รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count : APC ในผลิตภัณฑ์ Puff&Pie ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C

Study and Comparison of Microbial Growth in Puff&Pie Product VIA APC Method under 5 °C and 25 °C

โดย

นางสาว วาริชา ชัยประเสริฐ B4550259

นาย อาทิตย์ กองแก้ว B4552352

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา 503 481 สหกิจศึกษา

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count : APC
ในผลิตภัณฑ์ Puff & Pie ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C

Study and Comparison of Microbial Growth in Puff & Pie Product
via APC Method under 5 °C and 25 °C

โดย

นางสาว วาริชา ชัยประเสริฐ B4550259

นาย อาทิตย์ กองแก้ว B4552352

ปฏิบัติงาน ณ

บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน)

ฝ่ายครัวการบิน (Catering Department : DC)

171/1 ถ. วิภาวดี-รังสิต แขวงสีกัน เขตดอนเมือง

กรุงเทพมหานคร 10210

วันที่ 16 ธันวาคม พ.ศ. 2548

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาววาริชา ชัยประเสริฐ และนายอาทิตย์ กองแก้ว นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ระหว่างวันที่ 29 สิงหาคม ถึงวันที่ 16 ธันวาคม 2548 ในตำแหน่ง "เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ วิจัย และจัดการคุณภาพอาหาร" แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) โดยได้รับมอบหมายจาก Job Supervisor ให้ทำการศึกษาวิจัย เรื่อง "การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count : APC ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C" (Study and Comparison of Microbial Growth in Puff&Pie Product VIA APC Method under 5°C and 25°C)

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้สิ้นสุดลงแล้ว ข้าพเจ้าจึงขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมกันนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

นางสาววาริชา ชัยประเสริฐ

นายอาทิตย์ กองแก้ว

16 ธันวาคม 2548

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgment)

ตลอดเวลาที่ข้าพเจ้าได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ตั้งแต่วันที่29 สิงหาคม ถึงวันที่ 16 ธันวาคม 2548 นั้น ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ที่มีค่าอย่างมากมาย ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคลากรในหน่วยงานต่างๆ ของฝ่ายครัวการบิน ดังนี้คือ

1. น.พ.อมรชัย หาญผดุงธรรมะ ผู้จัดการกองประกันคุณภาพ ในนามของ ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ซึ่งกรุณาให้โอกาสข้าพเจ้า ในการเข้าปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
2. คุณนรีกุล สุระพัฒน์ ผู้จัดการแผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำที่ดีต่างๆ ในการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาในครั้งนี้
3. คุณทศพัชร์ นพรัตน์เรืองเด่น Administrative Assistant แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ Job Supervisor ผู้ดูแลให้ความรู้ด้านต่างๆแก่ข้าพเจ้า
4. คุณสุภาวดี เขียวแก้ว SR. Supervisor แผนกบุคลากร ซึ่งช่วยดูแลอำนวยความสะดวกในการเข้าปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
5. พี่ๆ แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ และพี่ๆ ฝ่ายครัวการบินทุกๆ คน ที่ให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆ ในด้านการทำงานแก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา ตลอดระยะเวลาในการเข้าปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

ข้าพเจ้าจึงใคร่ขอขอบคุณผู้ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือดังกล่าว ที่มีส่วนในการให้ความรู้ ช่วยเหลือ ดูแล ตลอดการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาของข้าพเจ้าและทำให้ข้าพเจ้าได้รับประสบการณ์ที่มีค่ายิ่ง ตลอดการปฏิบัติงานที่ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน)

ผู้จัดทำรายงาน

16 ธันวาคม 2548

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญกราฟ

สารบัญรูปภาพ

หน้า

บทคัดย่อ

(Abstract)

ฝ่ายครัวการบิน(Catering Services Department) บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ดำเนินการผลิตอาหารและบริการ เพื่อให้บริการแก่ลูกค้าสายการบิน ทั้งสายการบินไทยและสายการบินต่างประเทศ ซึ่งการปฏิบัติงานในโครงการสหกิจศึกษา ณ บริษัท การบินไทย จำกัด(มหาชน) ข้าพเจ้า นางสาววาริชา ชัยประเสริฐ และนายอาทิตย์ กองแก้ว นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานในหน้าที่ ในตำแหน่ง " เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ วิจัย และจัดการคุณภาพอาหาร" แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ฝ่ายครัวการบิน โดยทำหน้าที่ตรวจวิเคราะห์คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างอาหารที่ผลิต ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และตรวจสุขลักษณะของพนักงานภายในครัวการบิน

ในระหว่างการปฏิบัติงานในโครงการสหกิจศึกษา ข้าพเจ้าได้ทำการศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง "การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Airobic Plate Count:APC ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C " (Study and Comparison of Microbial Growth in Puff&Pie Product VIA APC Method under 5°C and 25°C)

การศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง "การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count :APC ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C " (Study and Comparison of Microbial Growth in Puff&Pie Product via APC Method under 5°C and 25°C) เนื่องมาจากทางบริษัทต้องทำการแก้ไขปัญหาผลิตภัณฑ์เอแคลร์บางส่วนที่ซื้อไปนั้น เสื่อมคุณภาพหรือเน่าเสียเร็วกว่าปกติ โดยทราบจากการร้องเรียนของลูกค้า ซึ่งในการทดลองนั้นใช้ตัวอย่างเอแคลร์ที่ที่ผลิตเสร็จและรอจำหน่าย มาทำการศึกษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 2 อุณหภูมิ คือ ที่ 5°C ซึ่งก็คืออุณหภูมิตู้แช่ และที่ 25°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติ ณ จุดจำหน่ายผลิตภัณฑ์ Puff&Pie มาทำการเก็บรักษาที่ 0(เริ่มต้น), 3, 6, 8 , 24, 27 และ 30 ชั่วโมง แล้วทำการหาจำนวน Acrobic Plate Count โดยวิธี Petrifilm Method พบว่า ที่อุณหภูมิ 25°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิ ณ จุดจำหน่าย Puff&Pie นั้นจะมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไป โดยจะเริ่มเกิดการเน่าเสีย (เชื้อมีจำนวนเท่ากับ 10^8 cfu/g) ที่ 31 ชั่วโมง ในขณะเดียวกันที่อุณหภูมิ 5 °C นั้นมีจำนวนเชื้อเพียง 12,000 cfu/g เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิ 25°C เป็นอุณหภูมิที่อยู่ในช่วง "เขตอันตราย" ของอาหารซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เชื้อจะเจริญได้ดี และในเอแคลร์มีสารอาหารในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้น การป้องกันการเน่าเสียเร็วกว่ากำหนดของผลิตภัณฑ์เอแคลร์ คือ ต้องควบคุมอุณหภูมิตลอดการผลิต เก็บรักษา ขนส่ง และวางจำหน่าย ให้มีลักษณะเป็น **"Cold Chain"** คือ อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °C ทุกขั้นตอนที่เกี่ยวข้อง

บทที่ 1

บทนำ

1. วัตถุประสงค์ของการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

- เพื่อศึกษาระบบการจัดการคุณภาพในการผลิตอาหาร ของแผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน)
- เพื่อให้เข้าใจถึง การทวนสอบคุณภาพอาหารให้บริการสายการบิน โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา
- เพื่อเพิ่มพูนประสบการณ์จากการปฏิบัติงานจริง
- เพื่อนำทฤษฎีที่ศึกษามาใช้ในการปฏิบัติงานจริง

2. รายละเอียดเกี่ยวกับบริษัท

ประวัติและความเป็นมาของฝ่ายครัวการบิน

ฝ่ายครัวการบิน (Catering Services Department : DC) บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) เริ่มดำเนินกิจการเมื่อวันที่ 20 เมษายน พ.ศ. 2503 เพื่อให้บริการอาหารสำหรับผู้โดยสารของบริษัทฯ ในเที่ยวบินปฐมฤกษ์ กรุงเทพฯ-ฮ่องกง ในวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2503 โดยในขณะนั้นใช้ชื่อว่า ครัวการบินไทย มีพนักงานเพียง 10 คนโดยใช้อาคารในพื้นที่ส่วนหนึ่งภายในบริเวณสนามบินเป็นสถานประกอบการซึ่งในขณะนั้นการดำเนินกิจการของครัวการบินไทยมีจุดประสงค์เพียงให้บริการอาหาร สำหรับสายการบินของบริษัทเท่านั้น

หลังจากเปิดดำเนินการได้ไม่นาน ในเดือนกรกฎาคม ปีเดียวกัน สายการบิน Lufthansa ได้ติดต่อขอซื้ออาหารจาก ครัวการบินไทย เพื่อให้บริการแก่ลูกค้าบนสายการบิน Lufthansa จึงนับเป็นลูกค้ารายแรกที่ใช้บริการของครัวการบินไทย และหลังจากนั้นไม่นาน สายการบิน Swiss Air และสายการบิน SAS ได้มาติดต่อขอซื้ออาหารจากครัวการบินไทย เป็นลำดับ ซึ่งถือเป็นจุดเริ่มต้นในการดำเนินการของฝ่ายครัวการบินไทยในปัจจุบัน

ฝ่ายครัวการบิน ดำเนินกิจการบริการอาหาร และบริการต่างๆสำหรับผู้โดยสารบนเครื่องบินของบริษัทและสายการบินลูกค้าต่างๆเฉพาะสายการบินที่บินระหว่างประเทศ สำหรับในส่วนของการบริการอาหารของสายการบินที่บินอยู่ภายในประเทศนั้น เดิมเป็นการบริการของบริษัทเดินอากาศไทย ต่อมาเมื่อมีการรวมบริษัทระหว่างบริษัทเดินอากาศไทยและบริษัทการบินไทยเข้าด้วยกัน ทำให้บริษัทการบินไทยโดยฝ่ายครัวการบิน ได้เป็นผู้ดำเนินการให้บริการอาหารในส่วนของเที่ยวบินที่บินภายในประเทศด้วย ต่อมาฝ่ายบริหารของบริษัทได้ให้แยกกิจการ การบริการอาหารระหว่างสายการบินที่ทำการบินออกนอกประเทศและสายการบินที่บินภายในประเทศ โดยในส่วนของเที่ยวบินที่บินภายในประเทศนั้น ให้เป็นการดำเนินการของ

ฝ่ายภัตตาคารและโภชนาการภายในประเทศ ซึ่งแยกการดำเนินกิจการและการให้บริการออกจากกัน ทั้งนี้ด้วยเหตุผลในเรื่องการใช้วัตถุดิบและอุปกรณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวเนื่องกับคลังเสบียงท้ณฑ์บน

การผลิตอาหารของฝ่ายครัวการบิน มีลักษณะเป็นรุ่นเล็กๆ หลายๆรุ่น (Small batches, many runs) และมีการเปลี่ยนเมนูอาหารเป็นระยะๆ เช่น ทุกสองสัปดาห์ หรือทุกเดือน ตามความต้องการของลูกค้าแต่ละสายการบิน และลูกค้าอื่นๆ ใช้ raw materials และ ingredients กว่า 1,000 รายการ ปรุงประกอบอาหารตาม recipe specification เดือนละกว่า 1,200 ชนิด มีรายการอาหารกว่า 1,500 เมนู ครอบคลุมทั้งอาหารประจำชาติและศาสนาต่างๆ

ปัจจุบัน ฝ่ายครัวการบิน แบ่งการดำเนินการออกเป็น 2 อาคาร ได้แก่

1. อาคาร DC1 เปิดใช้ 8 พ.ค. 2532 ใช้ในการผลิตอาหารให้กับเที่ยวบินที่เดินทางออกไปนอกราชอาณาจักร ตัวอาคารสูง 4 ชั้น มีพื้นที่รวม 33,637 ตารางเมตร
2. อาคาร DC2 เปิดใช้ 21 ธ.ค. 2535 ใช้ในการผลิตอาหารให้กับเที่ยวบินภายในประเทศ กิจการภัตตาคาร กิจการ Puff&Pie กิจการรับจัดเลี้ยงทั้งในและนอกสถานที่ ตัวอาคารสูง 3 ชั้น มีพื้นที่รวม 16,000 ตารางเมตร

ทั้งสองอาคารมีระบบปรับอากาศ ระบบบำบัดทั้งน้ำดีและน้ำเสีย มีห้องเย็น 123 ห้อง ห้องแช่แข็ง 16 ห้อง พื้นที่สำหรับการผลิตอาหารได้รับการออกแบบตามหลักวิชาการ แยกเป็นสัดส่วนสำหรับการเตรียมวัตถุดิบที่ต่างชนิดกัน เน้นเรื่องสุขอนามัย และความปลอดภัยทางอาหาร เป็นสำคัญ

ฝ่ายครัวการบินมีพนักงานจำนวน 3,830 คน (ข้อมูลเดือน มีนาคม 2547) ผลิตอาหารและบริการเครื่องบินของการบินไทยทั้งภายในประเทศ ระหว่างประเทศ และสายการบินลูกค้าอีก 48ราย (ลูกค้าสายการบินหลัก ได้แก่ Singapore Airline : SQ : สิงคโปร์ , China Airline : CI : จีน , Cathay Pacific : CX : ฮ่องกง , EVA Air : BR : ไต้หวัน และอื่นๆ เช่น KE, SK, AF, IC, NH, OZ, RJ, ET ฯลฯ) ผลิตอาหารวันละ 68,000 ชุดต่อวัน (ทั้งเที่ยวบินในประเทศและระหว่างประเทศ) มีรายการอาหารกว่า 1,500 เมนู โดยอาคาร DC1 มีกำลังการผลิตประมาณ 126 เที่ยวบินต่อวัน แยกเป็น TG : 68 Flights , OA : 58 Flights ครอบคลุมทั้งอาหารประจำชาติ และศาสนาต่างๆ มีอัตราส่วนการผลิตอาหาร ของอาคาร DC1 คือ อาหารไทย 20% อาหารจีน 20% อาหารฝรั่ง 40% อาหารพิเศษ (เช่นมุสลิม,มังสะวิรัติ ฯลฯ) 18% และอาหารญี่ปุ่น 2%

ผลิตภัณฑ์ของฝ่ายครัวการบิน แบ่งออกเป็น 6 ประเภท ดังนี้

1) อาหารและบริการสำหรับเที่ยวบินต่างประเทศ
2) อาหารและบริการสำหรับเที่ยวบินในประเทศ
3) ผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มในชื่อ Puff & Pie
4) อาหารให้บริการที่ภัตตาคารสนามบิน ได้แก่ สนามบิน เชียงใหม่ เชียงราย และภูเก็ต
5) อาหารให้บริการที่แคนทีน เพื่อเป็นสวัสดิการพนักงาน ณ อาคารต่างๆ เช่น สำนักงานใหญ่, อาคารฝ่ายช่าง
6) อาหารจัดเลี้ยงตามสั่ง

ฝ่ายครัวการบินมีระบบการคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีคุณภาพมาประกอบอาหารพนักงานของฝ่ายครัวการบินได้รับการคัดเลือกและอบรมให้มีความรู้ความชำนาญเหมาะสมกับการปฏิบัติงานจึงมั่นใจได้ว่าอาหารที่ผลิตจากฝ่ายครัวการบินเป็นอาหารที่ได้มาตรฐาน และเป็นไปตามความต้องการของลูกค้า รสชาติและ คุณภาพเป็นที่ยอมรับจนได้รับรางวัลระดับนานาชาติหลายรางวัล และปัจจุบัน ฝ่ายครัวการบินได้รับการรับรองระบบมาตรฐานในระบบ HACCP, GMP และ ISO 9002 และยังได้รับรางวัลอุตสาหกรรมดีเด่นประเภทการบริหารงานคุณภาพ ประจำปี 2544 อีกด้วย

ฝ่ายครัวการบินได้มุ่งเน้นการบริหารจัดการที่ทันสมัย โดยนำหลักการจัดซื้อจัดหาอย่างมีธรรมาภิบาล (Good Procurement Governance) มาใช้ในการประกวดราคาการจัดซื้อวัตถุดิบประจำปีผ่านระบบอิเล็คโทรนิคส์ (e- Auction) เพื่อให้สามารถจัดซื้อวัตถุดิบที่มีคุณภาพดี อย่างโปร่งใส และประหยัดต้นทุน นอกจากนี้ ยังช่วยสนับสนุนผลผลิตจากโครงการหลวง แทนการสั่งซื้อจากต่างประเทศ มีการนำระบบ Good Agricultural Practices (GAP) มาใช้ในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ เพื่อให้ได้มาซึ่งวัตถุดิบที่มีคุณภาพดีเลิศ ในการผลิตของฝ่ายครัวการบินไทย

นอกจากนี้ ฝ่ายครัวการบินยังมีการนำระบบมาตรฐานสากลที่ได้รับการยอมรับ จากสมาคมผลิตอาหารสายการบินและองค์การอนามัยโลก มาประยุกต์ใช้ และได้การรับรอง ได้แก่ ระบบ Good Manufacturing Practices (GMP) เพื่อจัดสุขลักษณะในการผลิต ระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อประกันความปลอดภัยของอาหาร และระบบ ISO 9000 เพื่อจัดการระบบคุณภาพการผลิตสินค้าและบริการ เพื่อให้เกิดคุณภาพ สุขลักษณะ และความปลอดภัย ในอาหารและบริการ อีกทั้ง มีการนำหลักการของ Risk Analysis มาช่วยในการจัดความเสี่ยง นอกจากนี้ ยังเน้นการสร้างสรรค์ความหลากหลายของรายการอาหารเพื่อสร้างความประทับใจต่อลูกค้า ด้วยความเป็นเลิศ 4 มิติ คือ รูปลักษณ์ รสชาติ กลิ่น และคุณภาพ โดยมีแผนการนำคุณค่าและจุดเด่น ของสมุนไพรไทยมาประกอบอาหรเพื่อเป็นอาหารไทยเพื่อสุขภาพ ตามแนวคิด " สัมผัสเสน่ห์อาหารไทย " (Touches of the Thai Dish)

ปัจจุบันฝ่ายครัวการบินไทยได้รับการรับรองระบบ ISO 2000 แบบบูรณาการ (QHS) เมื่อวันที่ 27 ตุลาคม 2547 แล้ว รวมทั้งได้มีการดำเนินการสร้างครัวการบินแห่งใหม่ ณ สนามบินสุวรรณภูมิ เพื่อให้เสร็จทันกำหนดเปิดทำการ รวมทั้ง มีการดำเนินการศึกษาและเจรจา เพื่อดำเนิน โครงการกิจกรรมพิเศษของฝ่ายครัวการบิน เพื่อจำหน่ายอาหาร ไทยและผลิตภัณฑ์ในต่างประเทศ ที่นอกจากจะเป็นการสร้างรายได้ให้กับบริษัทแล้วยังเป็นการเผยแพร่เอกลักษณ์และชื่อเสียงของอาหารไทย ให้เป็นที่รู้จักทั่วโลกอีกด้วยนอกจากนี้ ฝ่ายครัวการบินยังส่งเสริมการใช้วัตถุดิบภายในประเทศและให้การสนับสนุนโครงการเกษตรกรรมของโครงการหลวงและของรัฐบาลหลายแห่ง ด้วยประสบการณ์ในการผลิตอาหารและให้บริการมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2503 และด้วยความมุ่งมั่นที่จะพัฒนาคุณภาพและการบริการอย่างต่อเนื่อง ฝ่ายครัวการบินเชื่อมั่นว่าผลิตภัณฑ์อาหารและการบริการของฝ่ายฯ จะสามารถตอบสนองความต้องการและความคาดหวังของลูกค้าได้เป็นอย่างดีเยี่ยมตลอดไป

