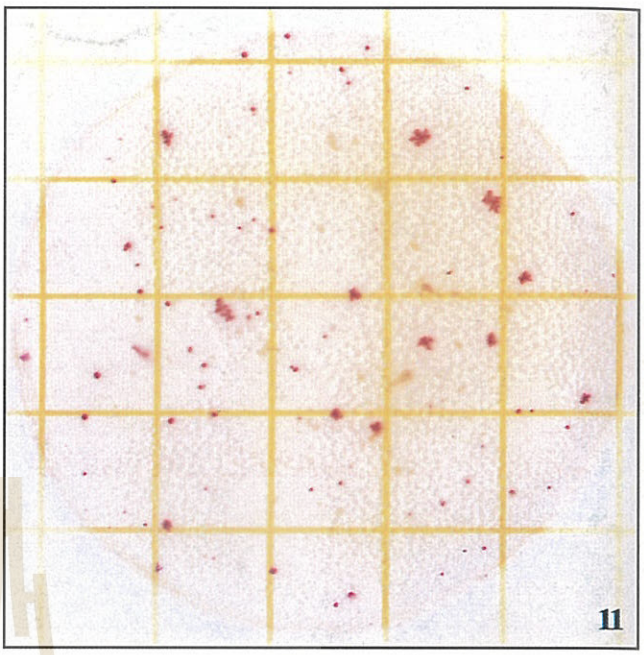
รูปที่ 9 ลักษณะที่เห็นนี้เมื่อมองดูผิวเผินจะดูเหมือนสามารถนับจำนวนโคโลนีได้ แต่เมื่อสังเกตที่บริเวณขอบวงกลมจะเห็นว่ามีโคโลนีเจริญอยู่หนาแน่นให้บันทึกผลเป็น TNTC

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



Estimated count = 160

รูปที่ 10 มีแบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถละลายเนื้อเจลของ Petrifilm™ Aerobic Count ได้ เมื่อเกิดปรากฏการณ์เช่นนี้ ให้นับจำนวนโคโลนี ในช่องที่ไม่เกิดการละลายสัก 2-3 ช่องแล้วประมาณจำนวนทั้งหมด ไม่ต้องนับจำนวนโคโลนีสีแดงที่อยู่บริเวณที่เกิดการละลายของเจล



Count = 83

รูปที่ 11 โคโลนีของแบคทีเรียใน Petrifilm™ Aerobic Count จะถูกย้อมเป็นสีแดงทำให้สามารถแยกแยะจากเศษของตัวอย่าง ซึ่งก่อให้เกิดความสับสนในการอ่านจากการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีดั้งเดิม (pour plate)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ฝ่ายตลาดการแพทย์และเวชภัณฑ์
บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด
ชั้น 9 อาคารเสริมมิตรทาวเวอร์
159 ถนนอโศก (สุขุมวิท 21) กรุงเทพฯ 10110
โทร. 260-8577 โทรสาร 261-7535

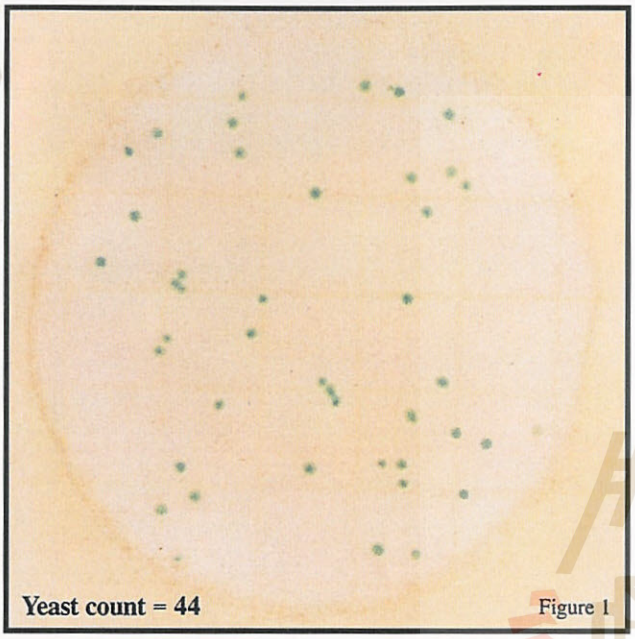
3M คิดค้นพัฒนาเพื่อท่าน

คู่มือการแปลผล

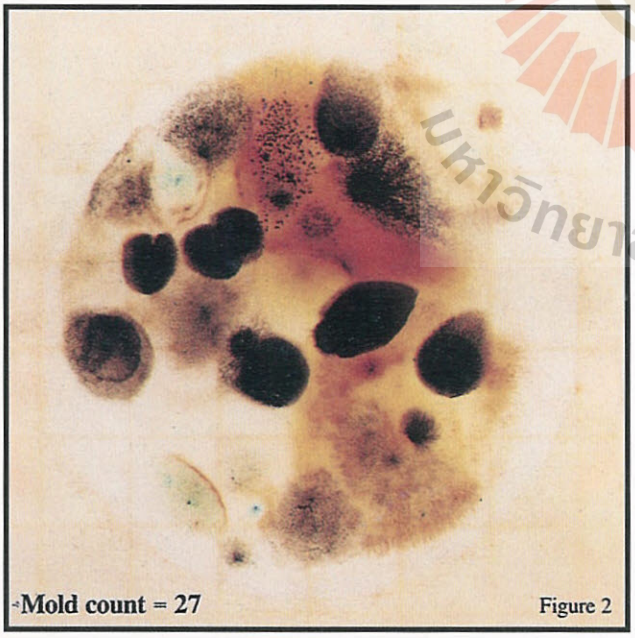
3M Petrifilm™

Yeast and Mold Count Plate

คู่มือฉบับนี้ใช้เป็นแนวทางในการอ่านผลการเพาะเชื้อบนแผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plate กรุณาติดต่อขอข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด หรือที่ตัวแทนจำหน่ายที่ท่านติดต่อ



Yeast count = 44 Figure 1



Mold count = 27 Figure 2

การนับจำนวนโคโลนีของยีสต์และราบน Petrifilm™ Yeast and Mold Count ทำได้ง่าย อินดิเคเตอร์จะย้อมสีโคโลนี ช่วยให้เห็นโคโลนีได้ชัดเจนและนับง่ายขึ้น

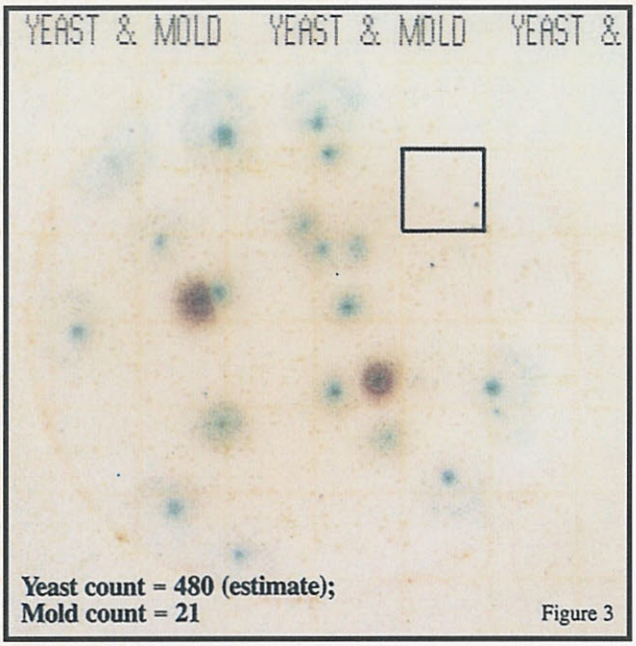
ในการแยกแยะโคโลนีระหว่างยีสต์และรา ให้ดูตามหลักเกณฑ์ลักษณะข้างล่างนี้

ยีสต์	รา
- โคโลนีมีขนาดเล็ก	- โคโลนีมีขนาดใหญ่
- โคโลนีมีขอบชัดเจน	- ขอบโคโลนีไม่ชัดเจน
- มีสีขมพูอมเทาถึงเขียวอมน้ำเงิน	- มีสีแตกต่างกันไป (เชื้อราอาจสร้างสีเฉพาะตัว)
- โคโลนีมีลักษณะนูน	- โคโลนีมีลักษณะแบนเรียบ
สัมผัสได้	- มักมีจุดโฟกัสกึ่งกลางโคโลนี
- โดยทั่วไปไม่มีจุดโฟกัส (จุดสีเข้ม) ตรงกลางโคโลนี	

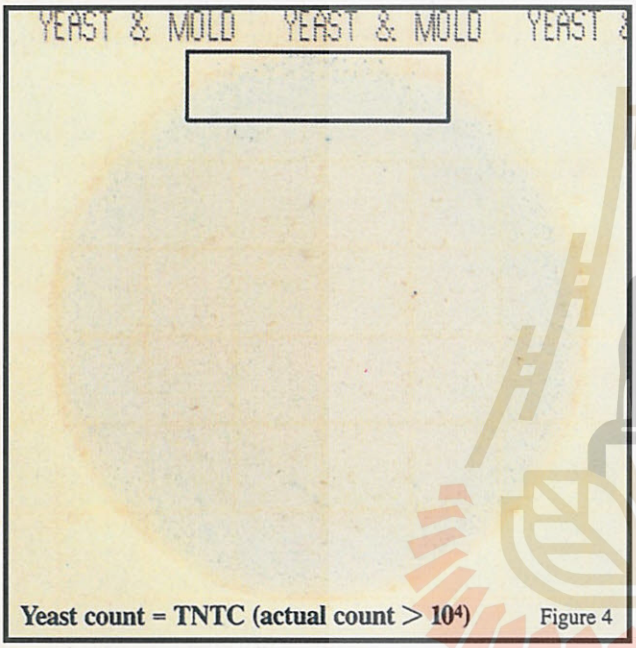
รูปที่ 1 แสดงตัวอย่างลักษณะโคโลนีของยีสต์ คือ มีขนาดเล็ก สีเขียวอมน้ำเงิน มีขอบชัดเจน และไม่มีจุดโฟกัสกลางโคโลนี

รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างลักษณะโคโลนีของรา คือ มีขนาดใหญ่ มีหลายสีแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของรา ขอบโคโลนีไม่ชัดเจน และมีจุดโฟกัสกึ่งกลางโคโลนี

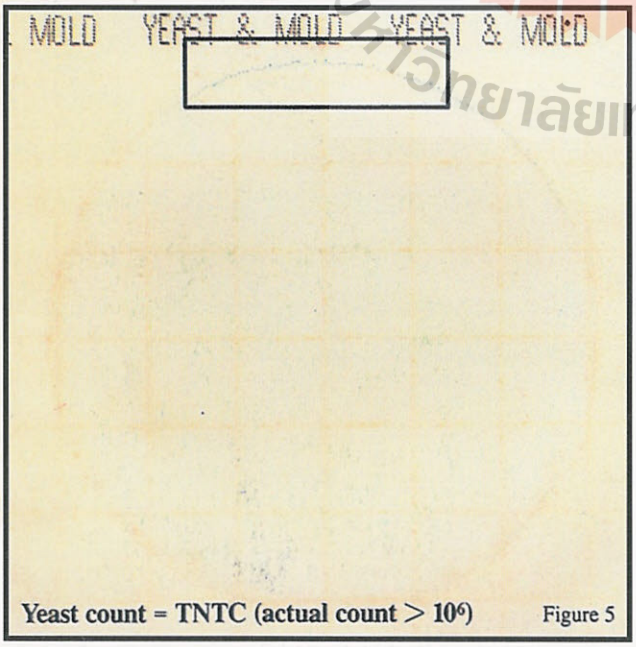
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



Yeast count = 480 (estimate);
Mold count = 21 Figure 3



Yeast count = TNTC (actual count > 10^4) Figure 4



Yeast count = TNTC (actual count > 10^6) Figure 5

ยีสต์

รูปที่ 3 ประกอบด้วยโคโลนีของราที่สามารถนับจำนวนได้โดยง่าย โคโลนีมีขนาดใหญ่ สีเขียว ขอบสีจาง และมีจุดโฟกัสกึ่งกลางโคโลนี สำหรับโคโลนีของยีสต์มีจำนวนมาก มีขนาดเล็ก สีน้ำตาลเทา ขอบชัดเจน และไม่มีจุดโฟกัสกลางโคโลนี เมื่อจำนวนโคโลนีมากกว่า 150 ให้ทำการประมาณโดยเลือกพื้นที่ 1 ช่อง (1 ตร.ซม.) เป็นตัวแทนนับจำนวนโคโลนีในช่องนั้นแล้วคูณด้วย 30 จะได้จำนวนโคโลนีทั้งหมดในแผ่นโดยประมาณ

*อนึ่ง พื้นที่บนแผ่น Petrifilmที่ใช้เพาะเชื้อเท่ากับ 30 ตร.ซม.

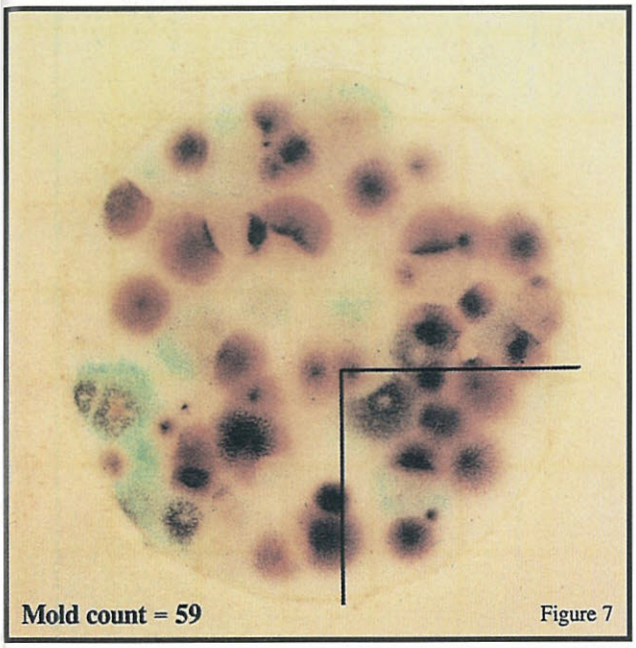
รูปที่ 4 ประกอบด้วยโคโลนีของยีสต์ที่มีจำนวนมากเกินกว่าจะนับได้ (TNTC) โคโลนีสีเขียวขนาดเล็กที่อยู่ตามขอบวงกลม (ในกรอบ) คือ โคโลนีของยีสต์ ซึ่งแสดงให้รู้ว่าเป็น TNTC ของยีสต์ ไม่ใช่ TNTC ของรา

รูปที่ 5 ในบางกรณี บนแผ่น Petrifilm™ Yeast and Mold Count ที่ประกอบด้วยยีสต์จำนวนมาก จะพบโคโลนีสีเขียวของยีสต์เจริญอยู่ตามขอบวงกลมเท่านั้น (ในกรอบ) ในกรณีนี้ จะบันทึกผลเป็น TNTC ของยีสต์ เช่นกัน

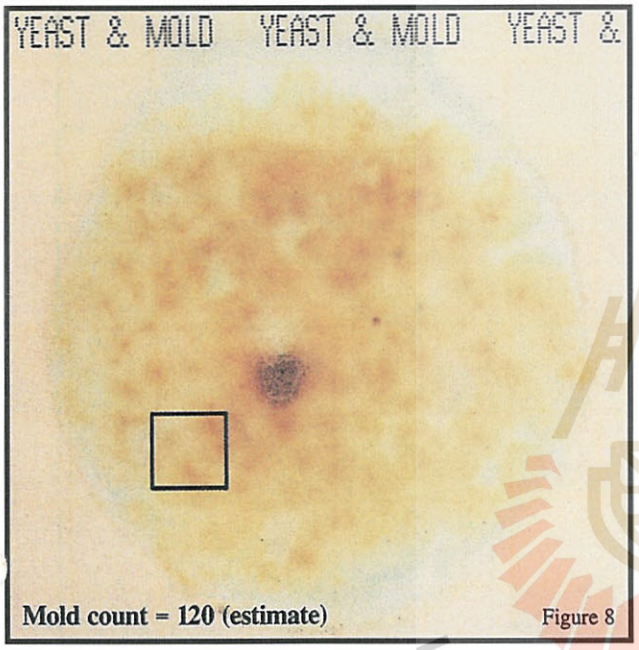
รูปที่ 6 ถ้าไม่พบการเจริญของเชื้อบน Petrifilm™ ให้เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนดูดังรูป เจลจะติดอยู่กับแผ่นฟิล์มแผ่นบน ถ้าเห็นโคโลนีสีขาวจำนวนมากที่เจล แสดงว่ามียีสต์อยู่จำนวนมาก ให้บันทึกผลเป็น TNTC ของยีสต์

Yeast count = TNTC Figure 6

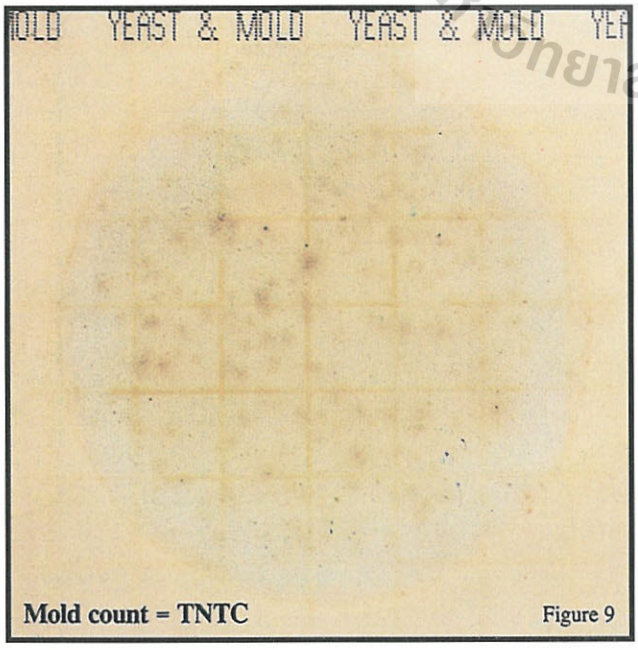
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