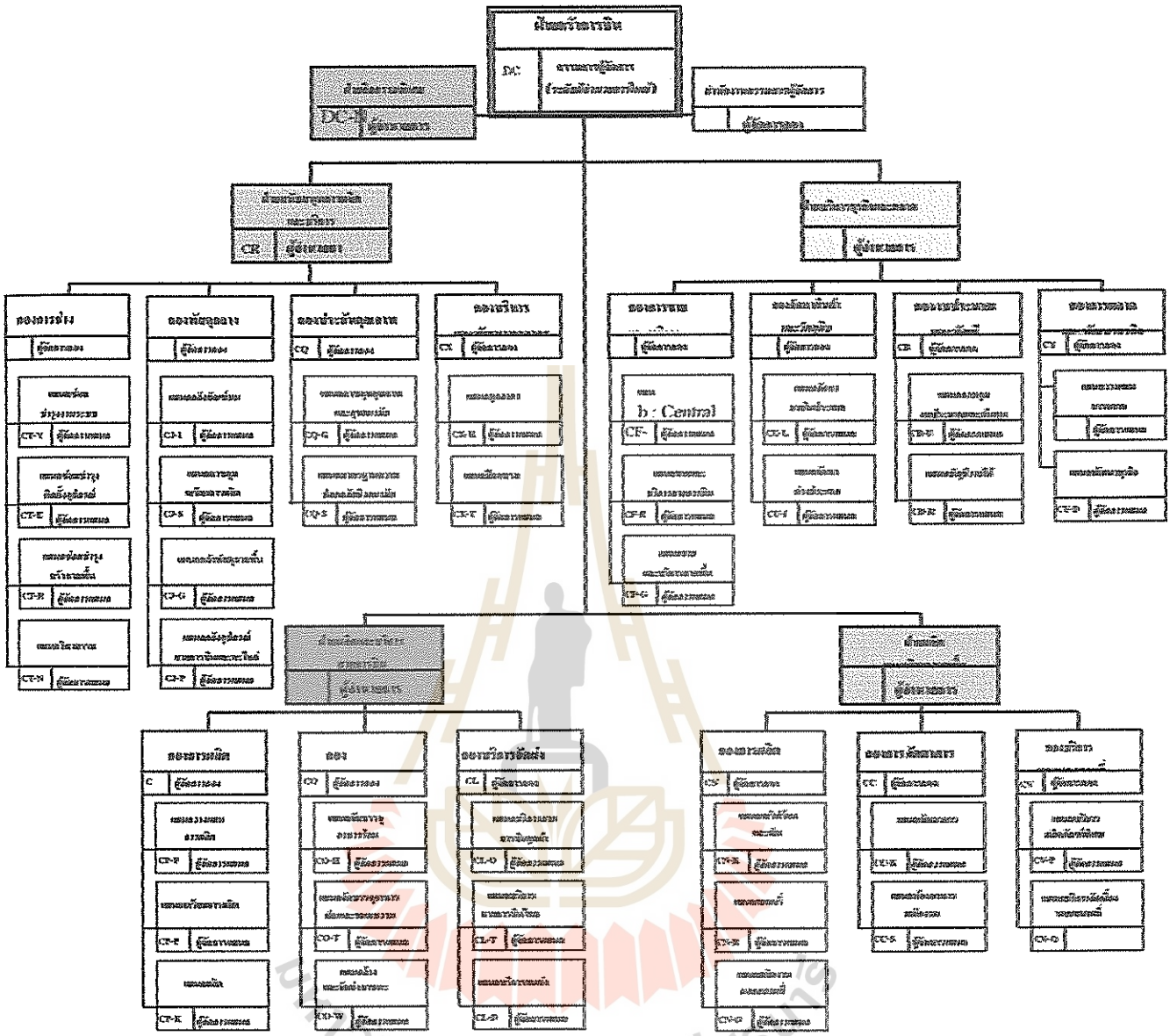
ประวัติความเป็นมาร้าน PUFF & PIE BAKERY HOUSE

ฝ่ายภัตตาคารและโภชนาการภายในประเทศ บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ได้ก่อตั้งร้านเบเกอรี่ Puff & Pie ขึ้นเมื่อประมาณปลายปี พ.ศ. 2538 โดยเริ่มก่อตั้งบริษัทร่วมกับสายการบิน SAS และได้เรียนรู้วิธีการทำเบเกอรี่จาก Chef ผู้มีความรู้/ความสามารถและประสบการณ์จากสายการบิน SAS จนกระทั่งบริษัท การบินไทย ได้แยกตัวออกมาเป็นอิสระ และได้จัดทำอาหารขึ้นเครื่องซึ่งมีผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มีคุณภาพและความสะอาด ให้บริการจนเป็นที่ยอมรับแก่ลูกค้าสายการบิน ดังนั้นเพื่อตอบสนองวัตถุประสงค์ดังกล่าว จึงได้ทดลองเปิดขายเบเกอรี่แห่งแรกขึ้น ณ อาคารผู้โดยสารระหว่างประเทศ (อาคาร 2) เมื่อวันที่ 5 ธันวาคม 2538 แต่เมื่อเปิดดำเนินการปรากฏว่าผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ของร้าน Puff & Pie ได้รับความนิยมจากลูกค้าอย่างรวดเร็ว และสามารถทำรายได้เพิ่มให้แก่ฝ่ายฯ เกินกว่าเป้าหมายที่กำหนด จึงทำให้ฝ่ายฯ ให้ความสำคัญกับกิจการดังกล่าวอย่างจริงจัง โดยตั้งเป้าหมายว่าจะต้องสร้างรายได้จากกิจการ Puff & Pie ให้เป็นรายได้หลักอีกทางหนึ่งนอกเหนือจากรายได้ Uplift และงานจัดเลี้ยง

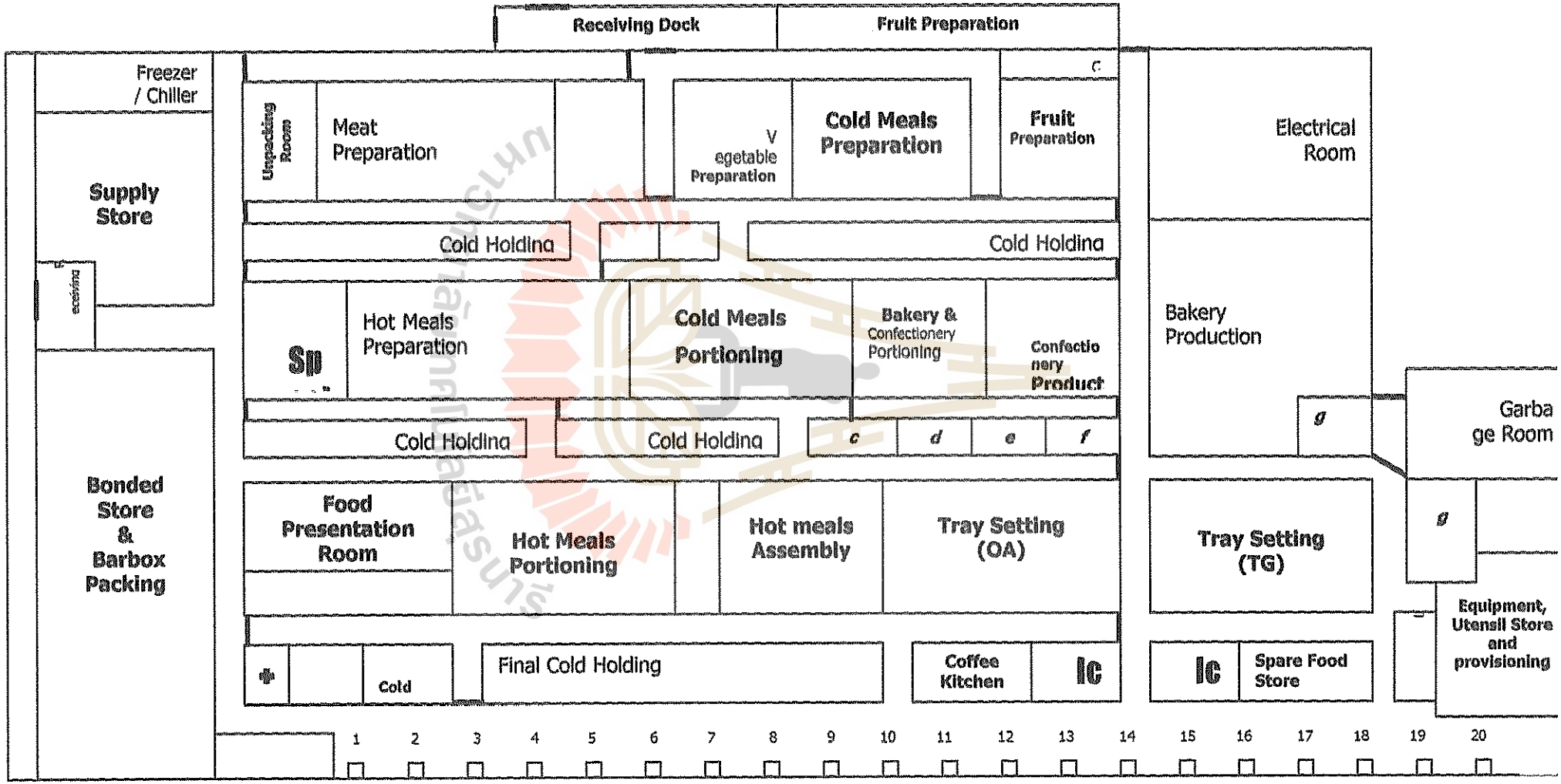
จากเป้าหมายดังกล่าว ทำให้ฝ่ายฯ ดำเนินการขยายสาขาของกิจการร้าน Puff & Pie เพิ่มขึ้น โดยในระยะแรกวางแผนที่จะเปิดขายในพื้นที่ที่เป็นของบริษัทการบินไทย เป็นลำดับแรก เนื่องจากไม่ต้องเสียค่าเช่าพื้นที่ และเพื่อเป็นสวัสดิการให้แก่พนักงาน ต่อมาได้รับการเรียกร้องจากลูกค้าให้ขยายสาขาเพิ่มในที่ต่าง ๆ เพื่อให้สามารถบริการลูกค้าในเขตอื่น ๆ ได้อย่างทั่วถึง ฝ่ายฯ จึงได้พิจารณาขยายสาขาในสถานที่ราชการและรัฐวิสาหกิจอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน ทำรายได้ให้ฝ่ายฯ ในรูปของเงินสดประมาณเดือนละ 15 ล้านบาท หรือประมาณปีละ 180 ล้านบาท

รูปแบบของร้าน Puff & Pie จะก่อสร้างเป็น Kiosk ขนาด 5*4 ถึง 6*4.5 เมตร โดยประมาณ มีหลังคาสีขาว-เหลืองเป็นสัญลักษณ์ ให้บริการจำหน่าย เบเกอรี่ที่อบใหม่ๆ ทุกวัน และนอกจากจะจำหน่ายผลิตภัณฑ์เบเกอรี่แล้ว ยังจำหน่ายอาหารสำเร็จรูปในรูปแบบ Take Home ด้วยเช่นกัน

รูปที่ 1 แผนภูมิโครงสร้างองค์กรฝ่ายครัวการบิน



รูปที่ 2 Layout อาคาร DC1



a : Japanese Meal Portioning
b : Central Can Opening
c : Bread Packing
d : Office
e : Chocolate Preparation
f : Clean Equipment Storage
g : Production-Equipment Washing

3. <u>นโยบายของบริษัท</u>

ฝ่ายครัวการบินได้มุ่งเน้นการบริหารจัดการที่ทันสมัย โดยนำหลักการจัดซื้อจัดหาอย่างมีธรรมาภิบาล (Good Procurement Governance) มาใช้ในการประกวดราคาการจัดซื้อวัตถุดิบประจำปีผ่านระบบอิเล็คโทรนิคส์ (e- Auction) เพื่อให้สามารถจัดซื้อวัตถุดิบที่มีคุณภาพดี อย่างโปร่งใส และประหยัดต้นทุน นอกจากนี้ ยังช่วยสนับสนุนผลผลิตจากโครงการหลวง แทนการสั่งซื้อจากต่างประเทศ มีการนำระบบ Good Agricultural Practices (GAP) มาใช้ในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ เพื่อให้ได้มาซึ่งวัตถุดิบที่มีคุณภาพดีเลิศ ในการผลิตของฝ่ายครัวการบินไทย

นอกจากนี้ ฝ่ายครัวการบินยังมีการนำระบบมาตรฐานสากลที่ได้รับการยอมรับ จากสมาคมผลิตอาหารสายการบินและองค์การอนามัยโลก มาประยุกต์ใช้ และได้การรับรอง ได้แก่ ระบบ Good Manufacturing Practices (GMP) เพื่อจัดสุขลักษณะในการผลิต ระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อประกันความปลอดภัยของอาหาร และระบบ ISO 9000 เพื่อจัดการระบบคุณภาพการผลิตสินค้าและบริการ เพื่อให้เกิดคุณภาพ สุขลักษณะ และความปลอดภัย ในอาหารและบริการ อีกทั้ง มีการนำหลักการของ Risk Analysis มาช่วยในการจัดความเสี่ยง นอกจากนี้ ยังเน้นการสร้างสรรค์ความหลากหลายของรายการอาหารเพื่อสร้างความประทับใจต่อลูกค้า ด้วยความเป็นเลิศ 4 มิติ คือ รูปลักษณ์ รสชาติ กลิ่น และคุณภาพ โดยมีแผนการนำคุณค่าและจุดเด่น ของสมุนไพรไทยมาประกอบอาหารเพื่อเป็นอาหารไทยเพื่อสุขภาพ ตามแนวคิด " สัมผัสเสน่ห์อาหารไทย " (Touches of the Thai Dish)

ปัจจุบันฝ่ายครัวการบินไทยได้รับการรับรองระบบ ISO 2000 แบบบูรณาการ (QHS) รวมทั้งได้มีการดำเนินการสร้างครัวการบินแห่งใหม่ ณ สนามบินสุวรรณภูมิ เพื่อให้เสร็จทันกำหนด รวมทั้ง มีการดำเนินการศึกษาและเจรจา เพื่อดำเนินโครงการกิจกรรมพิเศษของฝ่ายครัวการบิน เพื่อจำหน่ายอาหารไทยและผลิตภัณฑ์ในต่างประเทศ ที่นอกจากจะเป็นการสร้างรายได้ให้กับบริษัทแล้วยังเป็นการเผยแพร่เอกลักษณ์และชื่อเสียงของอาหารไทย ให้เป็นที่รู้จักทั่วโลกอีกด้วย นอกจากนี้ฝ่ายครัวการบินยังส่งเสริมการใช้วัตถุดิบภายในประเทศ และให้การสนับสนุนโครงการเกษตรกรรมของโครงการหลวงและของรัฐบาลหลายแห่ง ด้วยประสบการณ์ในการผลิตอาหารและให้บริการมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2503 และด้วยความมุ่งมั่นที่จะพัฒนาคุณภาพและการบริการอย่างต่อเนื่อง ฝ่ายครัวการบินเชื่อมั่นว่าผลิตภัณฑ์อาหารและการบริการของฝ่ายฯจะสามารถตอบสนองความต้องการและความคาดหวังของลูกค้าได้เป็นอย่างดีเยี่ยมตลอดไป

4. ระบบคุณภาพ การผลิตอาหารและบริการ

ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ดำเนินการผลิตอาหารและบริการ เพื่อให้บริการแก่ลูกค้าสายการบิน ทั้งสายการบินไทยและสายการบินต่างประเทศ โดยให้ความสำคัญต่อคุณภาพของสินค้าอาหารและบริการ ทั้งทางด้าน คุณภาพ สุขลักษณะ ความปลอดภัย ตรงตามความพอใจลูกค้า รวมทั้ง การส่งมอบที่ทันเวลา ด้วยบริการที่ประทับใจ โดยมีการพัฒนาระบบการบริหารและควบคุมคุณภาพให้เป็นเลิศยิ่งๆขึ้นไปอย่างต่อเนื่อง ตลอดการดำเนินงานที่ผ่านมา

ปัจจุบันฝ่ายครัวการบิน ได้มีการประยุกต์ใช้ระบบคุณภาพที่สำคัญ มีความทันสมัยและเป็นสากล เพื่อควบคุมคุณภาพและความปลอดภัย ในการผลิตอาหารและบริการ โดยมีการประยุกต์ใช้ระบบ GMP , HACCP และ ISO 9001 : 2000 แบบบูรณาการ (QHS)

4.1 ระบบคุณภาพ GMP

GMP หรือ Good Manufacturing Practices มีชื่อตามมาตรฐานสากลของ CODEX ว่า สุขลักษณะในการผลิตอาหาร (Food Hygiene) ซึ่งเป็นหลักการ ขั้นพื้นฐาน ในการผลิตอาหารให้มีความสะอาด ปลอดภัย และมีคุณภาพที่ดี รวมถึงการจัดอยู่ในโปรแกรมพื้นฐาน (Prerequisite Program) ของการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP

GMP หรือ สุขลักษณะในการผลิตอาหาร คือ มาตรการที่จำเป็นเพื่อก่อให้เกิดความมั่นใจในสุขลักษณะและความปลอดภัย ของอาหารที่ผลิตขึ้นให้แก่ผู้บริโภค โดยให้ความสำคัญ ตั้งแต่ กระบวนการผลิตวัตถุดิบ จนถึง ก่อนการบริโภคผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วยสุขลักษณะในเรื่องต่างๆดังนี้

- สุขลักษณะของกระบวนการผลิตวัตถุดิบ
- สุขลักษณะของกระบวนการผลิตอาหาร
- สุขลักษณะส่วนบุคคลในการผลิตอาหาร
- การแสดงข้อมูลของผลิตภัณฑ์อาหาร
- การออกแบบอาคารสถานที่ผลิต และสิ่งอำนวยความสะดวก
- การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา อาคารสถานที่ผลิต
- การขนส่งอาหาร/ผลิตภัณฑ์
- การฝึกอบรมพนักงาน

ฝ่ายครัวการบิน ได้มีการประยุกต์ใช้ระบบ GMP เพื่อให้เป็นพื้นฐานของสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหาร และเป็นพื้นฐานในการประยุกต์ ใช้ระบบ HACCP ของฝ่ายครัวการบิน โดยแสดงรายละเอียดไว้ในส่วนของ การดำเนินการโปรแกรมพื้นฐาน (Prerequisite Program) ในเอกสาร Food Safety Manual ของฝ่ายครัวการบิน รวมทั้งมีการควบคุมการดำเนินการให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้มั่นใจในสุขลักษณะของการผลิตอาหารและบริการของฝ่ายครัวการบิน โดยมีสุขลักษณะของการแปรรูปอาหารในด้านต่างๆ ดังนี้

1. <u>สุขลักษณะการจัดการวัตถุดิบ</u>

- ควบคุมการจัดการวัตถุดิบตั้งแต่แหล่งผลิต
- กำหนดเกณฑ์คุณภาพวัตถุดิบที่เหมาะสม
- ตรวจรับวัตถุดิบให้ได้ตามเกณฑ์คุณภาพ
- ตรวจสอบอุณหภูมิอาหารขณะตรวจรับ
- รีบนำวัตถุดิบที่ผ่านการตรวจรับเข้าเก็บในที่ที่เหมาะสม

2. <u>สุขลักษณะของการจัดเก็บวัตถุดิบ</u>

2.1เก็บในที่ที่เหมาะสม โดย

- ห้องเย็น อุณหภูมิ 4-7 °C จัดเก็บอาหารสด อาหารที่เน่าเสียหาย
- ห้องเย็น อุณหภูมิ 7-10 °C จัดเก็บผัก ผลไม้สด
- ห้องแช่แข็ง อุณหภูมิ -18 °C จัดเก็บอาหารแช่แข็ง
- ห้องเก็บที่อุณหภูมิห้อง จัดเก็บอาหารที่เน่าเสียยาก

<u>หลักการจัดเก็บอาหาร</u>

อุณหภูมิสูงกว่าเขตอันตราย คือ 60 °C ทำลายจุลินทรีย์ได้ตามระดับความร้อน และอุณหภูมิต่ำกว่าเขตอันตราย คือ 10 °C ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

2.2จัดเก็บเป็นหมวดหมู่ มีป้ายชี้บ่งชัดเจน

2.3การจัดเก็บต้องสามารถป้องกันการปนเปื้อน โดยเฉพาะการปนเปื้อนข้าม

2.4ควบคุมการเบิกจ่ายให้เป็นไปตามลำดับก่อน-หลัง <First In First Out/ FIFO>

2.5ควบคุมไม่ให้มีอาหารที่หมดอายุ

3. <u>สุขลักษณะของการเตรียมวัตถุดิบ</u>

3.1 ควบคุมอุณหภูมิของอาหารขณะเตรียมให้ไม่เกิน 15 °C

3.2 ควบคุมอุณหภูมิขณะ Thawing อาหารดิบแช่แข็ง อุณหภูมิไม่เกิน 10 °C

3.3 อาหารพร้อมบริโภคแช่แข็ง อุณหภูมิไม่เกิน 5 °C

3.4 ควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของแก้ว โลหะ สิ่งแปลกปลอม สารเคมีและจุลินทรีย์โดยเฉพาะจาก การปนเปื้อนข้าม (CROSS- CONTAMINATION) โดย ป้องกันการปนเปื้อนข้ามของจุลินทรีย์จาก อาหารดิบไปยังอาหารสุก หรือ จาก อาหารที่ยังไม่ผ่านกระบวนการไปยังอาหารที่ผ่านกระบวนการแล้ว

วิธีการป้องกันการปนเปื้อนข้าม

1.จัดสายการผลิตไปทางเดียวกันไม่ย้อนกลับ

2.แยกบริเวณ

3.แยกเครื่องมือเครื่องใช้ ภาชนะอุปกรณ์

4.แยกพนักงาน

5.จำกัดการผ่านเข้าออกของผู้ไม่เกี่ยวข้อง

6.การทำความสะอาด

7.แยกเวลา ของอาหารแต่ละชนิด

4. <u>สุขลักษณะของการปรุงอาหารให้สุก</u>

4.1 ควบคุมกระบวนการให้ความร้อนในการปรุงอาหารให้สุก เพื่อให้มั่นใจในความปลอดภัยของอาหาร หลักการฆ่าเชื้อ โดยการปรุงอาหารให้สุก

ต้องให้ความร้อนจนแกนกลาง ได้รับอุณหภูมิแกนกลางอาหาร ได้ตามเกณฑ์ที่กำหนด อุณหภูมิแกนกลางของอาหารหลังปรุงสุก

-สเต็ค ไม่ต่ำกว่า 65 °C

-ผลิตภัณฑ์ไข่ ไม่ต่ำกว่า 72 °C

-ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และ อื่นๆ ไม่ต่ำกว่า 74 °C

ตัวอย่าง: วิธีการเพื่อให้มั่นใจว่าอาหารผ่านการปรุงจนสุกเพียงพอ

-ควบคุมปริมาณของ เห็ด หน่อไม้ฝรั่ง ที่นำมาลวกในแต่ละครั้ง

-ควบคุมปริมาณความร้อนที่ใช้ และความหนาของอาหารที่นำมาปรุงให้สุก

4.2 ควบคุมกระบวนการลดอุณหภูมิอาหารหลังปรุงสุก เพื่อให้อุณหภูมิอาหารผ่านเขตอันตรายอย่างรวดเร็ว

-ลดอุณหภูมิแกนกลางของอาหารหลังปรุงสุก จากไม่ต่ำกว่า 65 °C เป็น ไม่เกิน 10°C ภายใน 4 ชั่วโมง

ตัวอย่าง: วิธีการเพื่อให้มั่นใจว่าอาหารผ่านการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วเพียงพอ

-อาหารที่นำเข้ามาลดอุณหภูมิใน บลาสต์ ชิลเลอร์ ต้องมีความหนาไม่เกิน 2 นิ้ว

-ไม่บรรจุซอสที่เพิ่งผ่านการให้ความร้อนใหม่ๆในภาชนะที่ลึกเกินไป

5. <u>สุขลักษณะของการปรุงประกอบอาหารเย็น</u>

-ควบคุมอุณหภูมิอาหารขณะเตรียมไม่เกิน15 °C

-ควบคุมไม่ให้เกดความล่าช้า

-ระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

ตัวอย่างวิธีการควบคุมด้านสุขลักษณะของอาหารเย็น

-นำอาหารออกนอกห้องเย็นเมื่อต้องการผลิตเท่านั้น โดยรีบทำการผลิต จากนั้นจึงรีบเก็บเข้าห้องเย็น

-ควบคุมความสะอาดของภาชนะอุปกรณ์ที่นำมาใช้งาน

-พนักงานมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีในการผลิต

6. <u>สุขลักษณะของการจัดเตรียมอาหารลงภาชนะ</u>

-ควบคุมอุณหภูมิอาหารขณะจัดลงภาชนะไม่เกิน15 °C

-ควบคุมไม่ให้เกดความล่าช้า

-ระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

7. <u>สุขลักษณะของการจัดถาดและการจัดบรรจุ</u>

-ควบคุมอุณหภูมิอาหารขณะจัดลงถาดและบรรจุลงในรถเข็นอาหาร ไม่เกิน15 °C

-ควบคุมไม่ให้เกความล่าช้า

-ระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

8. <u>สุขลักษณะของการลำเลียงและส่งมอบ</u>

-ควบคุมอุณหภูมิอาหารที่นำออกจากห้องเย็นเพื่อลำเลียง และส่งมอบ ไม่เกิน 7 °C

-ควบคุมไม่ให้เกความล่าช้า

-ระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

9. <u>สุขลักษณะส่วนบุคคลของพนักงาน</u>

-ดูแลรักษาสุขภาพ และความสะอาดของร่างกายและเครื่องแต่งกาย

-มีการปฏิบัติที่เหมาะสมไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในอาหาร

10. <u>สุขลักษณะของการทำความสะอาดและบำรุงรักษาอาคารสถานที่ผลิต</u>

-ดูแลรักษาความสะอาดของอาคารสถานที่และภาชนะอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

-บำรุงรักษาอาคารสถานที่และเครื่องมือ เครื่องจักร ให้อยู่ในสภาพดีอยู่เสมอ

-มีมาตรการกำจัดสัตว์พาหะนำเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพ

รูปที่ 3 แสดงช่วงของเขตอันตรายของอาหาร

4.2 <u>ระบบคุณภาพ HACCP</u>

Hazard Analysis Critical and Control Point (HACCP) เป็นระบบคุณภาพในการประกันความปลอดภัยของอาหารที่ผลิตขึ้น มีจุดเริ่มต้นในปี ค.ศ. 1960 จากโครงการผลิตอาหารให้แก่นักบินอวกาศขององค์กร NASA ของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งต้องการความมั่นใจสูงสุด ในการที่ผลิตอาหารขึ้นว่า จะไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่นักบินอวกาศที่ทำการปฏิบัติหน้าที่ใน อวกาศ จากนั้น ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารต่างๆและในปัจจุบันประเทศต่างๆ เช่น สหรัฐอเมริกาและประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ได้แนะนำให้มีการนำระบบ HACCP มาใช้โดยนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และได้เริ่มมีการออกกฎหมายเพื่อใช้บังคับใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารต่างๆ โดยเฉพาะอาหารที่ความเสี่ยงที่จะเกิดอันตรายได้ง่าย (High Risk Analysis) รวมทั้ง ได้กำหนดให้ประเทศผู้ผลิตที่ต้องการจะส่งสินค้าเข้าไปจำหน่ายในประเทศ จำเป็นจะต้องนำระบบ HACCP ไปประยุกต์ใช้เพื่อความปลอดภัยในการผลิต เช่น ในอุตสาหกรรม สัตว์น้ำแช่เยือกแข็ง และอุตสาหกรรมไก่สดแช่เยือกแข็ง ฯลฯ

HACCP คือระบบที่มีการระบุ ประเมิน และควบคุมอันตราย ซึ่งมีผลต่อความปลอดภัยของอาหาร เพื่อให้มั่นใจในคุณภาพ สุขลักษณะ และความปลอดภัย ของอาหารที่ผลิตขึ้น โดยมีการวิเคราะห์หาจุดควบคุมวิกฤต (Critical Control Point / CCP) ซึ่งเป็นจุดที่ต้องเน้นในการควบคุม และหากสูญเสียการควบคุมแล้ว อาจก่อให้เกิดอันตรายในอาหารที่ผลิตขึ้นให้บริการแก่ผู้บริโภคได้ ระบบ HACCP เน้นในด้านการควบคุมป้องกันมากกว่าการแก้ไขเมื่อเกิดปัญหาได้ขึ้นแล้ว ทำให้สามารถควบคุมอันตรายในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประกอบด้วยหลักการ 7 ข้อ

1. วิเคราะห์หาอันตราย และกำหนดมาตรฐานการควบคุม
2. กำหนดหาจุดควบคุมวิกฤต (Critical Control Point / CCP)
3. กำหนดค่าวิกฤต (Critical Limit)
4. กำหนดมาตรการตรวจติดตาม (Monitoring Procedure)
5. กำหนดการปฏิบัติการแก้ไขหากเกิดปัญหา (Corrective Action)
6. กำหนดมาตรการทวนสอบ (Verification Procedure)
7. ระบบเอกสาร และการจัดเก็บข้อมูล

ในการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ของฝ่ายครัวการบิน ได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่ ปี พ.ศ.2541 โดยมีการดำเนินการโปรแกรมพื้นฐาน (GMP) เพื่อเป็นมาตรการสุขลักษณะขั้นพื้นฐานและช่วยในการควบคุมอันตรายบางส่วน รวมทั้งช่วยในการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ตามรายละเอียดที่ได้กล่าวมาแล้วและได้กำหนดรายละเอียดการดำเนินการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ของฝ่ายครัวการบิน ไว้ในเอกสาร Food Safety Manual โดยมีแนวทางการประยุกต์ใช้ตามมาตรฐานสากลของ CODEX ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับในระดับสากลโดยเฉพาะในการตัดสินเกณฑ์คุณภาพของสินค้าอาหาร ขององค์กรการค้าโลก (WTO) เพื่อแก้ไขปัญหาการกีดกันทางการค้าของประเทศคู่ค้า

<u>HACCP Manual ของฝ่ายครัวการบิน</u> ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1. HACCP Plan อาหารที่ให้บริการสายการบินเที่ยวบินต่างประเทศ
2. HACCP Plan อาหารที่ให้บริการสายการบินเที่ยวบินในประเทศ
3. HACCP Plan ผลิตภัณฑ์ Puff & Pie

<u>จุดควบคุมวิกฤต (CCP) ในการผลิตอาหารฝ่ายครัวการบิน</u> มี 6 จุด ดังนี้

1. CCP 1 : อุณหภูมิของวัตถุดิบขณะตรวจรับ

ขั้นตอน : การรับวัตถุดิบ

อันตราย : การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าวิกฤติ : Chilled Food <8 °C

Frozen Food ไม่มีการละลายของน้ำแข็ง

การตรวจติดตาม : วัดอุณหภูมิอาหารทุกครั้งขณะรับวัตถุดิบที่มีความเสี่ยงสูง

การปฏิบัติการแก้ไข : อุณหภูมิ 5-8 °C ให้รีบนำเข้าห้องเย็น

อุณหภูมิ >8 °C ให้ส่งคืนวัตถุดิบหรือสินค้านั้นๆ

อาหารแช่แข็ง มีการละลาย ให้ส่งคืนสินค้านั้นๆ

2. CCP2 : การเก็บรักษาอาหาร ด้วยความเย็น

ขั้นตอน : การเก็บในห้องเย็น หรือ ห้องแช่แข็ง

อันตราย : การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าวิกฤติ : Chilled Food <8 °C

Frozen Food ไม่มีการละลายของน้ำแข็ง

การตรวจติดตาม : ตรวจวัดอุณหภูมิของห้องแช่เย็น และห้องแช่แข็งทุกวัน

การปฏิบัติการแก้ไข : ห้องเย็นอุณหภูมิ 5-8 °C ให้วัดอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ที่แช่อยู่ ถ้าผลิตภัณฑ์อุณหภูมิ >8 °C ให้ย้ายไปแช่ที่ตู้อื่น และทำการซ่อมตู้แช่ที่มีปัญหา ส่วนผลิตภัณฑ์แช่แข็งถ้ามีการละลาย ให้ รีบใช้ภายในระยะเวลาที่กำหนด

3. CCP3 : อุณหภูมิในการปรุงอาหารให้สุก

ขั้นตอน : การปรุงประกอบอาหาร (Cooking)

อันตราย : การเหลือรอดชีวิตของจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าวิกฤติ : Egg Products มากกว่าหรือเท่ากับ 72 °C

Meat, Fish, Seafood, Other Products มากกว่าหรือเท่ากับ 74 °C

การตรวจติดตาม : วัดอุณหภูมิแกนกลางอาหารทุกครั้งที่ปรุงประกอบอาหารเสร็จทันที

การปฏิบัติการแก้ไข : นำอาหารที่ยังไม่สุก มาปรุงต่อให้สุก

4. CCP4 : การลดอุณหภูมิของอาหารหลังปรุงสุก

ขั้นตอน : การลดอุณหภูมิ (Chilling / Rapid Cooling)

อันตราย : การเจริญเพิ่มจำนวนของสปอร์ที่หลงเหลืออยู่ และ
ของจุลินทรีย์ก่อโรค หลังการปรุงสุก

ค่าวิกฤติ : ลดอุณหภูมิของอาหารหลังปรุงสุกจาก 65 °C ลงไปถึง 10 °C
ภายในเวลา 4 ชั่วโมง

การตรวจติดตาม : จับเวลาและอุณหภูมิอาหารทุกครั้งที่ทำการลดอุณหภูมิ
โดยวัดบริเวณที่หนาที่สุดของอาหาร

การปฏิบัติการแก้ไข : หาวิธีลดอุณหภูมิของอาหารให้เร็วขึ้น เช่น การใส่ภาชนะที่บางลง
วางภาชนะให้มีการกระจายมากขึ้นและทบทวนไม่ให้เกิดปัญหาในครั้งต่อไป

5. CCP5 : อุณหภูมิของอาหารขณะเตรียม จัดลงภาชนะ และ จัดบรรจุ

ขั้นตอน : การประกอบอาหาร, จัดอาหารลงภาชนะ เป็นต้น

อันตราย : การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าวิกฤติ : อุณหภูมิอาหาร ไม่เกิน 15 °C

การตรวจติดตาม : วัดอุณหภูมิอาหารหลังเสร็จสิ้นกระบวนการปฏิบัติงานทุกครั้ง

การปฏิบัติการแก้ไข : อุณหภูมิอาหารเกิน 15°C ให้รีบนำเข้าห้องเย็นเพื่อลดอุณหภูมิอย่าง
รวดเร็วทันที

6. CCP6 : อุณหภูมิของอาหารก่อนนำส่งให้ลูกค้า

ขั้นตอน : การขนส่งอาหาร

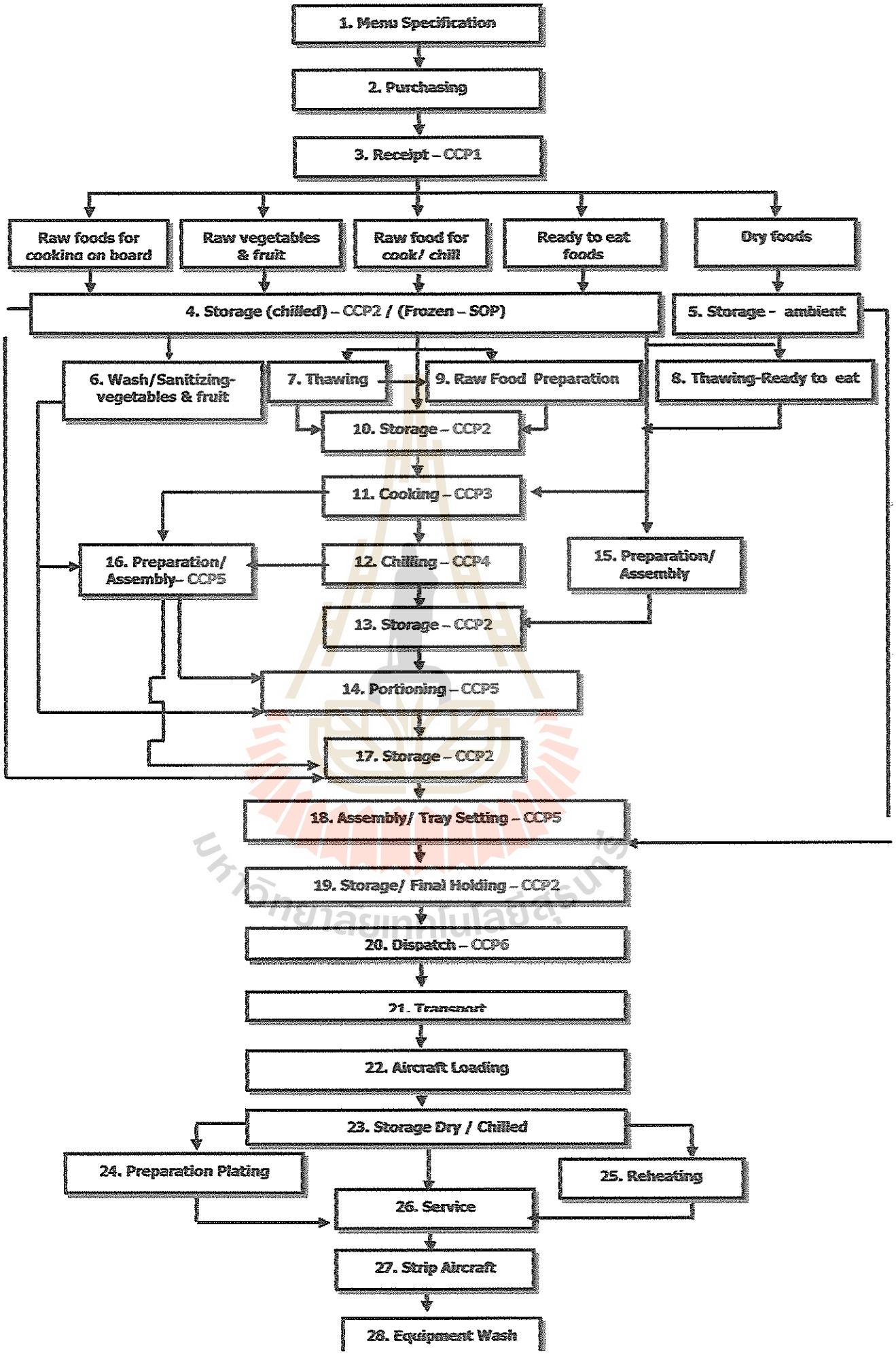
อันตราย : การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าวิกฤติ : อุณหภูมิของอาหาร ไม่เกิน 8°C

การตรวจติดตาม : วัดอุณหภูมิอาหารทันทีก่อนทำการขนส่งอาหารให้กับลูกค้า

การปฏิบัติการแก้ไข : ให้ใส่น้ำแข็งแห้ง เพื่อช่วยลดอุณหภูมิของอาหารให้ไม่เกิน 8°C

รูปที่ 4 แผนภูมิขั้นตอนการผลิตอาหารบริการเที่ยวบินระหว่างประเทศ



4.3 <u>ระบบคุณภาพ ISO 9000</u>

มาตรฐาน ISO 9000 คือ มาตรฐานซึ่งกำหนดโดยองค์การมาตรฐานสากล (International Organization for Standardization/ ISO) ในเรื่องของ **"ระบบการจัดการคุณภาพของการผลิตสินค้าและบริการ"**