Mold count = 59 Figure 7



Mold count = 120 (estimate) Figure 8



Mold count = TNTC Figure 9

รา

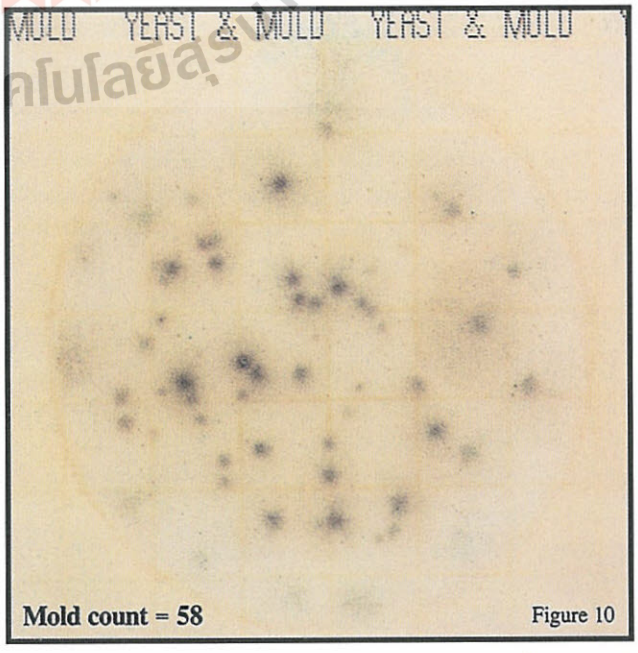
โคโลนีของราในรูปที่ 7 มีสีสันแตกต่างกันไป โดยมีจุดโฟกัสตรงกลางโคโลนี แต่ไม่มีขอบโคโลนีที่ชัดเจน แต่ละโคโลนีมีขนาดใหญ่ สังเกตเห็นสปอร์ และกินขอบเขตทับโคโลนีข้างเคียง เพื่อช่วยให้การนับง่ายขึ้น ให้ขีดเส้นแบ่งแผ่น Petrifilm™ ออกเป็นส่วนๆ และนับจำนวนโคโลนีโดยยึดเอาจุดโฟกัสกึ่งกลางโคโลนีเป็นหลัก ส่วนที่ขีดเส้นแบ่งไว้ในรูปมีราอยู่ 15 โคโลนี

ในรูปที่ 8 มีโคโลนีของราจำนวนมาก และมีการสร้างสปอร์ ทำให้เกิดสีสันที่แตกต่างออกไป และไม่สามารถกำหนดขอบเขตของแต่ละโคโลนีได้ ให้ประมาณจำนวนโคโลนีโดยนับจากจำนวนจุดโฟกัสในช่องสี่เหลี่ยม ดังเช่นในรูปมีราอยู่ 4 โคโลนี

เช่นเดียวกับวิธีการตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อชนิดอื่นๆ ถ้ามีจำนวนโคโลนีอยู่หนาแน่นมาก ราอาจมีลักษณะโคโลนีที่ผิดจากปกติ ดังนั้น การเจือจางตัวอย่าง (dilution) ที่เหมาะสมจะทำให้การนับแม่นยำยิ่งขึ้น

รูปที่ 9 และ 10 ได้จากตัวอย่างเดียวกันที่ความเข้มข้น 1:10 และ 1:100 ตามลำดับ โคโลนีในรูปที่ 9 มีขนาดเล็ก สีจาง และมีจำนวนมาก ทำให้การประมาณทำได้ยาก นอกจากนี้ยังมีฟองอากาศทำให้สับสนได้ด้วย

ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เหมาะสม ควรทำให้จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงการนับคือ 15 ถึง 150 โคโลนี โคโลนีราในรูปที่ 10 เป็นไปตามปกติคือ มีขนาดใหญ่ ขอบไม่ชัดเจน และมีจุดโฟกัสตรงกลาง ในขณะที่ในรูปที่ 9 ไม่สามารถสังเกตลักษณะของโคโลนีตามปกติได้ เพราะมีการเจริญของรามากเกินไป



Mold count = 58 Figure 10

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

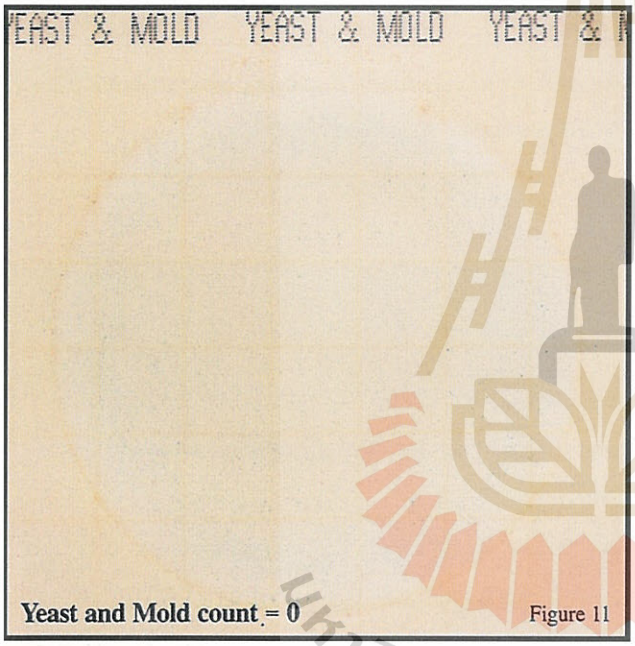
ปฏิกิริยา Phosphatase

เอนไซม์ phosphatase มีอยู่ในเซลล์ที่มีชีวิตทุกชนิด อินดิเคเตอร์ ใน Petrifilm™ จะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ดังกล่าวและจะย้อมสีโคโลนีของยีสต์และราให้เป็นสีน้ำเงิน อันอาจก่อความสับสนกับสีของตัวโคโลนีที่แท้จริงได้

ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีที่อาจสังเกตได้คือ สีพื้นด้านหลังเป็นสีน้ำเงินคราม หรือพบจุดสีน้ำเงินเข้ม กรณีหลังนี้มักพบกับตัวอย่างเครื่องเทศหรือตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เป็นเม็ด

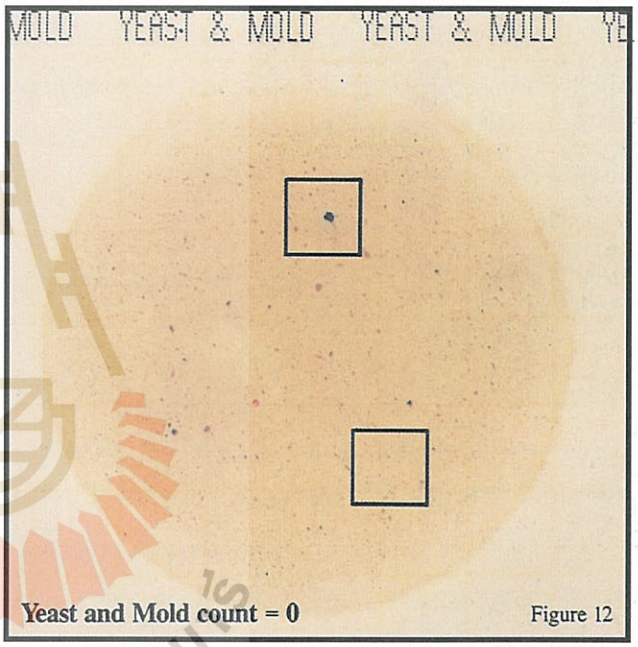
ท่านสามารถแยกแยะการเปลี่ยนสีที่เกิดจาก phosphatase จากสีของโคโลนียีสต์และราได้โดยเทคนิคดังต่อไปนี้

1. **การเจือจาง** ถ้าตัวอย่างที่ทดสอบสามารถทำให้เจือจางลงไปอีกได้ จะช่วยกำจัดปัญหาสีพื้นด้านหลังเป็นสีน้ำเงินครามได้ หรือช่วยลดจำนวนจุดสีน้ำเงินเข้มได้
2. **ใช้ของเหลวสกัด** โดยการเตรียมตัวอย่าง แล้วปล่อยให้ส่วนที่เป็นของแข็งตกตะกอนสัก 3 ถึง 5 นาที นำเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลว จากตัวอย่างนั้นมาทำการทดสอบ ทั้งนี้เพราะเศษวัสดุตัวอย่างมักเป็นสาเหตุให้เกิดจุดสีน้ำเงินเข้ม
3. **อุณหภูมิในการบ่มเชื้อ** ควรบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 20 ถึง 25 องศาเซลเซียส เพราะอุณหภูมิที่สูงจะเร่งปฏิกิริยา phosphatase ให้เกิดเร็วขึ้น
4. **ตรวจผลเป็นระยะ** ให้ตรวจดูแผ่น Petrifilm™ หลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ถึง 48 ชม. การเปลี่ยนสีอาจเกิดขึ้นได้ บันทึกการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยในการแปลผลขั้นสุดท้าย



Yeast and Mold count = 0 Figure 11

รูปที่ 11 แสดงตัวอย่างแผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ ที่มีสีพื้นด้านหลังเป็นสีน้ำเงินคราม อันเกิดจากปฏิกิริยา phosphatase ลักษณะเม็ดเล็กๆ ที่กระจายอยู่ทั่วแผ่นเกิดจากเศษวัสดุของตัวอย่าง ให้สังเกตลักษณะขอบวงกลมซึ่งแตกต่างจากแผ่นที่มีจำนวนยีสต์หรือรามาก เกินกว่าจะนับได้ (TNTC)