ฝ่ายครัวการบินได้ประยุกต์ใช้ มาตรฐาน ISO 9002 ในการบริหารจัดการระบบคุณภาพขององค์กร ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2539 ที่ผ่านมา โดยจัดให้มี Quality Management Representative (QMR) ทำหน้าที่บริหารจัดการระบบคุณภาพ มีการกำหนดนโยบายคุณภาพ คือ "คุณภาพที่วางใจได้ และเป็นที่พึงพอใจของลูกค้า" รวมทั้ง กำหนดโครงสร้างของเอกสาร คือ <u>Quality Manual</u> (QM) , <u>Quality Procedure</u> (QP) , <u>Work Instruction</u> (WI) และ เอกสารอื่นๆเพื่อช่วยให้การดำเนินการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ตรงตามข้อกำหนดในมาตรฐาน

ทั้งนี้ มาตรฐาน ISO 9000 ฉบับล่าสุด คือ ฉบับปี 2000 (version 2000) ประกอบด้วยมาตรฐานในการประยุกต์ใช้และขอรับรองเพียงมาตรฐานเดียว คือ **ISO 9001 : 2000** ซึ่งเน้นการจัดการคุณภาพทั้งระบบตามแนวทางของ Total Quality Management (TQM) ร่วมกับการบริหารจัดการเชิงธุรกิจ เพื่อให้สามารถจัดการคุณภาพทั้งระบบได้อย่างมีประสิทธิภาพ และบรรลุเป้าหมายองค์การเชิงธุรกิจ โดยใช้หลักการของวงจรคุณภาพ (Plan, Do, Check, Act) ร่วมกับ Quality Management Principles คือ

- Customer Focus
- Leadership
- Involvement of People
- Process Approach
- System Approach to Management
- Continual Improvement
- Factual Approach to Decision Making
- Mutually Beneficial Supplier Relationships

ในส่วนของมาตรฐานประกอบด้วยหัวข้อต่าง ๆ 9 หัวข้อ คือ

- บทนำ
- ขอบข่าย
- มาตรฐานอ้างอิง
- บทนิยาม
- ระบบการบริหารงานคุณภาพ
- ความรับผิดชอบด้านการบริหาร
- การบริหารด้านทรัพยากร

- การผลิต (และ/หรือ การบริการ)
- การวัด การวิเคราะห์ และการปรับปรุง

ต่อมา ฝ่ายครัวการบิน ได้ดำเนินการบูรณาการ ระบบบริหารคุณภาพ (ISO 9001 : 2000) ระบบสุขลักษณะ (GMP) และระบบความปลอดภัยในอาหาร (HACCP) ของฝ่ายฯ เข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการประยุกต์ใช้ ลดความซ้ำซ้อนด้านเอกสาร และเพื่อยกระดับให้ทันสมัย ให้เป็นไปตามมาตรฐานสากลที่ปรับปรุงแก้ไขใหม่ โดยให้ชื่อว่า **ระบบ QHS**

Q คือ **Quality** หมายถึง การบริหารจัดการด้านคุณภาพ เพื่อทำให้ ผลิตภัณฑ์อาหาร และการบริการของฝ่ายครัวการบิน มีความเป็นเลิศในทุกด้าน เป็นไปตามข้อกำหนด เป็นไปตามความต้องการของลูกค้า และสร้างความพึงพอใจให้แก่ลูกค้า โดยประยุกต์ใช้ระบบบริหารคุณภาพ **ISO 9001:2000**

H คือ **Hygiene** หมายถึง ระบบที่ทำให้ สถานที่ บุคลากร เครื่องมืออุปกรณ์ และกระบวนการผลิตอาหาร และการบริการของฝ่ายครัวการบินได้รับการควบคุมให้สะอาด ถูกต้องตามหลักสุขลักษณะอาหาร โดยประยุกต์ใช้ข้อกำหนด **GMP**

S คือ **Safety** หมายถึง ผลิตภัณฑ์อาหาร และการบริการของฝ่ายครัวการบิน จะได้รับการจัดการให้มั่นใจว่า ปลอดภัยต่อผู้โดยสาร สายการบินลูกค้า และผู้บริโภค โดยประยุกต์ใช้ระบบ **HACCP**

เมื่อวันที่ 24 พฤษภาคม 2547 ฝ่าย ฯ ได้จัดพิธีเปิดงาน "ครัวการบินไทยมุ่งสู่มาตรฐานโลก QHS เชิงบูรณาการ" และได้ถือเอาวันนั้น เป็นวันเริ่มนำระบบ QHS ไปปฏิบัติ

QHS ของครัวการบิน จึงเป็นการยกระดับระบบความปลอดภัยในอาหารของฝ่าย ฯ ให้เป็นไปตามมาตรฐานขององค์การมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ ที่ปรับปรุงใหม่เมื่อปี 2546 และ

QHS ยังสอดคล้องกับมาตรฐาน World Food Safety Guidelines ฉบับปี 2546 ของสมาคมการบริการอาหารสายการบินระหว่างประเทศ (International Flight Catering Association - IFCA และ International Inflight Food Service Association – IFSA) อีกด้วย

ฝ่าย ฯ ได้รับการตรวจประเมินระบบ QHS จาก BVQI เมื่อวันที่ 26 และ 27 ตุลาคม 2547 และ**ได้รับการรับรองระบบ QHS แล้ว ตั้งแต่วันที่ 27 ตุลาคม 2547 เป็นต้นมา**

ทั้งนี้ ฝ่ายครัวการบินยังไม่หยุดยั้งในการพัฒนาคุณภาพของอาหารและบริการ โดยมีโครงการที่จะนำระบบการจัดการอื่นๆ เช่น ISO 14000 , มอก. 18000 , TQM มาใช้ เพื่อให้เกิดการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง (Continuous Improvement) เพิ่มศักยภาพในการแข่งขันทางธุรกิจ รวมทั้ง ส่งมอบอาหารและบริการที่เป็นเลิศยิ่งๆขึ้นแก่ลูกค้า

5. การทวนสอบคุณภาพอาหารโดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การทวนสอบการจัดการคุณภาพและสุขลักษณะของการผลิตอาหาร มีรายละเอียดตามบทที่ 2

6. การปรับสภาพน้ำ

ระบบน้ำใช้ในฝ่ายครัวการบิน อาคาร DC1

น้ำประปา

↓

บ่อพัก

↓

ตรวจหาปริมาณคลอรีน (ควบคุมให้อยู่ระหว่าง 0.28-0.38 ppm)

→ ผ่าน Sand Filter → **1. น้ำใช้ทั่วไป (ใช้ล้างพื้น, ล้างถนน, ล้างรถ, ใช้ในห้องน้ำ**

→ ผ่าน Softener (ควบคุมให้ค่าความกระด้าง ไม่เกิน 20 ppm as $CaCO_3$)

(ภายใน Softener บรรจุ Resin ซึ่งมีประจุเป็น ลบ , เมื่อจับกับ Mg^{2+}และ Ca^{2+} ซึ่งมีประจุเป็น บวก จะทำให้ความกระด้างในน้ำลดลง เมื่อใช้ไปนานๆ ประจุลบของ resin จะจับกับประจุบวก ของสารที่มีอยู่ในน้ำจนหมด ทำให้ต้องมีการล้าง resin ด้วย น้ำเกลืออิ่มตัว (Saturated NaCl Solution) เพื่อให้ NaCl แตกตัวได้ประจุ Na^{+} และ Cl^{-} จับกับ Mg^{2+}และ Ca^{2+} ทำให้ resin มีประจุอิสระดังเดิม)

→ **2. น้ำใช้ใน Boiler, Hot Generator (เครื่องทำน้ำร้อน), เครื่องล้างภาชนะทั่วไป, เครื่องซักผ้า และ Cooling Tower**

ขั้นตอนการทำความสะอาด Softener

1) ใช้น้ำธรรมดา Back Wash นาน 15 นาที
2) ใช้น้ำเกลืออิ่มตัว (ปัจจุบันใช้น้ำเกลือ 25%) ทำการ Back Wash นาน 45 นาที
3) ทำการ Slow Rinse โดย Direct Wash นาน 15 นาที
4) ทำการ Final Rinse โดย Direct Wash นาน 5-10 นาที

หมายเหตุ ปัจจุบัน มี Softener ที่ใช้งานอยู่ 3 เครื่อง การทำความสะอาด จะทำการตรวจสอบค่าความกระด้างว่าเกิน 20 ppm หรือไม่ และล้างทำความสะอาดเดือนละ 300-400 ลูกบาศก์เมตรของน้ำที่ไหลผ่าน (ปัจจุบัน มีการล้างทำความสะอาด Softener ทุกวัน โดยทำการล้างครั้งละเครื่อง)

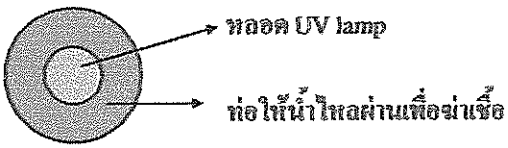
→ ผ่าน Activated Carbon Filter เพื่อกำจัด สี, กลิ่น, คลอรีน

(ทำความสะอาดโดยใช้น้ำ Back Wash ทุก 8 ชม.)

↓

ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำ โดยใช้ UV lamp

(หลอด UV lamp มีอายุการใช้งานประมาณ 7,000 ชม. จากนั้นต้องเปลี่ยนหลอดใหม่ เพื่อควบคุมค่าของคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาเพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อในน้ำ Flow Rate ของน้ำไม่เกิน 72 ลูกบาศก์เมตร/ชั่วโมง ขึ้นกับประสิทธิภาพของหลอด UV ที่ใช้)



3. น้ำดื่ม , น้ำทำน้ำแข็ง , น้ำใช้ในการผลิตอาหาร

↓

ผ่านเข้า Tank ที่มีการเติม Sodium bisulphite (Na_2SO_3) และ Sodium hexameta Phosphate

เพื่อกำจัดคลอรีน ให้เหลือน้อยกว่า 0.1 ppm เนื่องจาก Reverse Osmosis Membrane ไม่ทนทานต่อคลอรีน

↓

ผ่าน Filter Cartridge ขนาด 5 Micron

↓

ผ่าน Reverse Osmosis Membrane โดยใช้แรงดัน 280 PSI

(ควบคุมค่า Conductivity ของน้ำให้ไม่เกิน 20 megaOHM,

ถ้าเกิน จะทำการ Cleaningระบบด้วยสารเคมี (โดยปกติจะทำทุก 3 เดือน)

↓

4. น้ำ Demineralization (Reverse Osmosis Water) ใช้สำหรับ

→ ผ่าน Mixed Bed Tank ซึ่งบรรจุด้วย resin 2 ชนิด ควบคุมให้ค่า Conductivity ไม่เกิน 1.5 MicroSiemen

(การล้าง resin ชนิดนี้ ทำได้โดย การใช้สารละลาย 36% HCl และ 36% NaOH Back Wash Feed เข้าไปพร้อมกัน)

↓

5. น้ำ Demineralization (Mixed Bed Water) ใช้สำรองสำหรับล้าง

7. การบำบัดน้ำเสีย และการกำจัดขยะ

ระบบบำบัดน้ำเสียของฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน)

บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ได้ก่อสร้างอาคารฝ่ายครัวการบินปัจจุบันขึ้นบนเนื้อที่ 26 ไร่ 2 งาน มีเนื้อที่การใช้งานประมาณ 30,000 ตารางเมตร มีกำลังผลิตอาหารได้ 68,000 ที่ต่อวัน ในการผลิตอาหารนั้น ฝ่ายครัวการบินจะควบคุมเรื่อง HYGINE และคุณภาพของอาหาร โดยใกล้ชิด ทั้งนี้เพื่อให้อาหารที่ผลิตได้มาตรฐานตามความต้องการของสายการบินต่างๆ ที่ได้ใช้บริการของ ฝ่ายครัวการบิน

ปัจจุบันนี้ เกือบ 80 เปอร์เซ็นต์ ของสายการบินที่ได้มาลงที่ท่าอากาศยานกรุงเทพฯ สั่งอาหารจากฝ่ายครัวการบิน และจะมีแนวโน้มที่จะมีสายการบินลูกค้าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นเมื่อการผลิตอาหารเพิ่มจำนวนมากขึ้น ปริมาณน้ำทิ้งยิ่งมากขึ้นตามไปด้วยทางฝ่ายครัวการบินได้ตระหนักถึงความสำคัญของปัญหาสิ่งแวดล้อมได้นานัปการ เช่น มีกลิ่นเน่าเหม็น และอาจเป็นตัวการที่ทำการแพร่เชื้อโรคต่าง ๆ ฯลฯ

ดังนั้น ทางฝ่ายครัวการบิน ซึ่งเห็นความสำคัญของปัญหาดังกล่าวข้างต้น จึงได้จัดสร้างระบบบำบัดน้ำเสียที่เรียกได้ว่ามีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อควบคุมและป้องกันมลภาวะเป็นพิษเนื่องมาจากน้ำทิ้ง

ประวัติความเป็นมา

อันเนื่องมาจากการขยายขบวนการผลิตและมีปริมาณน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ทางฝ่ายครัวการบินจึงเห็นความเหมาะสมที่จะมีระบบบำบัดน้ำเสียเป็นของตัวเอง ซึ่งจะทำให้สะดวกในการควบคุมดูแลและสามารถลดค่าใช้จ่ายในบางส่วน จึงได้ทำการจ้างบริษัทวิศวกรที่ปรึกษา ซึ่งมีความรู้ความชำนาญด้านการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียมาเก็บข้อมูลและศึกษา เพื่อการออกแบบที่เหมาะสม หลังจากใช้เวลาเก็บข้อมูล

และศึกษาแล้ว บริษัทวิศวกรที่ปรึกษา ได้เลือกใช้ระบบบำบัดน้ำเสียเป็นระบบแบบเติมอากาศเลี้ยงตะกอน (ACTIVATED SLUDGE SYSTEM) ซึ่งระบบดังกล่าวได้เริ่มใช้งานมาพร้อม ๆ กับการเปิดขยายของฝ่ายครัวการบิน

<u>หลักการสำคัญ</u>

ระบบบำบัดน้ำเสียที่ทางบริษัทวิศวกรที่ปรึกษาได้ออกแบบให้กับฝ่ายครัวการบินมีหลักการที่สำคัญ คือ การทำให้ของเสียในน้ำทิ้ง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ฯลฯ ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (Aerobic Bacteria) ทำให้ของเสียหรือสารอินทรีย์ดังกล่าวกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และบางส่วนจะกลายเป็นส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียที่เกิดเพิ่มขึ้นใหม่ในระบบ ส่วนที่เป็นน้ำผสมกับตะกอนแบคทีเรีย เมื่อผ่านขบวนการตกตะกอนในถังตกตะกอน น้ำที่ไหลล้นออกมาจะมีลักษณะใส สามารถนำไปเติมคลอรีนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนปล่อยลงท่อระบายน้ำสาธารณะได้ สำหรับแบคทีเรียที่ตกตะกอนอยู่ในถังตกตะกอน ส่วนหนึ่งจะถูกกลับไปใช้งานในบ่อเติมอากาศ เพื่อย่อยสลายของเสียในน้ำทิ้งใหม่ และอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำเข้าไปในบ่อหมักเพื่อให้แบคทีเรียเกิดภาวะการย่อยสลายตัวเองจนไม่มีภาวะเรื่องกลิ่นเหม็น จากนั้นจึงกำจัดทิ้ง โดยการเพิ่มความเข้มข้นและผ่านขบวนการกรองด้วยเครื่องอัดตะกอน (Filter Press) ซึ่งจะได้ออกมาในรูปตะกอนแข็ง (Sludge Cake) ตะกอนแข็งดังกล่าวอาจนำไปถมที่หรือทำเป็นปุ๋ยได้

<u>ขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสีย</u>

ระบบบำบัดน้ำเสียที่ผ่านฝ่ายครัวการบินใช้อยู่นี้ มีขบวนการที่พอจะแบ่งออกได้เป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> น้ำเสียที่เกิดจากขบวนการผลิต (Raw Waste) จะถูกส่งผ่านตะแกรงดักขยะ (Screening) ซึ่งจะจับขยะที่เป็นชิ้นใหญ่ไว้ ต่อจากนั้นจะถูกส่งไปยังถังเก็บกักน้ำ (Equalization Tank) ซึ่งจะมีการกวนอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาเพื่อป้องกันการตกตะกอน และช่วยในการผสมกันอย่างทั่วถึง

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> น้ำเสียจะถูกสูบเข้ากระบวนการแยกไขมัน (Floatation Unit) ไขมันที่มีอยู่ในน้ำเสียจะถูกฟองอากาศจับขึ้นมาลอยอยู่บนผิวหน้าของระดับน้ำ และไขมันจะถูกกวาดเข้าไปเก็บไว้ที่บ่อเก็บไขมัน เพื่อนำไปบำบัดในขั้นต่อไป ในขั้นตอนนี้จะมีตะกอนของแข็งบางส่วนตกตะกอนลงมา ซึ่งทำให้ค่า BOD ในน้ำทิ้งลดลงได้บ้าง

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> น้ำเสียที่ผ่านจากขั้นตอนที่ 2 จะถูกผ่านเข้าไปในถังเติมอากาศ ซึ่งมีแบคทีเรียชนิดที่ต้องการอากาศ ทำการย่อยสลายของเสีย หรือสารอินทรีย์ให้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเกิดเซลล์แบคทีเรียเพิ่มขึ้น

<u>ขั้นตอนที่ 4</u> ส่วนผสมของน้ำเสีย ตะกอนแบคทีเรียจากขั้นตอนที่ 3 จะถูกส่งไปยังถังตกตะกอน (Sedimentation Tank) ซึ่งถังตกตะกอนนี้ น้ำและตะกอนจะแยกออกจากกัน น้ำซึ่งลักษณะใสจะไหลล้นออกไปยังบ่อพักน้ำ (Effluent Pit & Mixing Tank) เพื่อทำการเติมคลอรีนฆ่าจุลินทรีย์ จากนั้นจึงปล่อยลงสู่ท่อระบายน้ำสาธารณะ

<u>ขั้นตอนที่ 5</u> ตะกอนจากถังตกตะกอน ในขั้นตอนที่ 4 ซึ่งมีความเข้มข้นของแบคทีเรียที่มีชีวิตสูง จะถูกส่งเข้าบ่อสูบตะกอน (Sludge Pit) ตะกอนส่วนหนึ่งจะถูกส่งกลับเข้าถังเติมอากาศ เพื่อย่อยสลายของเสียหรือสารอินทรีย์ในน้ำเสียต่อไปใหม่ ตะกอนส่วนหนึ่งจะถูกส่งเข้าไปยังบ่อหมักตะกอน (Sludge Digestion Tank) เพื่อบำบัดภาวะเรื่องกลิ่นเหม็นที่อาจจะเกิดขึ้น จากนั้นจะถูกส่งเข้าไปในถังเพิ่มความเข้มข้น (Thickener) และชุดปรับสภาพตะกอน ตามลำดับ เสร็จแล้วจะถูกส่งต่อไปเข้าขบวนการอัดตะกอน ได้ตะกอนแข็ง ออกมา ซึ่งสามารถนำไปใช้ถมที่หรือใช้แทนปุ๋ยได้ ส่วนน้ำที่ออกมาจากขบวนการอัดตะกอนจะถูกส่งกลับไปยังถังเก็บกักน้ำ เพื่อเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียอีกครั้งหนึ่ง

<u>ประสิทธิภาพ</u>

ระบบบำบัดน้ำเสียที่ได้ทำการก่อสร้างและใช้งานมาจนถึงปัจจุบันนี้มีประสิทธิภาพสูงมาก ระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวสามารถรับน้ำทิ้งได้ถึงวันละ 2000ลูกบาศก์เมตร และสามารถบำบัดค่า BOD ได้ไม่น้อยกว่า 1250 กิโลกรัมต่อวัน โดยสามารถทำให้น้ำทิ้งหลังจากผ่านระบบบำบัดออกมาแล้วมีค่า BOD ต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในข้อกำหนดของทางกรมโรงงาน กระทรวงอุตสาหกรรม

<u>ผลสรุปของระบบบำบัดน้ำเสีย</u>

จากประสิทธิภาพของระบบบำบัด ค่า BOD ของน้ำทิ้งสูง ทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้งานอยู่ในปัจจุบัน สามารถบำบัดและปล่อยน้ำทิ้งที่มาจากกระบวนการผลิตของฝ่ายครัวการบิน ให้มีค่า BOD ของน้ำทิ้งก่อนลงสู่ท่อระบายน้ำสาธารณะ ได้ตามมาตรฐานข้อกำหนดของกระทรวงอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการพิสูจน์ได้ว่า น้ำทิ้งที่ออกจากขบวนการผลิตของฝ่ายครัวการบินนั้น ทางฝ่ายครัวการบินได้ทำการป้องกันมิให้เกิดมลภาวะเป็นพิษแก่สภาวะแวดล้อมส่วนรวม อย่างไรก็ตาม ฝ่ายครัวการบินมีวิศวกร และนักเคมีทำการควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าว อย่างใกล้ชิดตลอดเวลา เพื่อรับปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคตและเป็นหลักประกันว่า จะไม่ทำให้เกิดมลภาวะเป็นพิษแก่สภาวะแวดล้อมส่วนรวมต่อไป

การกำจัดขยะ

1. ขยะเปียกหรือขยะสด

โดยปกติขยะเปียกหรือขยะสดมักเป็นขยะที่เป็นเศษอาหารหรือขยะที่ส่งกลิ่นเหม็น ในกรณีบริเวณของบริเวณผลิตจะจัดให้มีถังขยะที่มีฝาปิดรองรับ เพื่อไม่ให้ส่งกลิ่นล่อแมลงและสัตว์นำโรคเข้ามาในบริเวณผลิต ถังขยะที่มีฝาปิดนี้เป็นชนิดเท้าเหยียบ เพื่อป้องกันไม่ให้พนักงานจับต้องฝาถังที่สกปรก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ถังขยะควรสามารถล้างทำความสะอาดได้ง่าย ทำด้วยวัสดุที่ทนทาน ไม่รั่วซึมได้ง่าย และมีถุงขยะรองรับภายในอีกชั้นหนึ่งเพื่อให้สามารถนำขยะออกจากบริเวณการผลิตได้โดยง่าย ทางฝ่ายผลิตจะดูแลจัดการให้มีการลำเลียงขยะออกจากบริเวณผลิตตามระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้มีการสะสมของขยะในบริเวณผลิตมากเกินไป ขยะที่นำออกจากบริเวณผลิตจะใส่ในถุงขยะและรัดปากถุงให้สนิท แล้วนำไปทิ้งในบริเวณทิ้งขยะที่มีหลังคา และประตูปิด เพื่อป้องกันแมลงเข้าไปคุ้ยเขี่ย บริเวณจัดเก็บขยะนอกอาคารนี้จะอยู่ห่างจากตัวอาคารการผลิต ก่อสร้างโดยวัสดุที่ล้างทำความสะอาดได้โดยง่าย ถ้าเป็นถังขยะขนาดใหญ่ (Dumpster) จะวางถังขยะใหญ่นี้บนพื้นที่เรียบ ทำความสะอาดได้ง่าย ไม่ดูดซับน้ำ และมีสิ่งอำนวยความสะดวกในการล้างทำความสะอาด เช่น ก๊อกน้ำ ทางระบายน้ำ

ในกระบวนการผลิตจะมีเศษของทิ้งเป็นจำนวนมาก เช่น ผัก ผลไม้ กุ้ง และปลา ฝ่ายครัวการบินจะลำเลียงของทิ้งออกนอกอาคารการผลิตด้วยระบบสายพานลงในรถรองรับขยะ ฝ่ายครัวการบินจะดูแลให้รถขยะเหล่านี้ออกจากอาคารการผลิตทันทีที่มีขยะเต็ม บริเวณสายพานลำเลียงจะมีน้ำจากของทิ้งหยดลงมารวมทั้งเศษของทิ้งตกหล่นและหมักหมมตามรอง พื้น และสายพาน ฝ่ายผลิตจะดูแลทำความสะอาดสายพานและบริเวณโดยรอบอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้มีการหมักหมมส่งกลิ่นเหม็น

ขยะเปียกหรือขยะสดมักมีความชื้นสูง จะไม่นิยมนำไปเผาทำลาย เนื่องจากจะสิ้นเปลืองพลังงานเป็นจำนวนมาก ขยะสดในกระบวนการผลิตอาหารสามารถจะนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ของทิ้งประเภทกุ้งสามารถนำไปผลิตเป็นสารไคโตซาน (Chitosan) ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมหลายอย่าง เช่น เครื่องสำอาง สิ่งทอ เป็นต้น ส่วนของทิ้งประเภทเปลือกสับปะรดก็นำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ นอกจากนี้ยังมีการนำขยะเปียกจากอุตสาหกรรมอาหารไปทำเป็นปุ๋ยหรือฝังกลบ

2. ขยะแห้ง

ขยะแห้ง ได้แก่ ขยะของภาชนะบรรจุ เช่น ขวดแก้ว ขวด PET (polyethylene Terephthalate) กระป๋อง ถุงพลาสติก กระสอบ กล่องกระดาษ เป็นต้น ขยะประเภทนี้จะลดขนาดของขยะลงก่อน เพื่อให้จัดทิ้งหรือนำไปขายต่อได้โดยง่าย บริเวณจัดเก็บขยะประเภทนี้ต้องจะจัดให้เป็นระเบียบและสะอาด รวมทั้งมีการกำจัดอย่างต่อเนื่อง เพื่อป้องกันไม่ให้เป็นแหล่งซุกซ่อนของสัตว์นำโรคต่างๆ

3. ขยะมีพิษ

ขยะมีพิษ เช่น ภาชนะบรรจุสารฆ่าแมลง การสารเคมีอันตรายที่ใช้ในการอบหรือรมฆ่าแมลงในวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์สุดท้าย หากมีปริมาณมากเกินไป จะทิ้งในภาชนะรองรับขยะพาที่ทางหน่วยงานของ

รัฐจัดเตรียมไว้ให้ตามเขตต่างๆ แต่ถ้าหากมีปริมาณมากจะติดต่อหน่วยงานของรัฐ หรือบริษัทที่มีความเชี่ยวชาญในการกำจัดขยะ เพื่อป้องกันไม่ให้มีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม

บทที่ 2
รายละเอียดการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงานที่แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ฝ่ายครัวการบิน มีภารกิจแบ่งได้เป็น 2 ส่วนสำคัญ คือ

1. การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพอาหาร
2. การทำโครงงานวิจัย

การปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพอาหาร

ได้ปฏิบัติงานทางด้านการตรวจสอบคุณภาพอาหาร โดยมีเก็บตัวอย่าง และ **วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์**ดังต่อไปนี้

1 การเก็บและรับตัวอย่าง

ตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ที่ดำเนินการ โดยห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ แผนกควบคุมคุณภาพและสุขอนามัย กองประกันคุณภาพ ฝ่ายครัวการบิน บริษัทการบินไทย จำกัด (มหาชน) ได้มาจากการเก็บตัวอย่างตามกำหนดการเก็บตัวอย่างที่นักวิทยาศาสตร์เป็นผู้จัดทำขึ้น รวมทั้งการรับตัวอย่างตามการร้องขอจากหน่วยงานต่างๆ ภายในฝ่ายครัวการบิน หรือจากหน่วยงานภายนอกจากครัวการบิน โดยมีรายละเอียดการดำเนินการ ดังนี้

<u>1. ประเภทของตัวอย่าง</u> แบ่งได้เป็นประเภทต่าง ๆ ดังนี้

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหาร ได้แก่
   - อาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว และต้องนำมาปรุงประกอบก่อนการบริโภค
   - อาหารพร้อมที่จะบริโภคทันที
2. อาหารในระหว่างขั้นตอนการผลิต ได้แก่ อาหารที่ปรุงประกอบแล้ว ก่อนจัดลงภาชนะ รวมทั้งผักสดที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว
3. อาหารที่ผลิตเสร็จแล้ว ได้แก่ อาหารที่จัดลงภาชนะพร้อมที่จะให้บริการแก่ลูกค้า
4. ผลิตภัณฑ์ น้ำ น้ำแข็ง น้ำผลไม้ เครื่องดื่ม
5. น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต
6. สิ่งสางตรวจที่เก็บจากภาชนะอุปกรณ์ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตอาหาร
7. สิ่งส่งตรวจที่เก็บจากร่างกายพนักงาน ได้แก่ การทำ Hand swab
8. ตัวอย่างที่เก็บเพื่อการ Investigate เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการแก้ไขปัญหาในกรณีที่เห็นสมควร

9. ตัวอย่างที่เก็บตามการร้องขอจากลูกค้าและหน่วยงานภายในฝ่ายฯ เมื่อมีผู้ร้องขอและหัวหน้าห้องปฏิบัติการ เห็นชอบให้ทำการตรวจวิเคราะห์

2. การจัดทำกำหนดการเก็บตัวอย่าง

2.1 รายละเอียดของการเก็บตัวอย่าง

เก็บตามประเภทของตัวอย่างในข้อ 1 โดยนักวิทยาศาสตร์จะพิจารณารายละเอียดของตัวอย่างแต่ละประเภทตามสมควร

2.2 การจัดทำกำหนดการเก็บตัวอย่าง

เพื่อให้การปฏิบัติงานในการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์เป็นไปอย่างยืดหยุ่น คล่องตัว และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ผู้จัดการกองประกันคุณภาพจึงได้มอบหมายอำนาจหน้าที่ในการปฏิบัติงานให้นักวิทยาศาสตร์เป็นผู้ทำหน้าที่กำหนดการเก็บตัวอย่างเอง

3. วิธีการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์นั้นถือได้ว่าเป็นส่วนสำคัญของการควบคุมคุณภาพ ดังนั้น สิ่งที่ควรคำนึงถึงในการเก็บตัวอย่าง คือ

1. ตัวอย่างที่เก็บต้องเป็นตำแหน่งที่มีโอกาสที่จะพบจุลินทรีย์สาเหตุของโรคปรากฏอยู่เป็นส่วนมาก ถ้าเลือกตำแหน่งเก็บตัวอย่างผิด จะทำให้ข้อมูลที่ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง
2. อุปกรณ์ที่จะใช้เก็บตัวอย่างจะต้องเหมาะสม สะอาด ปราศจากเชื้อ
3. เมื่อได้ตัวอย่างมา หากไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ ให้เก็บตัวอย่างไว้ในช่องแช่เย็นหรือช่องแช่แข็งของตู้เย็น

ปริมาณการเก็บตัวอย่าง

ปริมาณของตัวอย่างจะต้องเพียงพอสำหรับการตรวจวิเคราะห์ เช่น

- ตัวอย่างอาหาร ควรเก็บไม่น้อยกว่า 200 กรัม หรือ ทั้งภาชนะบรรจุ
- น้ำ , น้ำดื่ม ควรเก็บไม่น้อยกว่า 200 มิลลิลิตร หรือ ทั้งภาชนะบรรจุ
- น้ำแข็ง ควรเก็บไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร เมื่อละลายเป็นน้ำ
- เครื่องดื่ม ควรเก็บไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร หรือ ทั้งภาชนะบรรจุ

อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง

1. ภาชนะสำหรับเก็บตัวอย่างจะต้องสะอาดและแห้ง ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ อาจใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากจากเชื้อ , Beaker ,ขวดแก้วปากกว้างสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ , น้ำแข็งหรือเครื่องดื่ม

2. เครื่องมือที่ใช้เก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร มีด ปากคีบ ช้อน ต้องทำให้ปราศจากเชื้อ
3. ตะกร้าสำหรับใส่เก็บตัวอย่าง
4. กล่องโฟมที่เก็บความเย็นได้ในขณะเก็บตัวอย่างคงสภาพเดิมไม่เน่าเสีย (กรณีไปเก็บตัวอย่างนอกสถานที่)
5. ขวดบรรจุแอลกอฮอล์ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไฟเช็ดจุดตะเกียง
6. เทอร์โมมิเตอร์ (ในกรณีที่ต้องการทราบอุณหภูมิของอาหารที่เก็บ)
7. ปากกา marker เพื่อบันทึกชนิดของตัวอย่าง สถานที่ และตัวอย่างที่เก็บ

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างอาหาร น้ำ และเครื่องดื่ม เพื่อวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์นั้น ใช้หลักการเก็บตัวอย่างเช่นกัน คือ ใช้วิธีปราศจากเชื้อ (Aseptic technique) และให้ได้ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างที่ดี และปริมาณพอเพียงในการวิเคราะห์ นอกจากนี้อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างและต้องสัมผัสกับตัวอย่าง จะต้องปราศจากเชื้อ วิธีการเก็บตัวอย่างประเภทต่างๆมีดังนี้

A. ทำการเก็บตัวอย่าง

1.) ตัวอย่างอาหาร

1.1 ประเภทอาหารสดที่ไม่ได้บรรจุหีบห่อ หรือภาชนะปิดสนิท สวมถุงมือที่ sterile หยิบตัวอย่าง หรือ ใช้มีดหรือกรรไกรที่ sterile ตัดตัวอย่างโดยวิธี aseptic technique โดยเก็บต่ำกว่าผิวหน้าของอาหารประมาณ 1 นิ้ว ไม่น้อยกว่า 2 จุด แล้วใส่ในถุงพลาสติกหรือใน beaker ที่ sterile

1.2 ประเภทอาหารที่บรรจุในหีบห่อ หรือในภาชนะปิดสนิท เก็บตัวอย่างทั้งหีบห่อบรรจุหรือทั้งภาชนะบรรจุทั้งนี้ภาชนะบรรจุที่ห่อหุ้มตัวอย่างต้องอยู่ในสภาพปกติไม่ฉีกขาดหรือมีรอยแกะใช้แล้ว ถ้าหีบห่อใหญ่มากให้ใช้กรรไกรตัดชิ้นส่วนโดยวิธี aseptic technique แล้วใส่ในถุงพลาสติกหรือใน beaker ที่ sterile

A

B C D

<u>รูปที่ 5</u> ตัวอย่างอาหารประเภทเบเกอรี่ที่นำมาตรวจสอบทางจุลชีววิทยา

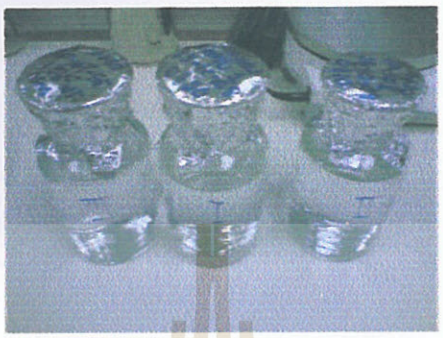
A. เอแคลร์ B. Chocolate Cherry Topping C. Fruit Tart D. Regen cake

2.) ผลิตภัณฑ์น้ำดื่ม น้ำแข็ง น้ำผลไม้ เครื่องดื่ม และน้ำใช้ในกระบวนการผลิต

2.1 น้ำใช้ในกระบวนการผลิต เก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้สำลีชุบ alcohol เช็ดที่ปากก๊อกน้ำ แล้วปล่อยน้ำทิ้งประมาณ 1 นาที ใช้ขวดปากกว้าง sterile รับน้ำประมาณ 100 มิลลิลิตร

2.2 ผลิตภัณฑ์น้ำดื่ม น้ำผลไม้ และเครื่องดื่ม เก็บตัวอย่างมาตรวจทั้งขวดหรือทั้งภาชนะบรรจุ

2.3 น้ำแข็ง เก็บตัวอย่างด้วยวิธี aseptic technique ใส่ในขวด sterile ปากกว้าง



<u>รูปที่ 6</u> แสดงตัวอย่างน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตที่ส่งตรวจทางจุลชีววิทยา

3.) ตัวอย่างประเภทสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากภาชนะอุปกรณ์

ได้แก่ swab จาก ภาชนะบรรจุอาหาร แก้ว ช้อน เขียง โต๊ะ Slicer ใช้ไม้พันสำลี 2 อัน ที่ปราศจากเชื้อจุ่ม sterile Phosphate Buffer Saline (PBS) พอหมาด ๆ ทำการป้ายตัวอย่างอันละพื้นที่ พื้นที่ละประมาณ4 ตารางนิ้ว แล้วจุ่มไม้พันสำลี 1 อันที่ปราศจากเชื้อจุ่ม sterile PBS 4 ml หักปลายไม้ส่วนที่มือจับทิ้ง และอีกอันจุ่มลงในหลอด Trypticase soy broth หักปลายไม้ส่วนที่จับทิ้ง ปิดหลอดให้สนิท

<u>รูปที่ 7</u> แสดงวิธีการเก็บตัวอย่างเพื่อหาเชื้อของภาชนะอุปกรณ์ (Utensil) ภายหลังการล้าง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องล้างทำความสะอาด

ซ้าย : เก็บตัวอย่างภาชนะที่ใช้ใส่อาหารเพื่อบริการแก่ผู้โดยสาร

ขวา : เก็บตัวอย่างตู้ใส่อาหารขึ้นเครื่อง (meal cart)

4.) สิ่งส่งตรวจจากพนักงาน

ได้แก่ การทำ **Hand swab** ใช้ไม้พันสำลี 1 อันที่ปราศจากเชื้อจุ่ม sterile PBS พอหมาด ๆ ทำการป้ายมือข้างใดข้างหนึ่ง (บริเวณฝ่ามือ ซอกนิ้ว และปลายนิ้ว) ให้ทั่ว แล้วจุ่มไม้พันสำลีนั้นลงในหลอด sterile PBS 4 ml. หักปลายไม้ส่วนที่มือจับทิ้ง ปิดหลอดให้สนิท

2. วิธีการตรวจทางจุลชีววิทยาของตัวอย่าง

แบ่งการตรวจออกเป็น 4 ประเภท ตามชนิดของตัวอย่าง ดังนี้

A.) ตรวจตัวอย่างอาหารเพื่อควบคุมคุณภาพการผลิต

โดยจะทำการตรวจจุลลินทรีย์ 3 ประเภท คือ

- Aerobic Plate Count
- Coliform และ *E.coli*
- จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *Salmonella spp., Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Vibrio cholerae, Vibrio paraheamolyticus*

โดยทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

A. Equipment

1. Weight balance , Electronic balance
2. Sterile scissors, forceps and spoons
3. Plastic bag 7 x 12 นิ้ว
4. Sterile measuring cylinder 250 ml.
5. Sterile petri dish
6. Sterile graduated pipette 1 ml, 5 ml, 10 ml
7. Stomacher
8. Bunsen burner
9. Waterbath (45°± 2°C , 53°± 2°C)
10. Incubator (35°± 1°C, 31°± 1°C, 44.5°± 1°C)
11. Sterile glass spreader