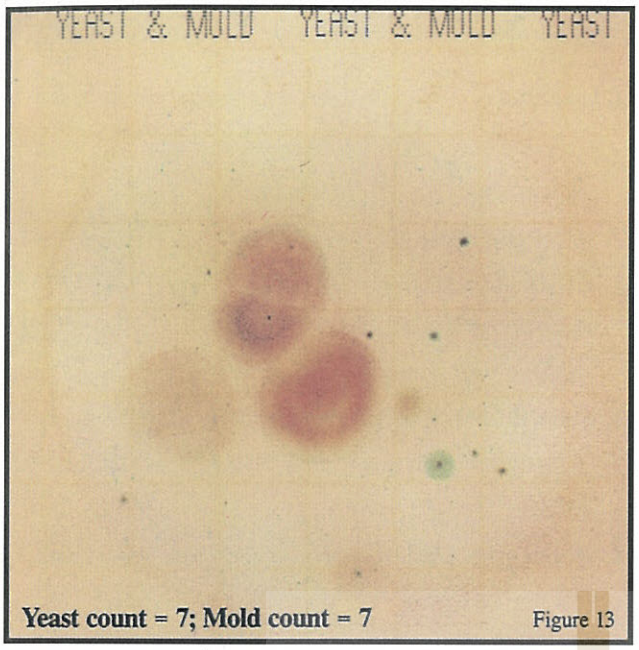


Yeast and Mold count = 0 Figure 12

รูปที่ 12 แสดงตัวอย่างจุดสีน้ำเงินเข้มที่เกิดจากปฏิกิริยา phosphatase ในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดให้สังเกตรูปร่างคือเล็กเป็นจุดหรือมีรูปร่างผิดไปจากโคโลนีของเชื้อ สีเป็นสีน้ำเงินเข้มในจุดที่มีขนาดใหญ่ (เช่นในกรอบสี่เหลี่ยมกรอบบน) มักเห็นเป็นสีน้ำเงินจางเป็นเงารอบขอบของจุด

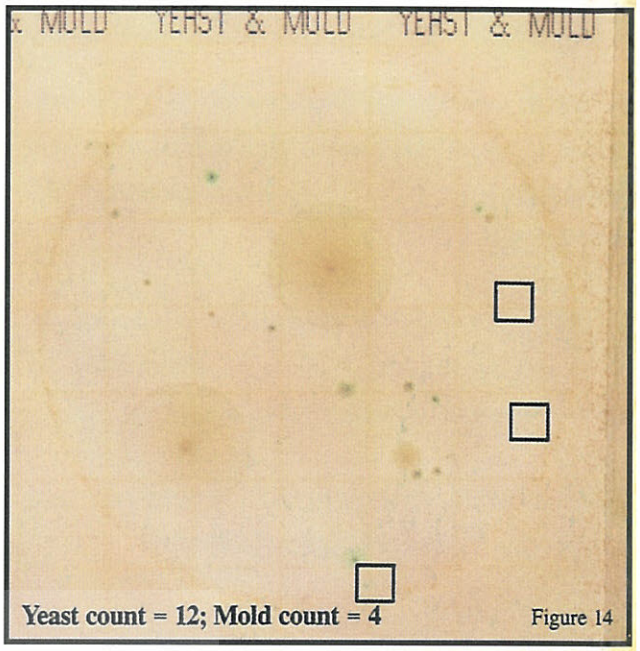
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปฏิกิริยา Phosphatase



Yeast count = 7; Mold count = 7 Figure 13

รูปที่ 13 เป็นอีกตัวอย่างหนึ่งของจุดสีน้ำเงินที่เกิดจากปฏิกิริยา phosphatase จุดสีเหล่านี้มีขนาดเล็กมาก (ปลายเข็ม) รูปร่างไม่เป็นทรงกลมแตกต่างจากลักษณะโคโลนีของเชื้อ โคโลนีของยีสต์มีขนาดเล็ก ทรงกลม สีเขียวอมน้ำเงิน มีขอบขัดเจน ส่วนโคโลนีของรามีขนาดใหญ่ สีแตกต่างกันไป ขอบโคโลนีไม่ชัดเจน และมีจุดโฟกัสตรงกลาง



Yeast count = 12; Mold count = 4 Figure 14

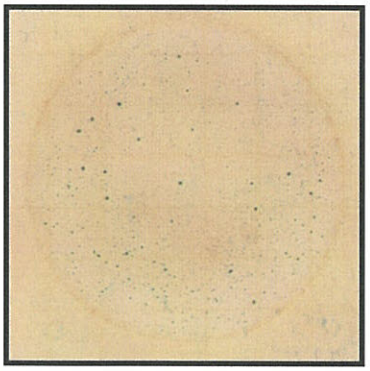
รูปที่ 14 ได้จากตัวอย่างเดียวกับรูปที่ 13 แต่เป็นการนำของเหลวจากตัวอย่างหลังจากตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 3 ถึง 5 นาที ยังคงสังเกตเห็นจุดเล็กๆ (ในกรอบ) ซึ่งเกิดจากเศษวัสดุของตัวอย่าง แต่จะเห็นได้ว่าสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ เหลืออยู่น้อยมาก

เวลาและอุณหภูมิในการบ่มเชื้อ

เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อมีความสำคัญต่อการเจริญของชนิดยีสต์และราที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ยีสต์และราเหล่านี้เจริญเติบโตช้า และอ่อนไหวต่ออุณหภูมิสูงทั้งนี้ไม่ว่าจะเป็นการทดสอบโดยวิธีใด ๆ

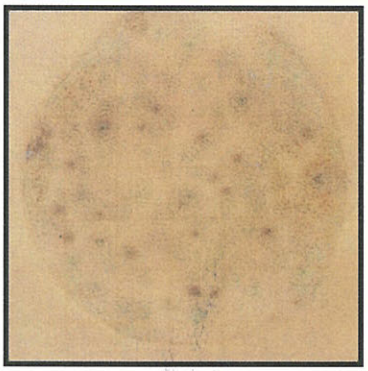
ควรบ่มแผ่น Petrifilm™ ที่อุณหภูมิ 20 ถึง 25 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิห้อง และตรวจนับการเจริญของเชื้อหลังจาก 3 วัน และ 5 วันการตรวจนับจะไม่ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายตำแหน่งของสปอร์หรือการปนเปื้อนเพิ่มเติมของรา ทั้งนี้เพราะราถูกตรึงให้อยู่กับที่โดยแผ่นฟิล์มด้านบนและล่างที่ประกบกันอยู่

การบ่มที่อุณหภูมิสูงไม่ได้ให้ผลที่เร็วขึ้น แต่อาจทำให้ได้ผลที่ไม่แม่นยำ ดังเช่นตัวอย่างในรูปที่ 15 และ 16 ทั้งสองแผ่นมาจากตัวอย่างชนิดเดียวกัน ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (duplicate) แต่ได้รับการบ่มที่อุณหภูมิและเวลาแตกต่างกัน



Yeast count = TNTC Figure 15

บ่ม 3 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

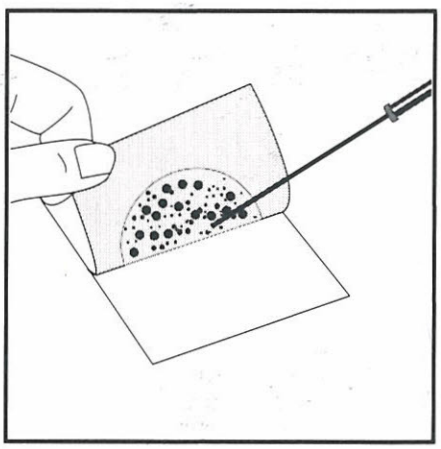


Yeast count = TNTC (actual count $>10^7$)
Mold count = 120 (estimate) Figure 16

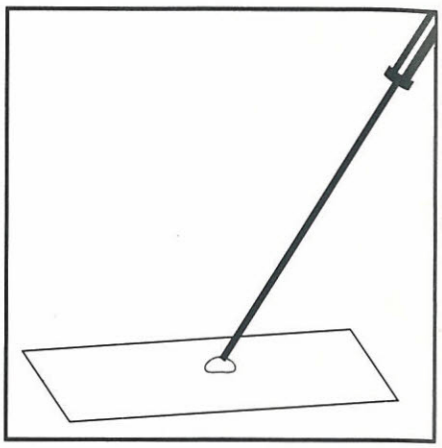
บ่ม 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

การยืนยันชนิดของเชื้อโดยกล้องจุลทรรศน์

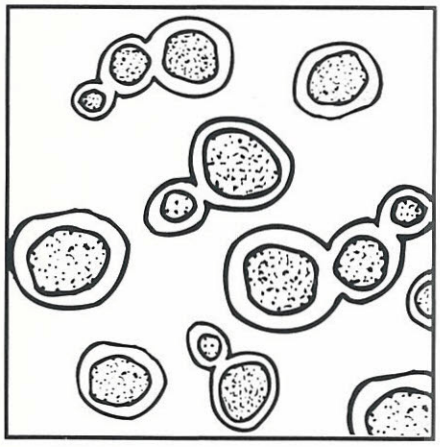
ยีสต์และรามีสายพันธุ์ที่หลากหลายมาก การมองด้วยตาเปล่าอาจไม่สามารถยืนยันว่าเป็นเชื้อชนิดใดได้ การยืนยันสามารถทำได้โดยการตรวจวิเคราะห์โดยกล้องจุลทรรศน์



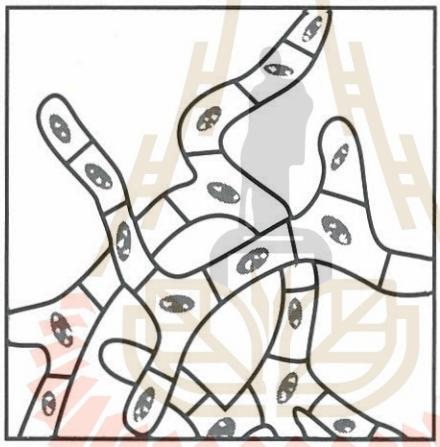
รูปที่ 17
ท่านสามารถนำโคโลนีใน Petrifilm™ ไปตรวจวิเคราะห์ต่อได้โดยเปิดแผ่นฟิล์มด้านบนขึ้น ใช้ปลายเหล็กแหลมเกี่ยวโคโลนีที่ต้องการจากแผ่นเจลดังรูป