B. การเตรียมตัวอย่าง (dilution 1:10)

<u>Media and Reagents</u>

1. 70% Alcohol
2. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2

Procedure

1. ตัดหรือตักแบ่งส่วนของอาหารทุกชนิดตามสัดส่วนที่ประกอบในแต่ละตัวอย่าง ชั่งน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก ถ้าเป็นตัวอย่างอาหารที่แช่แข็ง ต้องให้ละลายก่อน
2. ตวง PBS 225 ml ใส่ถุงพลาสติกที่ใส่ตัวอย่าง
3. รีดถุงไล่อากาศออก นำเข้าย่อยใน stomacher นาน 30 วินาที - 1 นาที ตามชนิดของอาหารจะได้ Food Suspension 1: 10 dilution สำหรับนำไปทำการตรวจต่อไป

รูปที่ 8 แสดงการเตรียม Dilution ของอาหารเสริฟเย็น โดยชั่งตัวอย่างมา 25 กรัม ใส่ในถุงซึ่งมี phosphate buffer saline 225 ml เจือจางแล้วนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนนำมาใช้ตรวจหาเชื้อต่างๆ

รูปที่ 9 แสดงการตรวจสอบอาหารทางจุลชีววิทยา ของนักวิทยาศาสตร์

C. วิธีการตรวจ และสรุปผล

1) Aerobic Plate Count

1.1 By Standard Plate Count Method

Media and Reagents

1. Plate Count agar
2. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2

Procedure

Food suspension 1:10 dilution

↓

Make serial 10-fold dilution with PBS

(1:100, 1:1000, 1:10000)

↓

From dilution 1:10000, pipcttc 1 ml to pctridish

↓

Mix well with 15-20 ml of Melted Plate Count Agar

Incubate at 35°C for 48 ± 2 hrs

↓

Count the number of Colony Forming Unit (CFU)

สรุปผล

- หลังจากที่บ่มในตู้อบเพาะเชื้อ เป็นเวลา 48± 2 ชั่วโมง นำจานเพาะเชื้อออกจากตู้อบเพื่อนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น
  - ควรเลือกนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี
  - ถ้านับจำนวนโคโลนีได้จำนวนเลขหลักสิบ เช่น 35 หรือ 36 ให้ลงผลตามจำนวนจริงที่นับได้
  - ถ้านับจำนวนโคโลนีได้จำนวนเลขหลักร้อย ให้ปัดตัวเลขสุดท้ายเป็นศูนย์ เช่น 155 ปัดเป็น 160 หรือ 142 เป็น 140
- ในกรณีที่ทุกจานเพาะเชื้อมีจำนวนโคโลนี มากกว่า 300 ให้นับจานเพาะเชื้อที่เจือจางน้อยที่สุด โดย
  - ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้ <10 (น้อยกว่าหรือเท่ากับ10) โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 13 ตารางเซนติเมตร (13 ช่องบน Colony Counter) เป็นตัวแทนการกระจายแล้วคูณด้วย 5 เพื่อให้ได้จำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 65 ตารางเซนติเมตร (พื้นที่ของจานเพาะเชื้อ)
  - ถ้าจำนวนโคโลนี >10 (มากกว่า 10) โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 4 ตารางเซนติเมตร (4 ช่องบน Colony Counter) หารด้วย 4 แล้วคูณด้วย 65
  - ถ้าบนพื้นที่ 1 ช่อง หรือ 1 ตารางเซนติเมตร มีจำนวนโคโลนีมากกว่า 100 โคโลนี ให้นับเป็นมากกว่า 100 x 65 หรือมากกว่า 6,500 โคโลนี
  - ถ้ามี Spreader (Spreader Colonies) ขนาดน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของพื้นที่จาน ให้นับ Spreader เป็น 1 โคโลนี ถ้าขนาดมากกว่าครึ่งหนึ่งของจานให้ลงผลว่า "Spreader"
  - โคโลนีที่ติดกันเป็นลูกโซ่ ให้นับเป็น 1 โคโลนี
  - คำนวณจำนวนโคโลนีในตัวอย่าง ดังนี้

จำนวนโคโลนี/กรัม (Total Plate Count cfu/gm)

= จำนวนโคโลนีที่นับได้ x จำนวนเท่าที่เจือจาง

การใช้ 3M Petrifilm ในการหาค่า Aerobic Plate Count

3M Petri film Aerobic Count (AC) เป็นระบบเพาะเชื้อสำเร็จรูปซึ่งประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน(Plate Count Agar) สารทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว(เจลที่ละลายได้ด้วยน้ำเย็น) และสารบ่งชี้ (สีย้อม Triphenyl Tetrazolium Chloride-TTC)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างเจือจาง 1:10 หรือมากกว่า โดยชั่งหรือตวงตัวอย่างอาหารใส่ภาชนะที่เหมาะสม เช่น stomacher bag, dilution bottle, Whirl-Pak bag หรือภาชนะปลอดเชื้ออื่นๆ
2. เติมตัวทำละลายตัวใดตัวหนึ่งต่อไปนี้ในปริมาณที่เหมาะสม: Butterfield's phosphate buffer, 0.1%peptone water, peptone salt diluents, buffered peptone water, saline solution, bisulfate-free letheenbroth หรือน้ำกลั่น (ห้ามใช้บัฟเฟอร์ที่มี citrate, bisulfate หรือ thiosulfate เพราะสารประกอบเหล่านี้จะยับยั้งการเจริญของเชื้อ)
3. คลุกผสมตัวอย่างตามวิธีที่ปฏิบัติอยู่ (ปรับ pH ของตัวอย่างที่เจือจางแล้วให้อยู่ระหว่าง 6.6-7.2 โดยตัวอย่างที่เป็นกรดให้ใช้ 1 N NaOH ตัวอย่างที่เป็นด่างให้ใช้ 1 N HCl)
4. วางแผ่น3M Petrifilm AC บนพื้นราบ เปิดแผ่นฟิล์มแผ่นบนขึ้น
5. ใช้ปิเปตถ่ายตัวอย่าง 1 มล. ลงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นล่าง ให้ปิเปตตั้งฉากกับแผ่น3M Petrifilm AC แล้วปล่อยแผ่นฟิล์มแผ่นบนลง
6. วางแผ่นสำหรับกด (spreader) โดยให้ด้านที่มีขอบคว่ำหน้าลง ลงบนแผ่นฟิล์มแผ่นบน ให้ส่วนวงกลมครอบบริเวณหยดตัวอย่าง แล้วใช้นิ้วชี้ค่อยๆกดตรงกลางแผ่น spreader จนตัวอย่างกระจายทั่วเป็นวงกลม อย่าบิดหรือเลื่อนแผ่น spreader
7. ยกแผ่น spreader ขึ้น รอ 2-3 นาที เพื่อให้เนื้อเจลแข็งตัวก่อนเคลื่อนย้ายแผ่น3M Petrifilm AC จากนั้นนำไปบ่มที่ 35±1°C เป็นเวลา 48± 3 ชั่วโมง โดยวางด้านใสหงายขึ้น และซ้อนแผ่นได้ไม่เกิน 20 แผ่น
8. การอ่านผล ให้นับโคโลนีที่มีสีแดงทั้งหมดแล้ว คำนวณจำนวนโคโลนีในตัวอย่าง ดังนี้

จำนวนโคโลนี/กรัม (Total Plate Count cfu/gm) = จำนวนโคโลนีที่นับได้ x จำนวนเท่าที่เจือจาง

1.2 <u>By Petrifilm Method</u>

ตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ phosphate buffer saline 225 ml

↓

ตีปั่นในเครื่อง Stomacher 30 sec. (จะได้ dilution ที่ 10^{-1})

↓

ปิเปตต์ 1 ml ใส่ tube ที่มี Buffer 9 ml เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายเป็น 10^{-2}

ทำ dilution จนถึง 10^{-4}

↓

ปิเปตต์สารละลายที่อยู่ใน tube ที่มีความเจือจาง 10^{-4} 1 ml

ลงบน Petrifilm สำหรับตรวจหา Aerobic Plate Count

↓

Incubate ที่ 35 °C 48 hr.

↓

นับจำนวนโคโลนีสีแดงที่เกิดขึ้นทั้งหมด

การรายงานผล

นับโคโลนีสีแดงทั้งหมด คูณด้วย Dilution Factor จะได้จำนวน Aerobic Plate Count / gm ของอาหาร

รูปที่ 10 แสดงเชื้อ Aerobic Plate Count (APC) ที่เจริญบน Petrifilm ภายหลังการบ่มที่ 35°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสังเกตได้จากจุดสีแดง

2. Coliforms , Fecal Coliforms and E. coli

2.1 By Most Probable Number (MPN) Method

Media and Reagents

1. Lauryl Tryptose (LST) broth
2. Brilliant Green Bile (BGB) 2% broth
3. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2

Procedure

Food suspension 1:10 dilution

↓

make serial 10-fold dilution with PBS

(1:100, 1:1000, 1:10000)

↓

From each dilution, pipette 1 ml into triplicate tubes of LST

↓

Incubate at 35°C for 48 ± 2 hrs

↓

Examine tubes for gas in Durham tubes, transfer loopful of suspension into BGB tube

↓

Incubate at 35°C for 48 ± 2 hrs

↓

Examine tubes for gas in Durham tubes

↓ Discard | ↓ Test for E. coli

สรุปผล

Calculate MPN of Coliforms based on proportion of confirmed gassing LST tubes for 3 consecutive dilutions

2.2 By Petrifilm

นำตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ phosphate buffer saline 225 ml

↓

ตีปั่นในเครื่อง Stomacher 30 sec. (จะได้ dilution ที่ 10^{-1})

↓

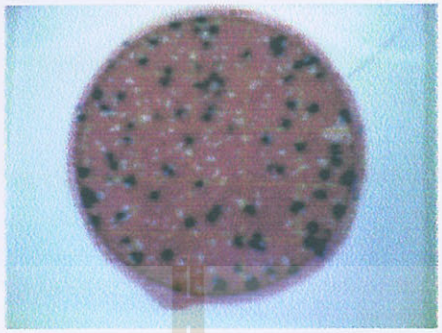
ปิเปตต์ 1 ml ลงใน Petrifilm สำหรับตรวจหา Coliform และ E.coli

↓

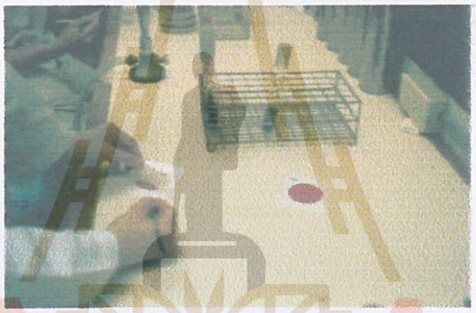
Incubate ที่ 35 °C 24 hr.

การรายงานผล

หลังจาก incubate ที่ 35 °C 24 hr. แล้ว นำ petrifilm มาตรวจนับ colony ของ Coliform (Total Coliform) ซึ่งจะมีลักษณะโคโลนีสีแดง และสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊ส ส่วนโคโลนีของ E.coli นั้นสีน้ำเงินและมีฟองแก๊ส นำจำนวนโคโลนีที่นับได้ คูณด้วย Dilution Factor จะได้จำนวน Coliform / *E.coli* ต่อ 1 กรัมของอาหาร



รูปที่ 11 แสดงลักษณะของเชื้อ *E.coli* ที่เจริญอยู่บน Petrifilm ภายหลังการบ่มที่ 35°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสังเกตได้จากโคโลนีสีน้ำเงินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 12 แสดงวิธีการยืนยันเชื้อที่พบบน 3M Petrifilm ว่าเป็น Coliform หรือ E. coli จริงเพราะโคโลนีอาจจะอัดตัวกันแน่น หรือมองไม่เห็นฟองแก๊ส จึงไม่มั่นใจว่าเป็นเชื้อดังกล่าวจริงหรือไม่ ทดสอบโดยการเขี่ยเชื้อที่สงสัยใส่ลงใน brilliant green bile broth ที่มี Durham tube อยู่ภายใน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ถ้ามีฟองแก๊สเกิดขึ้นภายใน tube แสดงว่าเป็น Coliform และนำไปใช้ทดสอบ E. coli ต่อไป

3. Staphylococcus aureus

3.1. By Surface Plating Method

Media and Reagents

1. Mannitol Salt agar + Egg Yolk Emulsion (MS-EY)
2. Human plasma for Coagulase test

Procedure

Food suspension 1:10 dilution

↓

Pipette 0.1 ml. onto MS-EY agar, spreader over the surface by a glass spreader

↓

Incubate at 35°C for 24±2 hrs

↓

From plate showing growth , transfer colony suspected to be S. aureus

↓

Perform Coagulase test by tube test method

(3-5 colonies are inoculated into tube containing 1 ml of plasma)

↓

Incubate at 35°C for 4-24 hrs

↓

Coagulase test + (plasma clotting)

↓

S. aureus

สรุปผล

จำนวน CFU ของ S. aureus คูณด้วย 100 (dilution factor) เป็นค่า CFU/g. ของอาหาร ถ้าไม่มีเชื้อขึ้น รายงาน < 100 cfu/g.

3.2 By Enrich Method

Media and Reagents

1. Trypticase Soy broth + 10% NaCl
2. Mannitol Salt agar + Egg Yolk Emulsion (MS-EY)
3. Human plasma for Coagulase test

Procedure

Food suspension 1:10 dilution

↓

Pipette 1 ml. into Trypticase Soy broth

↓

Incubate at 35°C for 24±2 hrs

↓

From tube showing turbid, steak one loop onto MS-EY

↓

From plate showing growth , transfer colony suspected to be S. aureus

↓

Perform Coagulase test by tube test method

(3-5 colonies are inoculated into tube containing 1 ml of plasma)

↓

Incubate at 35°C for 4-24 hrs

↓

Coagulase test +

(plasma clotting)

↓

S. aureus

<u>สรุปผล</u>

จำนวน CFU ของ S. aureus คูณด้วย 100 (dilution factor) เป็นค่า CFU/g. ของอาหาร ถ้าไม่มีเชื้อขึ้น รายงาน < 100 cfu/g.

4. <u>Salmonella by Enrichment Method</u>

<u>Media and Reagents</u>

1. Lactose broth
2. Trypticase soy broth
3. Tetrathionate broth
4. Selenite Cystine (SC) broth
5. Hektoen enteric (HE) agar
6. Xylose lysine desoxycholate (XLD) agar
7. Triple Sugar Iron (TSI) agar slant
8. LIM medium
9. Urease test
10. Salmonella antisera (Polyvalent)

Procedure

- **Preparation of foods for isolation of Salmonella**

  The methods are based on the analytical of a 25 g.

  analytical unit at a 1:9 sample/broth ratio (pH 6.8 ± 0.2)

  - 25 g. sample to 225 ml. Lactose broth

- **Isolation of Salmonella**

Transfer 1 ml. mixture (a) to 10 ml. selenite cystine (SC) broth

and another 1 ml. mixture to 10 ml. Tetrathionate (TT) broth

↓

Incubate SC and TT at 35°C for 24±2 hrs

↓

Streak one loopful of the culture on HE agar & XLD agar plate

↓

Incubate at 35°C for 24±2 hrs

↓

Pick suspicious colonies from HE agar & XLD agar and transfer to TSI

↓

Incubate at 35°C for 24±2 hrs

↓

Slide agglutination with Salmonella antisera, polyvalent (A-I)

↓

Positive (Salmonella)

สรุปผล (/25 g. ของอาหาร)

พบเชื้อ Salmonella รายงาน Presence ไม่พบเชื้อรายงาน Absence

รูปที่ 13 แสดงการ streak เชื้อ จาก RVS Broth ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ X.L.D. Agar (plate สีแดง) และ Hektoen Enteric Agar (plate สีเขียว) เพื่อหาเชื้อ *Salmonella*

5. Bacillus cereus by Surface Plating Method

Media and Reagents

1. Mannitol-Egg Yolk-Kanamycin (MYK) agar
2. Blood agar
3. Motile medium

Procedure

Food suspension 1:10 dilution

↓

Pipette 0.1 ml. onto MYK agar, spreader over the surface by a glass spreader

↓

Incubate at 30-32°C for 18-24 hrs

↓

Enumerate the pinkish-white colonies surrounded by an opaque zone

↓

Test for hemolytic activity on Blood agar plate using

B. cereus and B. thuringensis as the controls , motile test

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hrs

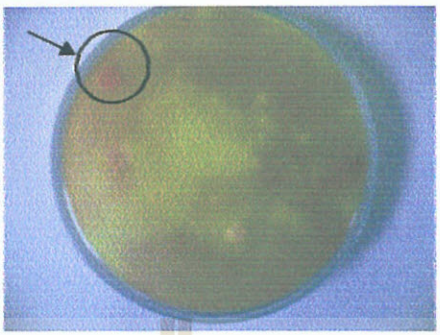
↓

Examine plate for hemolytic activity by transmitted light

2-4 mm. zone of complete (beta) hemolysis surrounding growth motile +	incomplete hemolysis or nonhemolysis surrounding growth motile -
↓	↓
Bacillus cereus	**Not B. cereus**

สรุปผล

จำนวน CFU ของ B. cereus คูณด้วย 100 (dilution factor) เป็นค่า CFU/g. ของอาหาร ไม่พบเชื้อ รายงาน < 100 cfu/g.