รูปที่ 18
จุ่มปลายเหล็กแหลมลงในหยดน้ำปลอดเชื้อที่อยู่บนแผ่นสไลด์สำหรับกล้องจุลทรรศน์ดังรูป ปิดทับหยดน้ำด้วยแผ่นกระจก และส่องดูตามเทคนิคของกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 19
แสดงลักษณะของยีสต์ คือ เป็นวงรี มีการแตกหน่อ (budding)



รูปที่ 20
แสดงลักษณะของรา คือ มีกิ่งก้านสาขาเป็นเส้นใยคลายเส้นด้ายที่เรียกว่าไมซีเลี่ยม (mycelium)

รูปที่ 21
แสดงลักษณะของราที่อยู่ในช่วงต่าง ๆ ของการงอก

Oskon
บริษัท ออสคอน จำกัด
800/95 ซ.ตระกูลสุข ถนนอโศก-ดินแดง แขวงดินแดง
เขตดินแดง กทม. 10400
OSKON CO.,LTD.
800/95 Soi Trakoonsuk, Asoke-Dindaeng Rd.,
Dindaeng, Bangkok 10400
Tel.(662)246-3175, 642-9407-8, 640-2218-21
Fax.(662)246-3546 E-mail : oskont@ksc.th.com

3M คิดค้นพัฒนาเพื่อท่าน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คู่มือการแปรผล

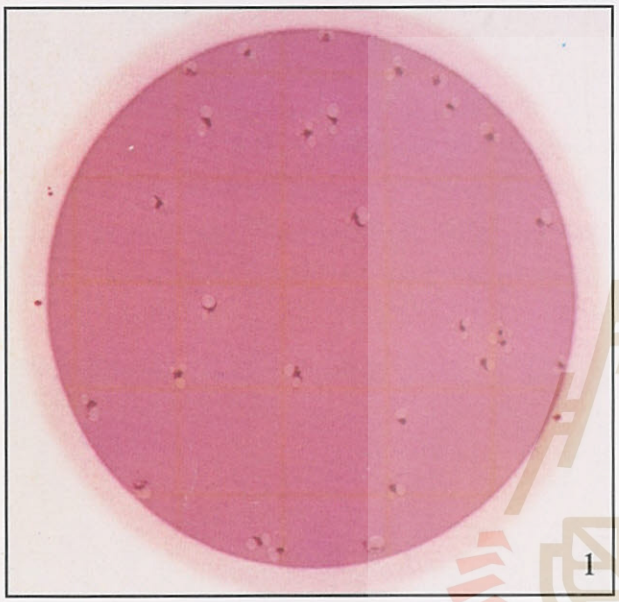
3M Petrifilm™

Coliform และ E. coli Count Plates

คู่มือฉบับนี้ใช้เป็นแนวทางในการอ่านผลการเพาะเชื้อบนแผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป Petrifilm™ Coliform และ E. coli Count Plate กรุณาติดต่อขอข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด หรือที่ตัวแทนจำหน่ายที่ท่านติดต่อ

Petrifilm™ Coliform Count

สำหรับการตรวจนับจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม



Coliform count = 28

การนับจำนวนโคโลนีของโคลิฟอร์มบนแผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ Coliform Count สามารถทำได้โดยง่าย อินดิเคเตอร์จะย้อมสีทุกโคโลนีในแผ่นเพาะเชื้อให้เป็นสีแดง แผ่นฟิล์มแผ่นบนจะดักฟองกาซซึ่งโคลิฟอร์มผลิตไว้

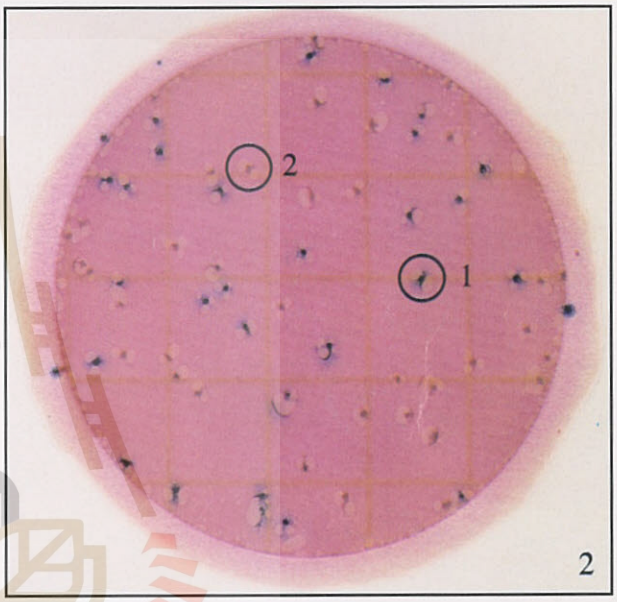
โคโลนีของโคลิฟอร์มติดสีแดงและมีฟองกาซอยู่ด้วย(คล้ายปีก-ผีเสื้อ) โคโลนีที่ไม่ใช่โคลิฟอร์มติดสีแดงแต่ไม่มีฟองกาซติดอยู่

ฟองอากาศเล็ก ๆ ที่กระจายอยู่ทั่วแผ่นเจลเป็นลักษณะปกติของ Petrifilm™ ซึ่งไม่ได้เกิดจากโคลิฟอร์ม ขนาดของฟองอากาศจะเล็กกว่าฟองกาซที่ผลิตโดยโคลิฟอร์มมาก

ไม่ต้องนับโคโลนีที่ปรากฏบนขอบโฟมเพราะโคโลนีเหล่านี้เจริญเติบโตอยู่นอกสภาวะที่กำหนดไว้

Petrifilm™ E. coli Count

สำหรับการตรวจนับเชื้อโคลิฟอร์มและอี. โคไล (Escherichia coli)



E. coli count=28 Total coliform count =62

แผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ E. coli Count มีส่วนประกอบพื้นฐานเช่นเดียวกับแผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ Coliform Count แต่เพิ่มสีย้อมกลูคิวโรนิเดส (glucuronidase indicator dye) เอนไซม์กลูคิวโรนิเดสซึ่งผลิตโดยอี. โคไล ส่วนใหญ่* จะทำปฏิกิริยากับอินดิเคเตอร์ดังกล่าว และเกิดตะกอนสีน้ำเงินรอบโคโลนี อี. โคไลส่วนใหญ่ยังผลิตกาซ ซึ่งจะถูกดักไว้โดยแผ่นฟิล์มแผ่นบน ดังนั้นให้นับโคโลนีที่ติดสีน้ำเงินและมีฟองกาซเป็นอี. โคไล ดังรูปในวงกลมหมายเลข 1

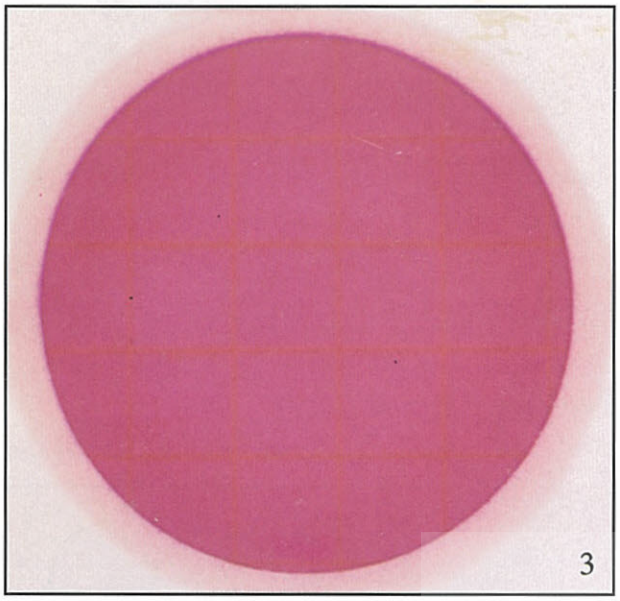
โคลิฟอร์มที่ไม่ใช่อี. โคไลจะติดสีแดงและมีฟองกาซ ดังรูปในวงกลมหมายเลข 2 สามารถนับจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมดได้โดยนับโคโลนีที่มีฟองกาซทั้งที่ติดสีแดงและน้ำเงิน

โคโลนีที่ไม่ใช่โคลิฟอร์มจะไม่มีฟองกาซติดอยู่

*หมายเหตุ E. coli 0157:H7 ไม่ผลิตเอนไซม์กลูคิวโรนิเดส ดังนั้นจะไม่เกิดตะกอนสีน้ำเงินรอบโคโลนี

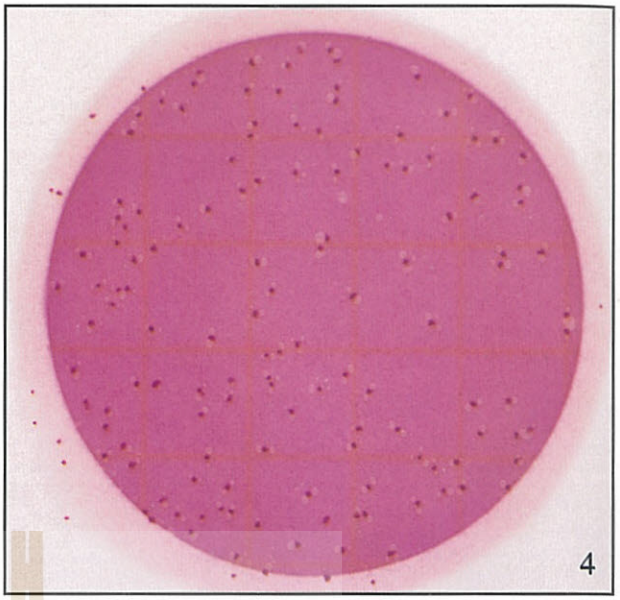
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Petrifilm™ Coliform Count Plate