รูปที่ 14 แสดงโคโลนีของ *Bacillus cereus* จากการทำ spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MYK (Mannitol Salt Egg Yolk Kanamycin Agar) สังเกตจากโคโลนีสีชมพู และรอย opaque zone กว้าง รอบ ๆ โคโลนี

6. Vibrio cholerae by Enrichment Method

Media and Reagents

1. Alkaline Peptone Water (APW) pH 8.5
2. Thiosulphate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar
3. Oxidase test paper
4. V. cholerae antisera
5. TSI agar slant

Procedure

Inoculate 25 g. of sample to 225 ml of APW

↓

Incubate at 35°C for 16-24 hrs

↓

Streak one loopful of the culture onto TCBS agar

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hrs

↓

Pick suspicious colonies (yellow colonies) on TCBS and transfer to TSI

↓

Incubate at 35°C for 12-24 hrs

↓

The cultures that show the following reactions

Yellow colonies : TSI A/A, no gas, no H_2S, oxidase test +

↓

Slide agglutination test with V. cholerae serogroup

↓ Positive

Vibrio Cholerae

<u>สรุปผล</u> (/25 g. ของอาหาร)

พบเชื้อ Vibrio รายงาน Presence ไม่พบเชื้อรายงาน Absence

<u>7. Vibrio parahaemolyticus by Enrichment Method</u>

<u>Media and Reagents</u>

1. Alkaline Peptone Water (APW) + 3%NaCl
2. Thiosulphate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar
3. Oxidase test paper
4. TSI agar slant

<u>Procedure</u>

Inoculate 25 gm. of food to 225 ml of APW (3% NaCl)

↓

Incubate at 35°C for 16-18 hrs

↓

Streak one loopful of the culture onto TCBS agar

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hrs

↓

Pick suspicious colonies (green colonies) on TCBS and transfer to TSI

↓

Incubate at 35°C for 12-24 hrs

↓

The cultures that show the following reactions

Green colonies : TSI K/A, no gas, no H_2S, oxidase test +

↓

Additional biochemical tests

↓

V. parahemolyticus

<u>สรุปผล</u> (/25 g. ของอาหาร)

พบเชื้อ Vibrio รายงาน Presence ไม่พบเชื้อรายงาน Absence

B.) ตรวจตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง น้ำผลไม้ และเครื่องดื่ม

A. Equipment

1. Sterile petri dish
2. Sterile graduated pipette 1ml,5ml,10ml
3. Bunsen burner
4. Water bath temp. 45°± 2°C
5. Incubator temp. 35°± 1°C
6. Incubator temp. 44.5°± 0.2°C

B. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เป็นน้ำแข็งต้องปล่อยไว้ให้ละลายในอุณหภูมิห้องก่อนตรวจ

C. วิธีการตรวจ และสรุปผล

<u>1. การตรวจหา Aerobic Plate Count และปริมาณ Yeasts & Molds</u> โดยวิธี Plate count

<u>Media and reagents</u>

1. Plate Count agar
2. Potato Dextrose agar (+ 1% Tartaric acid)
3. Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2

Procedures

1. Pipette ตัวอย่างใส่ใน Petridish จานละ 1 ml และ 0.1ml (ถ้าคาดว่า Total plate count น่าจะสูงต้องทำ dilution เป็น 1:100, 1:1000, 1:10000 ด้วย)
2. Pour Plate ด้วย Melted Plate Count agar อุณหภูมิ 45°±2°C นำเข้า Incubate 35°C นาน 48±2 ชั่วโมง ถ้าเป็นน้ำผลไม้หรือเครื่องดื่มต้องหาปริมาณของ Yeasts & Molds ด้วย โดยทำ Pour plate ด้วย Melted potato dextrose agar อุณหภูมิ 45±2°C ตั้งทิ้งไว้ให้ agar แข็งตัว นำเข้า incubate 22°-25°C นาน 3-5 วัน

สรุปผล

- หลังจากที่บ่มในตู้อบเพาะเชื้อครบตามเวลา นำจานเพาะเชื้อออกจากตู้อบเพื่อนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น
  - ควรเลือกนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี
  - ถ้านับจำนวนโคโลนีได้จำนวนเลขหลักสิบ เช่น 35 หรือ 36 ให้ลงผลตามจำนวนจริงที่นับได้
  - ถ้านับจำนวนโคโลนีได้จำนวนเลขหลักร้อย ให้ปัดตัวเลขสุดท้ายเป็นศูนย์ เช่น 155 ปัดเป็น 160 หรือ 142 เป็น 140 เป็นต้น
- ในกรณีที่ทุกจานเพาะเชื้อมีจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 ให้นับจานเพาะเชื้อที่เจือจางมากที่สุด โดย
  - ถ้าจำนวนโคโลนีที่นับได้ <10 (น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10) โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 13 ตาราง เซนติเมตร (13 ช่องบน Colony Counter) เป็นตัวแทนการกระจายแล้วคูณด้วย 5 เพื่อให้ได้จำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 65 ตารางเซนติเมตร (พื้นที่ของจานเพาะเชื้อ)
  - ถ้าจำนวนโคโลนี >10 (มากกว่า 10) โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนโคโลนีบนพื้นที่ 4 ตารางเซนติเมตร (4 ช่องบน Colony Counter) หารด้วย 4 แล้วคูณด้วย 65
  - ถ้าบนพื้นที่ 1 ช่อง หรือ 1 ตารางเซนติเมตร มีจำนวนโคโลนีมากกว่า 100 โคโลนี ให้นับเป็นมากกว่า 100 x 65 หรือมากกว่า 6,500 โคโลนี
  - ถ้ามี Spreader (Spreader Colonies) ขนาดน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของพื้นที่จาน ให้นับ Spreader เป็น 1 โคโลนี ถ้าขนาดมากกว่าครึ่งหนึ่งของจานให้ลงผลว่า "Spreader"
  - โคโลนีที่ติดกันเป็นลูกโซ่ ให้นับเป็น 1 โคโลนี
  - คำนวณจำนวนโคโลนีในตัวอย่าง ดังนี้

จำนวนโคโลนี / มิลลิลิตร (Total Plate Count cfu/ml.)

= จำนวนโคโลนีที่นับได้ x จำนวนเท่าที่เจือจาง

จำนวน Yeast & Molds /มิลลิลิตร (Yeasts & Molds /ml.)

= จำนวนโคโลนีที่นับได้ x จำนวนเท่าที่เจือจาง

2. <u>การตรวจหาเชื้อกลุ่ม Coliforms</u> โดยวิธี Most Probable Number (MPN)

<u>Media and Reagents</u>

1. Lactose broth double strength (D/S)หลอดละ 10ml (มี Durham's tube)
2. Lactose broth single strength (S/S)หลอดละ 10ml (มี Durham's tube)
3. Brilliant Green Bile broth หลอดละ 10 ml (มี Durham's tube)

<u>Procedures</u>

1. Pipette ตัวอย่างใส่ D/S Lactose broth หลอดละ 10 ml จำนวน 5 หลอด
2. Pipette ตัวอย่างใส่ S/S Lactose broth หลอดละ 1ml และหลอดละ 0.1ml อย่างละ 1 หลอด
3. นำเข้า incubate 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง
4. หลอดที่ให้ผล + (มีแก๊สมากกว่า 1/10 ของ Durham's tube) จาก Lactose broth ทำการ subculture ใส่ BGB broth โดยทำเครื่องหมายให้ชัดเจนว่า subculture จากหลอดใด นำเข้า incubate 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง
5. บันทึกหลอดที่ให้ผล + (มีแก๊สมากกว่า 1/10 ของ Durham s tube) จาก BGB broth

<u>สรุปผล</u>

Calculate MPN of Coliforms based on proportion of confirmed gassing Lactose broth tubes for 3 consecutive dilutions

<u>รูปที่ 15</u> แสดงวิธีการตรวจน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต โดยวิธี MPN

3. <u>การตรวจหาปริมาณ E.coli</u> โดยวิธี Most Probable Number (MPN)

<u>Media and Reagent</u>

1. EC medium
2. EMB agar
3. TSI agar slant

4. Citrate medium
5. Urease agar
6. Kovac's reagent
7. LIM medium

Procedures

1. จาก BGB broth ที่ให้ผล + subculture ลงใน EC medium โดยทำเครื่องหมายให้ชัดเจนว่ามาจากหลอดใด นำเข้า incubate 44.5°± 0.2°C นาน 48±2 ชั่วโมง
2. จาก EC medium ที่ให้ผล + subculture ลงบน EMB agar โดยทำเครื่องหมายให้ชัดเจนว่ามาจากหลอดใด นำเข้า incubate 35°C นาน 18-24 ชั่วโมง
3. Pick typical colonies จาก EMB agar ลงใน TSI agar slant นำเข้า incubate 18-24 ชั่วโมง
4. เลือก TSI Agar ที่ให้ผล Butt acid, Slant acid หรือ Butt acid, Slant alkaline ทำ Biochem test
5. ผลของ biochemical reaction test : Indole +/- , citrate - , urease -

<u>สรุปผล</u>

- วิธี MPN : Calculate MPN of Coliforms based on proportion of confirmed gassing E. coli tubes for 3 consecutive dilutions that contain E. coli (See Table on Appendix 2)

4. <u>การตรวจหา Staphylococcus aureus โดยวิธี Enrichment</u>

<u>Media and Reagents</u>

1. Trypticase Soy broth + 10% NaCl
2. Mannitol Salt Egg Yolk (MS-EY) agar
3. Human Plasma

<u>Procedure</u>

1. ใส่ตัวอย่าง 1 ml. ลงใน trypticase soy broth 10 ml. นำเข้า incubate 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง
2. Streak 1 loop จากหลอดที่ขุ่นลงบน MS-EY agar นำเข้า incubate 35°C 18-24 ชั่วโมง
3. เลือก Typical colony ทำ Coagulase test โดยวิธี tube test กับ Plasma

<u>สรุปผล</u> (/ml. ของตัวอย่าง)

พบเชื้อ รายงาน Presence ไม่พบเชื้อ รายงาน Absence

C.) การตรวจภาชนะ อุปกรณ์ เครื่องมือเครื่องใช้ สำหรับปรุงประกอบอาหาร

A. Equipment

1. Sterile Petri dish
2. Sterile graduated pipette 1 ml,5 ml,10 ml.
3. Sterile cotton applicator
4. Bunsen burner
5. Water bath temp. 45°±2°C
6. Incubator temp. 35°± 1°C
7. Incubator temp. 44.5°± 0.2°C

B. การเตรียมตัวอย่าง

นำหลอดบรรจุ PBS ที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากัน หมุนไม้พันสำลีกับด้านข้างหลอดด้านใน นำไม้พันสำลีทิ้ง ส่วนหลอดที่บรรจุ Trypticase soy broth นำเข้า incubate 35°C นาน 18-24 ชั่วโมง

C. วิธีการตรวจ และสรุปผล

<u>1. การตรวจหา Aerobic Plate Count โดยวิธี Plate count</u>

<u>Media and Reagents</u>

Plate Count agar

<u>Procedure</u>

Dispense 1 ml.of Sample in PBS into Petri dish

mixwell with 15-20 ml.of Melted Plate Count agar

↓

Incubate at 35°C for 48 ± 2 hrs.

↓

Count the number of Colony Forming Unit (CFU)

<u>สรุปผล</u>

รายงานปริมาณเชื้อเป็นจำนวน CFU/sq. inch.

2. การตรวจหา Coilform bacteria และ E.coli โดยวิธี Enrichment

Media and Reagents

1. Lauryl Tryptose broth (LST)
2. Brilliant Green Bile broth (BGB)
3. EC medium
4. EMB agar
5. TSI agar slant
6. Citrate medium
7. Urease agar
8. Kovac's reagent
9. LIM medium

Procedure

Dispense 1 ml. of Sample in PBS into LST

↓

Incubate at 35°C for 48±2 hr.

↓

Examine tubes for gas in Durham tubes, transfer one loopful into BGB

↓

Incubate at 35°C for 48±2 hr.

↓

The tube which showed bacterial growth and gas production **(Positive for Coliforms),** transfer one loopful of suspension from gassing BGB tubes into EC tube

↓

Incubate at 44.5 ± 0.2°C for 48±2 hrs

↓

Streak one loopful of suspension from each gassing tube to EMB agar plate

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hr.

↓

Pick suspicious colonies from EMB agar and transfer to TSI agar slants

Incubate at 35°C for 18-24 hr.

↓

Select TSI slant that showed A/A or K/A reactions, Perform biochemical tests for E.coli Read the biochemical results : Indole +/- , Urease - , Citrate –

↓

E. coli

สรุปผล

ทั้ง coliform และ E. coli ถ้าพบให้รายงาน Presence /sq.inch

ไม่พบ ให้รายงาน Absence /sq. inch

3. การตรวจหา Staphylococcus aureus โดยวิธี Enrichment

Media and Reagents

1. Trypticase Soy broth + 10% NaCl
2. Mannitol Salt Egg Yolk (MS-EY) agar
3. Human Plasma

Procedure

Swab applicator in Trypticase Soy broth 5 ml.

↓

Incubate at 35°C for18-24 Hrs.

↓

Streak one loopful of the culture which showed bacterial growth onto MS-EY agar

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hrs.

↓

Perform Coagulase test from suspicious colonies by tube test method

(3-5 colonies are inoculated into tube containing 1 ml. if plasma)

↓

Incubate at 35°C for 4 and 24 hrs , examine for plasma clotting

↓

Coagulase test + (plasma clotting)

↓

S.aureus

สรุปผล

พบ Staphylococcus aureus ให้รายงาน Presence /4 sq.inch

ไม่พบ ให้รายงาน Absence /4 sq. inch

D.) การตรวจ Hand Swab

A. Equipment

1. Sterile Petri dish
2. Sterile graduated pipette 1 ml,5 ml,10 ml.
3. Sterile cotton applicator
4. Bunsen burner
5. Water bath temp. 45°±2°C
6. Incubator temp. 35°± 1°C
7. Incubator temp. 44.5°± 0.2°C

B. การเตรียมตัวอย่าง

นำหลอด Phosphate Buffer Saline (PBS) ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างเขย่าให้เข้ากัน นำไม้พันสำลีออกมาใส่ใน Trypticase Soy Broth (TS) tube แล้วนำ TS tube ไว้ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 18-24 ชั่วโมง ส่วนหลอดของ PBS เก็บไว้ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ต่อ

C. วิธีการตรวจ และสรุปผล

1. <u>การตรวจหา Aerobic Plate Count โดยวิธี Plate count</u>

<u>Media and Reagents</u>

Plate Count agar

<u>Procedure</u>

Dispense 1 ml.of Sample in PBS into Petri dish

mixwell with 15-20 ml.of Melted Plate Count agar

↓

Incubate at 35°C for 36-48 hrs.

↓

Count the number of Colony Forming Unit (CFU)

<u>สรุปผล</u> รายงานปริมาณเชื้อเป็นจำนวน CFU/hand = CFU ที่นับได้ X 4

2. การตรวจหา Coliform bacteria และ E.coli โดยวิธี Enrichment

Media and Reagents

1. Lauryl Tryptose broth (LST)
2. Brilliant Green Bile broth (BGB)
3. EC medium
4. EMB agar
5. TSI agar slant
6. Citrate medium
7. Urease agar
8. Kovac's reagent
9. LIM medium

Procedure

Dispense 1 ml. of Sample in PBS into LST

↓

Incubate at 35°C for 48±2 hr.

↓

Examine tubes for gas in Durham tubes, transfer one loopful into BGB

Incubate at 35°C for 48±2 hr.

↓

The tube which showed bacterial growth and gas production **(Positive for Coliforms)**, transfer one loopful of suspension from gassing BGB tubes into EC tube

↓

Incubate at 44.5 ± 0.2°C for 48±2 hrs

↓

Streak one loopful of suspension from each gassing tube to EMB agar plate

Incubate at 35°C for 18-24 hr.

↓

Pick suspicious colonies from EMB agar and transfer to TSI agar slants

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hr.

↓

Select TSI slant that showed A/A or K/A reactions, Perform biochemical tests for E.coli Read the biochemical results : Indole +/- , Urease - , Citrate -

↓

E. coli

สรุปผล

ทั้ง coliform และ E. coli ถ้าพบให้รายงาน Presence /hand ไม่พบ ให้รายงาน Absence /hand

3. การตรวจหา Staphylococcus aureus โดยวิธี Enrichment

Media and Reagents

1. Trypticase Soy broth + 10% NaCl
2. Mannitol Salt Egg Yolk (MS-EY) agar
3. Human Plasma

Procedure

Swab applicator in Trypticase Soy broth 5 ml.

↓

Incubate at 35°C for18-24 Hrs.

↓

Streak one loopful of the cuture which showed bacterial growth onto MS-EY agar

↓

Incubate at 35°C for 18-24 hrs.

↓

Perform Coagulase test from suspicious colonies by tube test method

(3-5 colonies are inoculated into tube containing 1 ml. if plasma)

↓

Incubate at 35°C for 4 and 24 hrs , examine for plasma clotting

↓

Coagulase test + (plasma clotting)

↓

S.aureus

สรุปผล

พบ Staphylococcus aureus ให้รายงาน Presence /hand ไม่พบ ให้รายงาน Absence /hand

3. เกณฑ์คุณภาพของอาหารที่เป็นมาตรฐานของฝ่ายครัวการบิน

1. Microbiological Criteria for Foods

สำหรับ In-processed products และ Aircraft-ready products

หลักที่ 1	H หมายถึง	Foods for hot meal
	C หมายถึง	Foods for cold meal, appetizer, hors d' oeuvre
	F หมายถึง	Cold dishes with fermented or cold smoked items ; Fermented or cold smoked items
	D หมายถึง	Desserts (Bakery products, Thai desserts, Canned fruits) except K
	K หมายถึง	Desserts with fresh fruits, Fresh fruit salad, Peeled/Cut fresh fruits
	R หมายถึง	Cold dishes with fresh vegetables ; Fresh vegetables or whole fruits
หลักที่ 2	B หมายถึง	Sampled before portioning
	A หมายถึง	Sampled after portioning

สำหรับ Incoming products

SX หมายถึง	Ready-to-eat, processed foods, sampled from suppliers' package
SY หมายถึง	Not-ready-to-eat, processed foods, sampled from suppliers' package
SF หมายถึง	Washed vegetables, cold smoked products, fermented products, sampled from suppliers' package

ตารางที่ 1 แสดงค่า Microbiological Criteria for Foods

Code HB, CB, DB, SX

Parameters	Evaluation Criteria		
	Satisfactory	Unsatisfactory	Very Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/gm	≤ 100,000	> 100,000	
Coliforms CFU/gm	≤ 1,000	> 1,000	
E.coli CFU/gm	< 10	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Absence	Presence
B. cereus CFU/gm	< 1,000	< 1,000	≥ 1,000

Code HA, CA, DA

Parameters	Evaluation Criteria		
	Satisfactory	Unsatisfactory	Very Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/gm	≤ 1,000,000	> 1,000,000	
Coliforms CFU/gm	≤ 10,000	> 10,000	
E.coli CFU/gm	< 10	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Absence	Presence
B. cereus CFU/gm	< 1,000	< 1,000	≥ 1,000

Code SY

Parameters	Evaluation Criteria		
	Satisfactory	Unsatisfactory	Very Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/gm	≤ 1,000,000	> 1,000,000	
Coliforms CFU/gm	≤ 1,000	> 1,000	
E.coli CFU/gm	< 10	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Absence	Presence
B. cereus CFU/gm	< 1,000	< 1,000	≥ 1,000

Code KB, FB, SF

Parameters	Evaluation Criteria		
	Satisfactory	Unsatisfactory	Very Unsatisfactory
Coliforms CFU/gm	≤ 1,000	> 1,000	
E.coli CFU/gm	< 10	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Absence	Presence

Code KA, FA

Parameters	Evaluation Criteria		
	Satisfactory	Unsatisfactory	Very Unsatisfactory
Coliforms CFU/gm	≤ 10,000	> 10,000	
E.coli CFU/gm	< 10	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Absence	Presence

Code RA

Parameters	Evaluation Criteria	
	Satisfactory	Very Unsatisfactory
E.coli CFU/gm	< 10	≥ 10
Staph. aureus CFU/gm	< 100	≥ 100
Salmonella spp. / 25 gm	Absence	Presence

<u>ตารางที่ 2</u> แสดงค่า Microbiological Criteria ของ Water & Beverage

	ผลิตภัณฑ์ น้ำดื่ม น้ำแข็ง น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต		เครื่องดื่มผสม		เครื่องดื่มจาก Supplier	
	Evaluation Criteria		Evaluation Criteria		Evaluation Criteria	
Parameters	Satisfactory	Unsatisfactory	Satisfactory	Unsatisfactory	Satisfactory	Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/ml	≤ 500	> 500	≤ 500	> 500	≤ 500	> 500
MPN Coliforms / 100 ml	< 2.2	≥ 2.2	< 2.2	≥ 2.2	< 2.2	≥ 2.2
MPN *E.coli* / 100 ml	< 2.2	≥ 2.2	< 2.2	≥ 2.2	< 2.2	≥ 2.2
Yeasts & Molds CFU/ml	*	*	≤ 20	> 20	0	≥ 1
Staph. aureus / ml	*	*	Absence	Presence	Absence	Presence

หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ หรือ ไม่ได้ใช้เป็นข้อมูลในการประเมินผล

ตารางที่ 3 แสดงค่า Microbiological Criteria for Utensils, Containers & Equipment

a. Microbiological Criteria for Food Contact Surface : Utensils & Equipment

Parameters	Evaluation Criteria	
	Satisfactory	Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/sq.inch	≤ 100	> 100
Coliforms / sq.inch	Absence	Presence
E.coli / sq.inch	Absence	Presence
Staph. aureus / 4 sq.inch	Absence	Presence

b. Microbiological Criteria for Non-food Contact Surface : Containers

Parameters	Evaluation Criteria	
	Satisfactory	Unsatisfactory
Aerobic Plate Count CFU/sq.inch	≤ 1,000	> 1,000
Coliforms / sq.inch	Absence	Presence
E.coli / sq.inch	Absence	Presence
Staph. aureus / 4 sq.inch	Absence	Presence

ตารางที่ 4 แสดงค่า Microbiological Criteria for Hand Swab

Parameters	Evaluation Criteria	
	Acceptable	Need Improvement
Aerobic Plate Count CFU/Hand	≤ 1,000	> 1,000
Coliforms / Hand	Absence	Presence
E.coli / Hand	Absence	Presence
Staph. aureus / Hand	Absence	Presence

4. วิธีการตรวจยาฆ่าแมลง

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม

↓

หั่นหรือสับตัวอย่างให้ละเอียด นำไปใส่ในบีกเกอร์

↓

เติมน้ำยาสกัด 1 = 5 ml/พอท่วม

เขย่าแรงๆ (ทิ้งไว้10-15 นาที)

↓

ดูดน้ำยาสกัดตัวอย่างมา = 1 ml. ใส่ในหลอดทดลอง

↓

เติมน้ำยาสกัด 2 = 1 ml. แล้วนำไปประเหยใน water bath 35 °C จนหมด

(ประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง)

↓

เตรียมหลอดทดลองใหม่ 3 หลอด / เพิ่มจากจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 2 หลอด

- หลอดที่ 1 และ 2 เติมน้ำยาสกัด 2 = 0.25 ml.
- หลอดที่ 3 ขึ้นไป เติมน้ำยาสกัดที่ได้จากตัวอย่างหลอดละ 0.25 ml.