Coliform count = 0

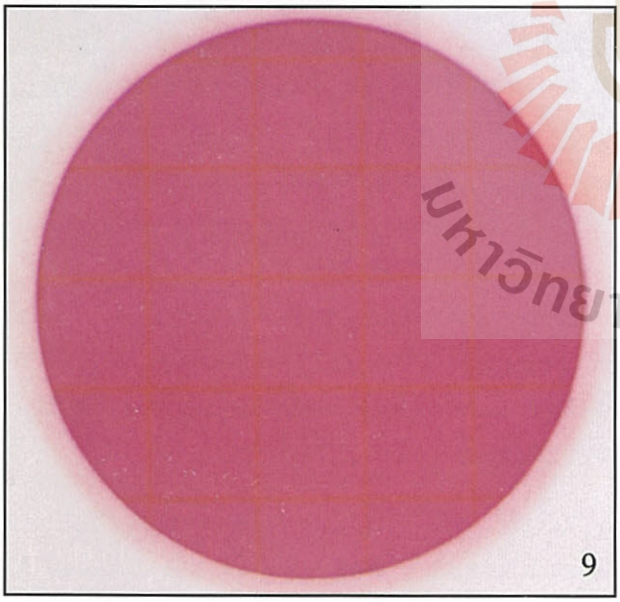
ให้สังเกตการเปลี่ยนสีของเจลในรูปที่ 3 ถึงรูปที่ 8 เมื่อจำนวนของโคลิฟอร์มมากขึ้น สีของเจลจะเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นชมพูเข้ม



Coliform count = 127

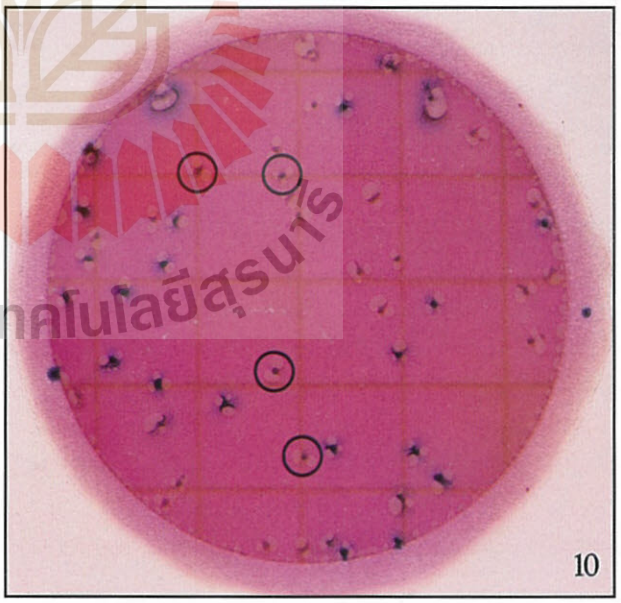
แผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ Coliform Count มีช่วงการนับระหว่าง 15 ถึง 150 โคโลนี เช่นเดียวกับการใช้ violet red bile agar (VRBA)

Petrifilm™ E. coli Count Plate



E. coli count = 0

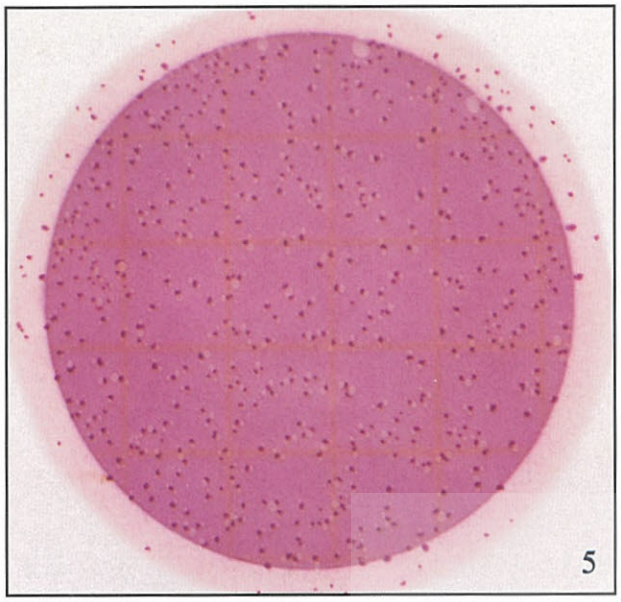
ให้สังเกตสีของเจลในรูปที่ 9 ถึง 14 เมื่อจำนวนของอี. โคไลมากขึ้น สีของเจลจะเปลี่ยนเป็นน้ำเงินอมม่วง



E. coli count = 28 Total Coliform count = 50

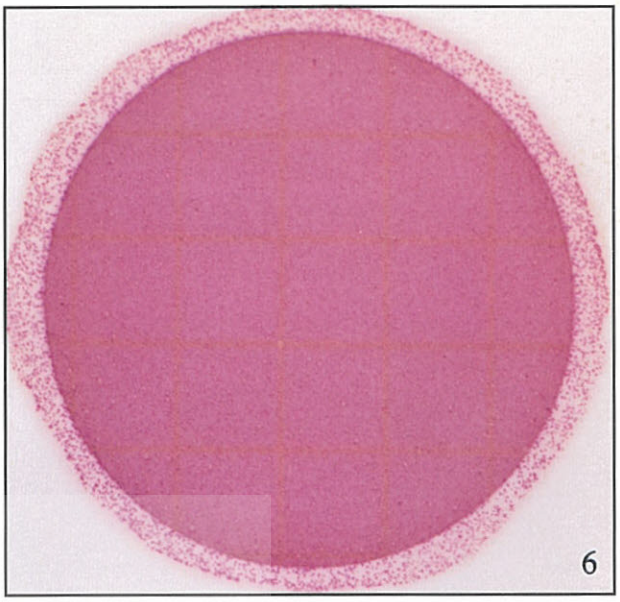
ช่วงการนับที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 15 ถึง 150 โคโลนี ถ้ามีสีน้ำเงินแทรกอยู่ในโคโลนีใดก็ตาม ให้นับเป็นอี. โคไล ดังรูปในวงกลม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



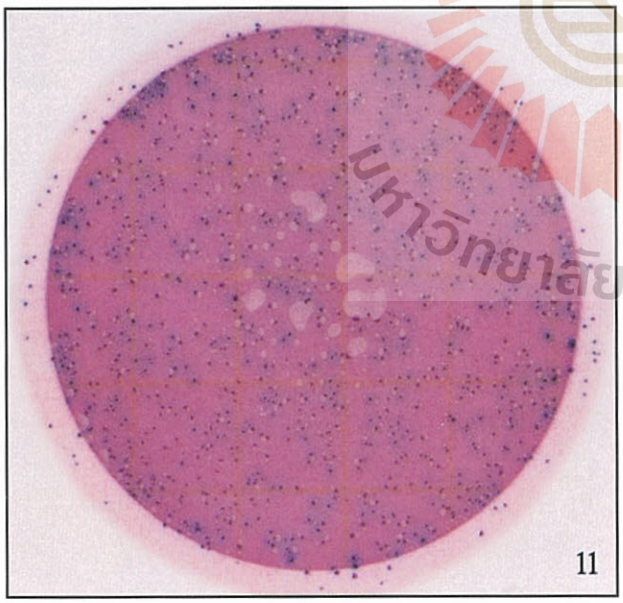
Estimated coliform count = 380

เมื่อมีจำนวนโคโลนีมากกว่า 150 ให้ทำการนับโดยประมาณ โดยเลือกนับจำนวนโคโลนีในหนึ่งช่องบนแผ่น Petrifilm™ (1 ตร.ซม.) คูณด้วย 20 จะได้จำนวนโคโลนีทั้งหมดในแผ่นโดยประมาณ ทั้งนี้ พื้นที่ที่เชื้อเจริญประมาณ 20 ตร.ซม.



Coliform count = TNTC Actual count =10^7

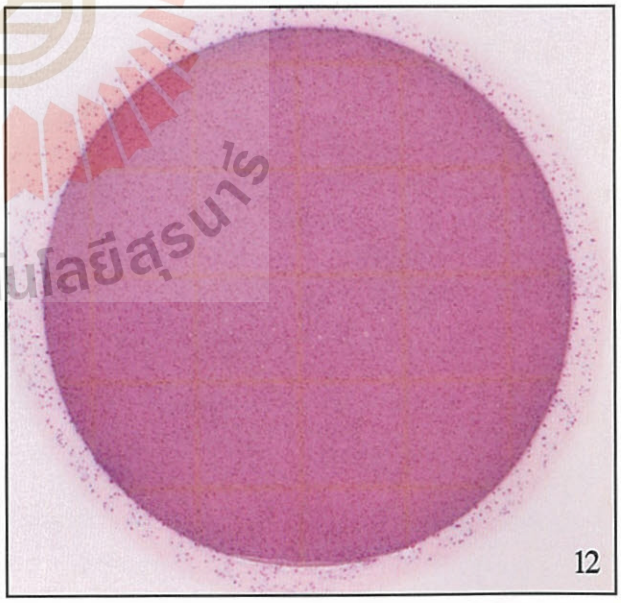
แผ่น Petrifilm™ Coliform Count ที่มีจำนวนโคโลนีมากเกินกว่าจะนับได้ (TNTC) มีลักษณะทั่วไปดังนี้ 1) มีโคโลนีเล็ก ๆ จำนวนมาก 2) มีฟองกาซจำนวนมาก และ 3) สีเจลเข้มขึ้น



Estimated E. coli count = 207

Estimated Total Coliform count = 484

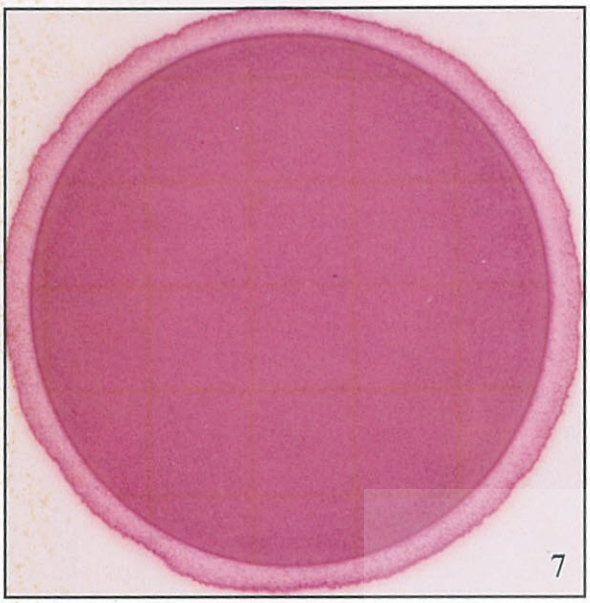
เมื่อมีจำนวนอี. โคไล มากกว่า 150 โคโลนี ให้ทำการนับโดยประมาณ โดยเลือกนับจำนวนโคโลนีในหนึ่งช่องของ Petrifilm™ (1 ตร.ซม.) คูณด้วย 20 ก็จะได้จำนวนโคโลนีทั้งหมดในแผ่นโดยประมาณ



E. coli count = TNTC Actualcount = 10^7

Petrifilm™ E. coli Count ที่มีจำนวนโคโลนีของอี. โคไล มากเกินกว่าจะนับได้ (TNTC) มีลักษณะทั่วไปดังนี้ 1) มีโคโลนีเล็กๆ มากมาย 2) มีฟองกาซมากมาย และ 3) เจลเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมม่วง

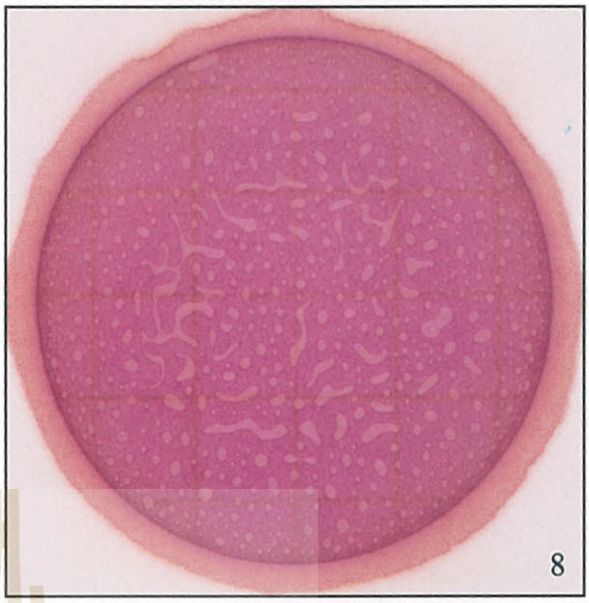
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



Coliform count = TNTC Actual count = 10^8

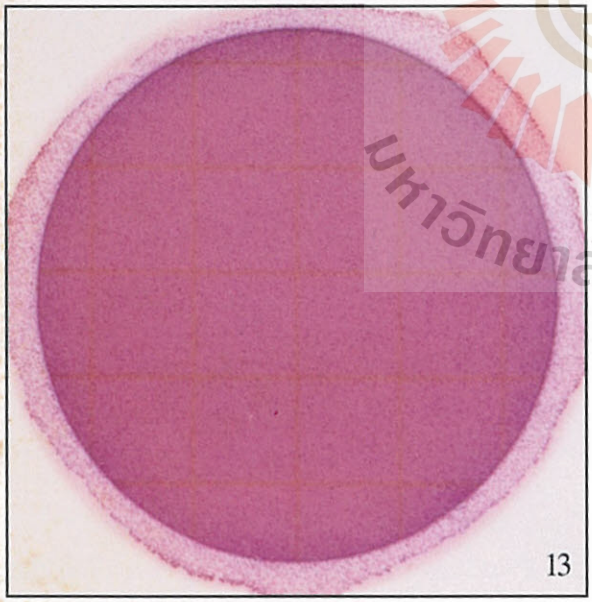
รูปที่ 7 จำนวนโคโลนีหนาแน่นมากจนไม่สามารถแยกตัวออกมาเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ กับฟองกาซได้ สีของพื้นเจลที่เข้มขึ้นแสดงว่าผลที่ได้เป็น TNTC

TNTC = Too Numerous Too count = เกินกว่าที่จะนับได้



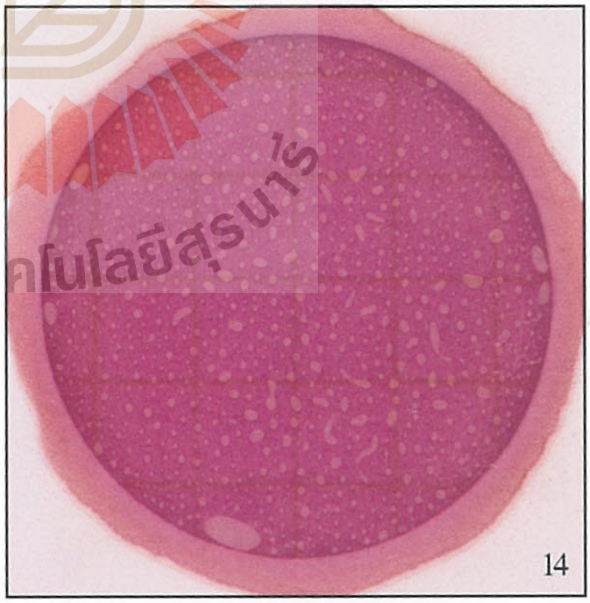
Coliform count = TNTC Actual count = 10^8

รูปที่ 8 มีสองลักษณะที่แสดงให้เห็นว่าผลเป็น TNTC คือ 1) ฟองกาซจำนวนมาก 2) สีของเจลที่เข้มขึ้น



E. coli count = TNTC Actual count = 10^8

รูปที่ 13 จำนวนโคโลนีหนาแน่นมากจนไม่สามารถแยกตัวออกมาเป็นแต่ละโคโลนีและฟองกาซได้ เจลที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมม่วงแสดงว่าผลเป็น TNTC

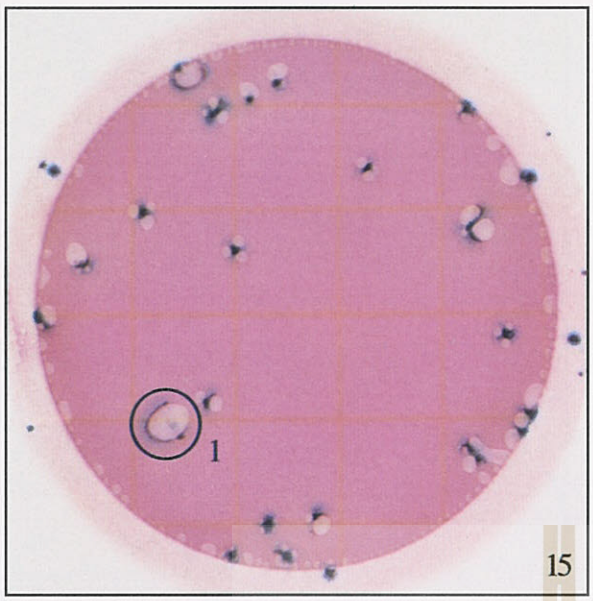


E. coli count = TNTC Actual count = 10^8

รูปที่ 14 มีสองลักษณะที่แสดงให้เห็นว่า จำนวน E. coli เป็น TNTC คือ 1) ฟองกาซจำนวนมาก 2) สีของเจลที่เข้มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

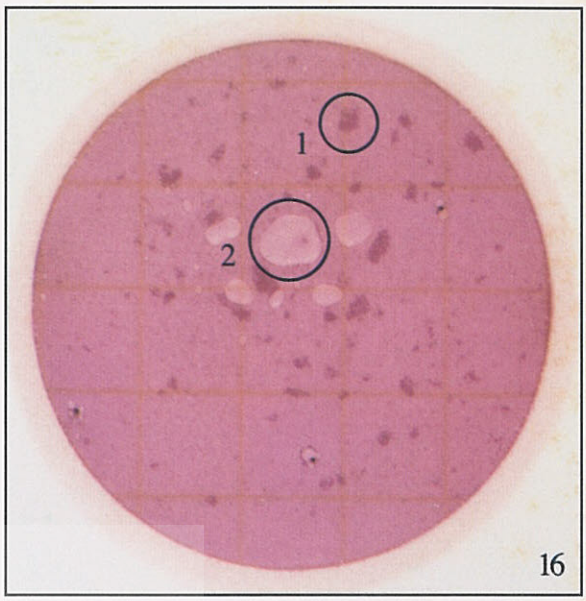
ฟองกาซ



15

E. coli count = 21

รูปที่ 15 แสดงให้เห็นถึงรูปแบบต่าง ๆ ของฟองกาซ บางครั้งฟองกาซทำให้โคโลนีแตกเกิดเป็นเส้นตามขอบฟองกาซนั้น เช่นดังรูปในวงกลมหมายเลข 1 ให้นับโคโลนีที่มีฟองกาซติดอยู่หรือมีฟองกาซอยู่ในรัศมีไม่เกิน 1 โคโลนี

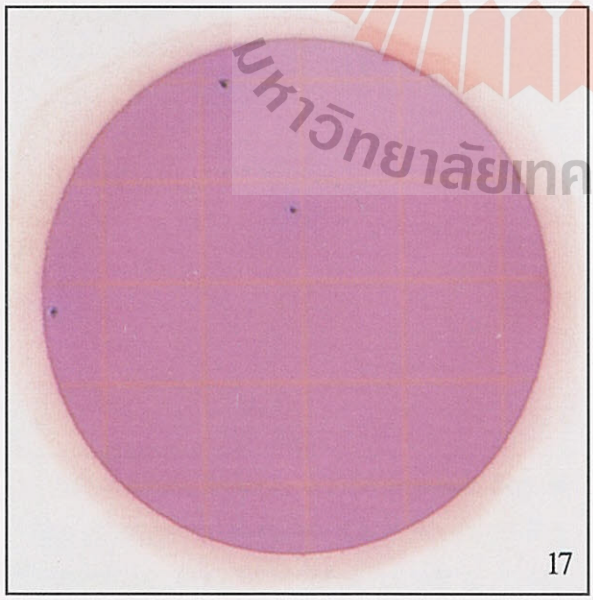


16

E. coli count = 3

เศษอาหารที่อาจปนในตัวอย่างมีรูปร่างแตกต่างจากโคโลนีแบคทีเรียซึ่งมักเป็นจุด นอกจากนั้นยังไม่มีฟองกาซติดอยู่อีกด้วย ดังในวงกลมหมายเลข 1 ของรูปที่ 16 ส่วนในวงกลมหมายเลข 2 แสดงให้เห็นถึงฟองอากาศปลอมปนซึ่งอาจเกิดระหว่างการปล่อยสารละลายตัวอย่างหรือเกิดขึ้นระหว่างการเตรียมตัวอย่าง ฟองอากาศเหล่านี้มีรูปร่างต่างจากฟองกาซที่เกิดจากแบคทีเรีย และไม่อยู่ติดกับโคโลนี

โคโลนีสีน้ำเงินที่ไม่มีฟองกาซ



17

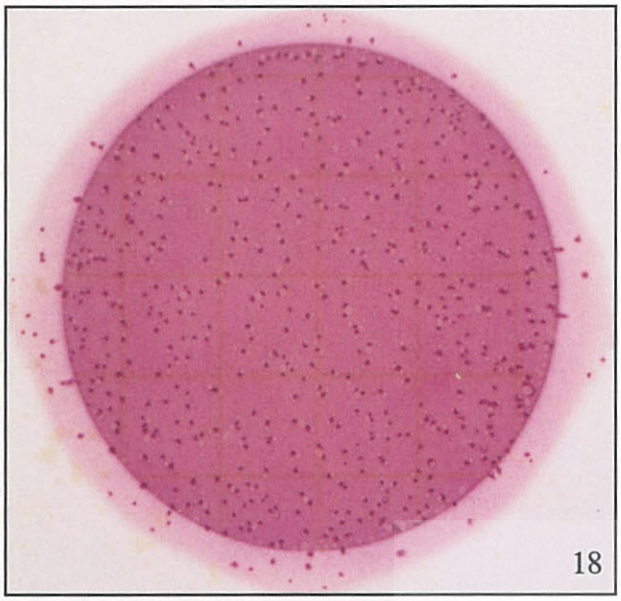
การแปลผลโคโลนีที่ติดสีน้ำเงินแต่ไม่มีฟองกาซแตกต่างกันไปตามแต่วิธีของสถาบันที่ให้การรับรอง ในการพิจารณาว่าจะใช้การแปลผลตามสถาบันใดให้ระลึกไว้เสมอว่า 95% ของ E. coli สามารถผลิตกาซได้

วิธีของ AOAC (991.14) บ่ม Petrifilm™ ที่อุณหภูมิ 35 ± 1° เซลเซียส โคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองกาซติดอยู่เป็น confirmed E. coli โคโลนีสีน้ำเงินที่ไม่มีฟองกาซติดอยู่ไม่นับเป็น E. coli

วิธีของ AFNOR (01/4-09/92) บ่ม Petrifilm™ ที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.5° เซลเซียส* โคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองกาซติดอยู่เป็น E. coli โคโลนีสีน้ำเงินที่ไม่มีฟองกาซติดอยู่อาจเป็นหรืออาจไม่เป็น E. coli และอาจทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันถ้าจำเป็น

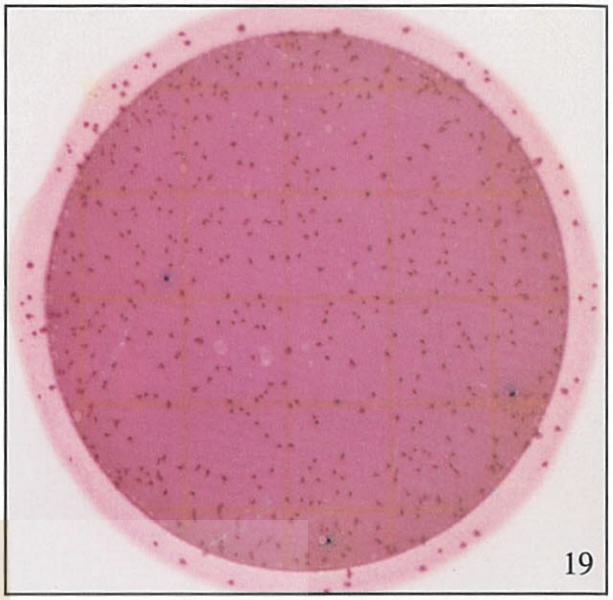
*อนึ่ง E. coli O157:H7 ไม่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ >= 44.5° เซลเซียส สามารถตรวจสอบ E. coli O157:H7 ได้โดยใช้ Petrifilm™ Test Kit-HEC ของ 3M

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



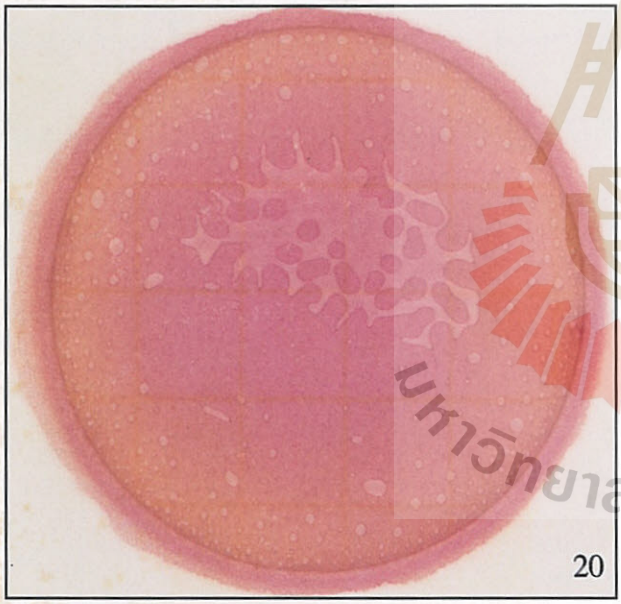
Estimated coliform count = 420

รูปที่ 18 แสดงให้เห็นแผ่นเพาะเชื้อ Petrifilm™ E. coli Count ที่มีโคลิฟอร์มที่ไม่ใช่ E. coli อยู่จำนวนมาก ให้สังเกตว่ามีลักษณะเหมือนแผ่น Petrifilm Coliform Count ในรูปที่ 5



E. coli count = 3

แผ่น Petrifilm E. coli Count ในรูปที่ 19 มีจำนวนโคโลนี E. coli อยู่เล็กน้อย แต่มีโคโลนีของแบคทีเรียแกรมลบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โคลิฟอร์มอยู่จำนวนมาก (ติดสีแดงแต่ไม่มีฟองกาซ)



เมื่อมีแบคทีเรียบางชนิดอยู่จำนวนมาก เช่น Pseudomonas แผ่น Petrifilm E. coli หรือ Coliform Count จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองดังเช่นในรูปที่ 20

บริษัท ออสคอน จำกัด
OSKON CO., LTD.
0/95 ...ตระกูลสุข ...อโศก-ดินแดง ...วงดินแดง
...ดินแดง กทม. 032...
0/95 Soi Trakoon Suk, Asoke-Dindaeng Road
Dindaeng, Bangkok 10320
TEL. (662) 2463175, 6429407-8, 6402218-21
FAX: (662) 2463546

ฝ่ายตลาดการแพทย์และเวชภัณฑ์
บริษัท 3เอ็ม ประเทศไทย จำกัด
ชั้น 9 อาคารเสริมมิตรทาวเวอร์
159 ถนนอโศก (สุขุมวิท 21) กรุงเทพฯ 10110
โทรศัพท์ 260-8577 โทรสาร 261-7535

3M คิดค้นพัฒนาเพื่อท่าน