↓

เติมน้ำยา จีที 1 = 0.5 ml. ทุกหลอด(ทิ้งไว้ประมาณ 5- 10 นาที)

- เตรียมน้ำยาผสมจีที 2 = จีที 2.1 + จีที 2
- เตรียมน้ำยาผสมจีที 3 = จีที 3.1 + จีที 3

↓

- เติมน้ำยาผสมจีที 2 = 0.375 ml. ลงในหลอดที่ 1 (หลอดตัดสิน)
- เติมน้ำยาผสมจีที 2 = 0.25 ml. ลงในหลอดที่ 2 (หลอดควบคุม)
- เติมน้ำยาผสมจีที 2 = 0.25 ml. ลงในหลอดตัวอย่าง

ทิ้งไว้ 30 นาที

↓

เติมน้ำยาผสม จีที 3 = 1 ml. ทุกหลอด

เติมน้ำยาผสมจีที 4 และ5 อย่างละ 0.5 ml. ทุกหลอด

เขย่าให้เข้ากัน

↓

อ่านผล

สรุปผล

1. หลอดตัวอย่างมีสีอ่อนกว่าหรือเท่ากับหลอดควบคุม(หลอดที่2) = ไม่พบยาฆ่าแมลง
2. หลอดตัวอย่าง สีอ่อนกว่าหลอดตัดสิน(หลอดที่1)แต่เข้มกว่าหลอดควบคุม(หลอดที่ 2) = พบยาฆ่าแมลงแต่อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย
3. หลอดตัวอย่างมีสีเท่ากับหรือเข้มกว่าหลอดตัดสิน(หลอดที่ 1) = พบยาฆ่าแมลงในปริมาณมากเกินกว่าความปลอดภัย

บทที่ 3
รายละเอียดเกี่ยวกับงานวิจัย

โครงงานวิจัย เรื่อง: การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count :APC ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C "
(Study and Comparison of Microbial Growth in Éclair Product VIA APC Method under 5°C and 25°C

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง "การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count :APC ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C " (Study and Comparison of Microbial Growth in Puff&Pie Product via APC Method under 5°C and 25°C) เนื่องมาจากทางบริษัทต้องทำการแก้ไขปัญหาผลิตภัณฑ์เอแคลร์บางส่วนที่ซื้อไปนั้น เสื่อมคุณภาพหรือเน่าเสียเร็วกว่าปกติ โดยทราบจากการร้องเรียนของลูกค้า ซึ่งในการทดลองนั้นใช้ตัวอย่างเอแคลร์ที่ที่ผลิตเสร็จและรอจำหน่าย มาทำการศึกษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 2 อุณหภูมิ คือ ที่ 5°C ซึ่งก็คืออุณหภูมิตู้แช่ และที่ 25°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิปกติ ณ จุดจำหน่าย ผลิตภัณฑ์ Puff&Pie มาทำการเก็บรักษาที่ 0(เริ่มต้น), 3, 6, 8 , 24, 27 และ 30 ชั่วโมง แล้วทำการหาจำนวน Aerobic Plate Count โดยวิธี Petrifilm Method พบว่า ที่อุณหภูมิ 25°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิ ณ จุดจำหน่าย Puff&Pie นั้นจะมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไป โดยจะเริ่มเกิดการเน่าเสีย (เชื้อมีจำนวนเท่ากับ 10^8 cfu/g) ที่ 31 ชั่วโมง ในขณะเดียวกันที่อุณหภูมิ 5 °C นั้นมีจำนวนเชื้อเพียง 12,000 cfu/g เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิ 25°C เป็นอุณหภูมิที่อยู่ในช่วง "เขตอันตราย" ของอาหารซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เชื้อจะเจริญได้ดี และในเอแคลร์มีสารอาหารในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้น การป้องกันการเน่าเสียเร็วกว่ากำหนดของผลิตภัณฑ์เอแคลร์ คือ ต้องควบคุมอุณหภูมิตลอดการผลิต เก็บรักษา ขนส่ง และวางจำหน่าย ให้มีลักษณะเป็น "Cold Chain" คือ อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °C ทุกขั้นตอนที่เกี่ยวข้อง

หลักการ เหตุผล และความสำคัญของปัญหา

บริษัทการบินไทย จำกัด (มหาชน) ได้ผลิตผลิตภัณฑ์ Puff & Pie เพื่อจำหน่ายแก่พนักงานของบริษัทและบุคคลทั่วไป ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 และได้รับความนิยมเป็นอย่างดี อันเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ Puff & Pie มีความอร่อย คุณภาพสูง ราคาไม่แพง และมีตราสินค้าเป็นที่นิยม อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น เอแคลร์ แซนวิชทูน่า และ แซนวิชแฮม ฯลฯ ได้รับคำร้องเรียนจากลูกค้าอยู่บ้างเป็นครั้งคราว เนื่องมาจากในบางครั้ง ผลิตภัณฑ์ที่ซื้อไป เสื่อมคุณภาพหรือเน่าเสีย ซึ่งเป็นเรื่องที่บริษัทจำเป็นต้องเร่งดำเนินการแก้ไขในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ Aerobic Plate Count : APCในผลิตภัณฑ์ Puff & Pie ที่อุณหภูมิ 5°C และ 25°C จะช่วยให้ทราบถึงผลกระทบของการควบคุมอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการขนส่ง เก็บรักษา และวางจำหน่ายที่มีผลต่อการถนอมรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์ เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ในการจัดการที่ดีต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบอัตราของการเพิ่มจำนวนของ Aerobic Plate Count ในผลิตภัณฑ์ เอแคลร์ ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5°C (อุณหภูมิตู้เย็น) และที่ถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C (อุณหภูมิห้องผลิตอาหารของฝ่ายครัวการบินและห้องของ outlet สำหรับจำหน่าย Puff &Pie)
2. เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาถึง อุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงกระบวนการเก็บรักษาและวางจำหน่ายต่อไป

ทบทวนเอกสาร

1. จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งในน้ำ อากาศ ดิน พืชผักผลไม้และเนื้อสัตว์ที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร รวมทั้งร่างกายของคน การเจริญของจุลินทรีย์มีบทบาทเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากจุลินทรีย์จะใช้อาหารของมนุษย์เป็นอาหารของมัน และเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน การที่จุลินทรีย์เจริญในอาหารจะทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะและคุณภาพไปในทางที่ไม่ต้องการ เพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเปลี่ยนสภาพไปเราจึงพยายามป้องกันไม่ให้อาหารปนเปื้อนกับจุลินทรีย์ หรือขจัดจุลินทรีย์ออกจากอาหารให้มากที่สุด ทำให้สภาพของอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งจะทำให้เก็บอาหารได้นานยิ่งขึ้น ปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ ได้แก่ ชนิดของอาหาร ปริมาณความชื้นของอาหาร pH ของอาหาร ออกซิเจน และอุณหภูมิ การควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีความสำคัญมากในการที่จะเก็บถนอมอาหาร การจัดให้เกิดภาวะที่ขัดขวางต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยพิจารณาจากปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ

จุลินทรีย์ จึงเป็นแนวทางในการที่จะควบคุมการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์หรือลดปริมาณของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ลงได้

ในธรรมชาติ จุลินทรีย์ สัตว์ และพืช มีความเกี่ยวข้องกันตลอดเวลา บทบาททางด้านนิเวศน์และความสำคัญต่อวงจรธาตุชนิดต่าง ๆ ในธรรมชาติของจุลินทรีย์นั้นเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้ว อาหารของมนุษย์ประกอบด้วยพืช และสัตว์ หรือผลผลิตที่ได้จากพืช และสัตว์ จึงมีความเกี่ยวโยงไปถึงจุลินทรีย์ด้วย

อาหารของเรามักจะถูกจุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อการเจริญเพิ่มจำนวน เป็นผลทำให้อาหารนั้นเสื่อมคุณภาพลงเพราะการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จะมีการนำเอาสารอาหาร(nutrient)ไปใช้ การเปลี่ยนแปลงของอาหารเกิดขึ้นโดยการกระทำของเอนไซม์ เป็นผลทำให้อาหารมีกลิ่นรสและลักษณะเปลี่ยนไปในทางที่ไม่ต้องการเพราะมีการสลายตัวหรือการสังเคราะห์สารประกอบเกิดขึ้นทำให้อาหารนั้นเสียได้ โดย จุลินทรีย์จะมีกิจกรรมในการเปลี่ยนสารประกอบคาร์บอน ไนโตรเจน และกำมะถันให้เปลี่ยนรูปจากสภาพ รีดิวซ์ไปอยู่ในสภาพออกซิไดซ์ เพื่อป้องกันมิให้อาหารเปลี่ยนสภาพไปเราจึงต้องพยายามป้องกันไม่ให้อาหารปนเปื้อนกับจุลินทรีย์ หรือขจัดจุลินทรีย์ออกจากอาหารของเราให้มากที่สุด หรืออย่างน้อยที่สุด ทำให้สภาพของอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนมาซึ่งจะเก็บอาหารได้นานยิ่งขึ้น

<u>สาเหตุแห่งการเน่าเสียของอาหาร</u>

การเสียของอาหาร หมายถึง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอาหารในลักษณะที่ไม่ต้องการ ซึ่งมีสาเหตุมาจากข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้

1. การเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์
2. การตอมของแมลง และการกัดแทะอาหารของสัตว์ชนิดต่างๆ
3. การทำงานของเอนไซม์ในพืชและสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร
4. ปฏิกิริยาทางเคมีเช่นปฏิกิริยาที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการเร่งของเอนไซม์ในเนื้อเยื่อ หรือของจุลินทรีย์
5. การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนแปลงโดยการแช่เยือกแข็ง การต้มและการใช้ความดัน เป็นต้น

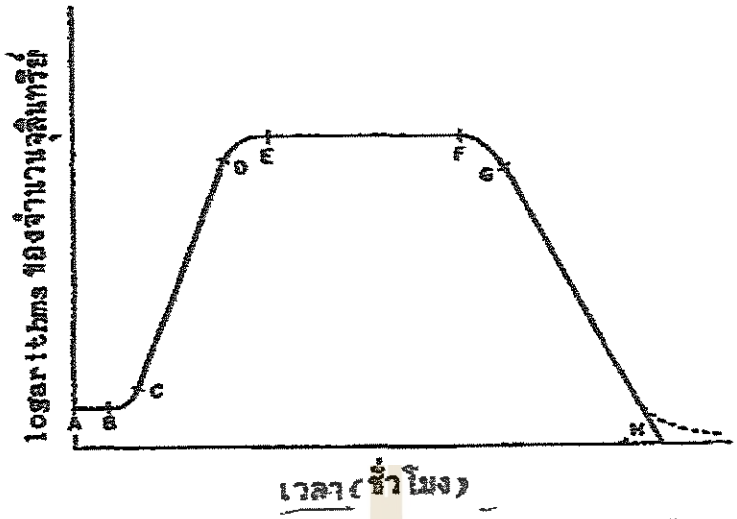
<u>การจัดจำแนกอาหารโดยอาศัยลักษณะพื้นฐานของการเน่าเสีย</u>

1. อาหารเน่าเสียยาก (non perishable food) หมายถึง อาหารที่เก็บไว้ได้นาน ๆ โดยไม่เสีย ถ้าระมัดระวังรักษาสภาพเดิมไว้ดี เช่น น้ำตาล แป้งและเมล็ดธัญญพืชต่างๆ

2. อาหารเน่าเสียเร็วปานกลาง (semiperishable food) หมายถึง อาหารที่เก็บไว้ได้ระยะเวลาหนึ่ง เช่น มันฝรั่ง แอปเปิ้ล

3. อาหารเน่าเสียง่าย (perishable food) เป็นกลุ่มอาหารที่เสียได้ง่าย เช่น น้ำนม เนื้อสัตว์ ปลา ผลไม้ ผัก และไข่ เป็นต้น ถ้าจะเก็บไว้ให้นานจำเป็นต้องมีการถนอมไว้ด้วยวิธีการต่างๆ

กราฟการเจริญของจุลินทรีย์ (Growth curve of microbial culture)



รูปที่ 16 แสดงการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น

ที่มา : สุมาลี เหลืองสกุล , (2541)

1. Lag phase (A-B)

เป็นระยะที่เชื้อจุลินทรีย์จะปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ จำนวนจุลินทรีย์ยังไม่เพิ่มขึ้น เพราะยังไม่แบ่งเซลล์ แต่เซลล์จะว่องไว และสังเคราะห์โพรโทพลาซึมใหม่ รวมทั้งเอนไซม์ โคเอนไซม์ DNA RNA เพื่อให้เพียงพอต่อกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ เป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีกิจกรรมทางสรีรวิทยาสูง ขนาดของเซลล์จะเพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่เป็นการเพิ่มความยาว และมีการเพิ่มโปรตีน ตอนปลายระยะนี้ จุลินทรีย์จะแบ่งตัว แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ทุกตัวไม่ได้แบ่งตัวพร้อมกัน ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์จึงค่อยๆเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ความยาวของระยะ lag phase จะยาวนานเพียงใดขึ้นกับสภาพแวดล้อม และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์

2. Positive acceleration phase (B-C)

เป็นระยะเวลาที่อัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นติดต่อกัน

3. Logarithmic phase หรือ Exponential phase (C-D)

เป็นระยะที่เชื้อจุลินทรีย์แบ่งตัวเป็นไปอย่างอย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ คือ การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆกัน ระยะนี้อัตราการเจริญจะมากที่สุด เซลล์ว่องไวที่สุด สารอาหารจะถูกนำไปใช้อย่างมากและรวดเร็ว การแบ่งเซลล์จะสัมพันธ์กับการสังเคราะห์โพรโทพลาซึม และกิจกรรมทางเคมีจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า จึงทำให้ลักษณะของ Curve เป็น exponential

4. Negative acceleration phase (D-E) เป็นระยะที่อัตราการเพิ่มของจุลินทรีย์ลดลง

5. Stationary phase (E-F)

ระยะที่จุลินทรีย์จะมีจำนวนสูงสุดและคงที่ ไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก คือ ถึงแม้จะมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นแต่จะเท่ากับอัตราการตาย ทั้งนี้เนื่องจากสารอาหารถูกใช้ไปเกือบหมด และอาจมีการขับของเสียที่เป็นพิษออกมาจากกระบวนการแมแทบอลิซึม

6. Accelerate death phase (F-G) เป็นระยะที่จำนวนของจุลินทรีย์เริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว

7. Death phase หรือ Decline phase (G-H)

เป็นระยะที่จุลินทรีย์จะตายอย่างรวดเร็วและตายมากขึ้นจนสม่ำเสมอเป็นExponentialหรือ logarithm สาเหตุการตายอาจเนื่องมาจากสารอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์หมดไป และเกิดการสะสมของเสียและสารพิษที่เกิดจากกระบวนการแมแทบอลิซึม จุลินทรีย์จะมีอัตราการตายที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เชื้อบางชนิดตายช้าจุลินทรีย์มีชีวิตอยู่เป็นเวลานานหลายเดือน

<u>จุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งเกิดจากอาหาร</u> (Foodborne Microbial Pathogens)

จุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งเกิดจากอาหารเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารพบทั้ง แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ริคเกตเซีย โปรโตซัว พยาธิ และมีแหล่งมาจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อากาศ น้ำ พื้นดิน ทราย คน และสัตว์ ซึ่งถ้ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในอาหารในปริมาณความเข้มข้นหนึ่งอาจจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายใด ๆ แก่ผู้บริโภค แต่ถ้ามีปริมาณของเชื้อมากจนเกินขีดจำกัด ก็อาจก่อให้เกิดโรคหรือโทษกับผู้บริโภคได้ จุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคได้โดยสาเหตุมาจาก สารพิษที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาทำให้เกิดอาการเป็นพิษ (intoxication) หรือจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดสภาวะติดเชื้อ (infection) ตัวอย่างเช่นจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย แบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหารแล้วมีการเจริญและเพิ่มจำนวนในขณะเดียวกันก็มีการผลิตสารพิษออกมาปนเปื้อนในอาหารซึ่งทำให้เกิดอาการเป็นพิษกับผู้บริโภค ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium botulinum* ส่วนแบคทีเรียที่เมื่อผู้บริโภครับเข้าสู่ร่างกายแล้วทำให้เกิดโรคซึ่งอาจเกิดจากการที่เชื้อเข้าทำลายเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่างๆ หรือจากผลของสารพิษที่เชื้อผลิตขึ้นเมื่ออยู่ในทางเดินอาหารของผู้บริโภค ได้แก่ *Salmonella spp., Shigella spp.,Bacillus cereus , Clostridium perfringens Enteropathogenic Escherichia coli* และ *Vibrio parahemolyticus*

โดยทั่วไปโรคซึ่งเกิดจากอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์นี้ จะมีอาการผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ ปวดท้อง อุจจาระร่วง คลื่นไส้ อาเจียน ระยะเวลาตั้งแต่บริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคหรือสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจนเกิดอาการ (ระยะฟักโรค) อยู่ระหว่าง 1-48 ชั่วโมง บางครั้งอาจสั้นหรือยาวกว่านี้ ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์

Foodborne disease : bacterial

Intoxications

1. Staphylococcal intoxication (staphylococcal enterotoxicosis) an enterotoxin produced by *Staphylococcus aureus*

2. Botulism : a neurotoxin produced by *Clostridium botulinum*

Infections

1. Salmonellosis : enterotoxin and cytotoxin of *Salmonella spp.*

2. *Clostridium peringents* illness : an Enterotoxin release during sporulation of *Clostridium perfringens* type A in the intestinal tract

3. *Bacillus cereus* gastroenteritis : an Exoenterotoxin release during lysis of *Bacillus cereus* in the intestinal tract

4. *Enteropathogenic Escherichia coli* Infection : several serotypes of *E.coli*, some invasive and some enterotoxigenic

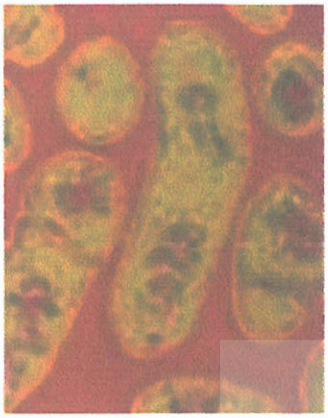
5. Others : *Yesiniosis*
   Shgellosis
   Vibrio parahemolyticus

รูปที่ 17 ตัวอย่างของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคซึ่งเกิดจากอาหาร

ที่มา: Frazier และ Westhoff (1988)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารที่มีสารพิษ

1. *Clostridium botulinum*



รูปที่ 18 ลักษณะของเชื้อ *C. botulinum*

ที่มา : www.prokariotae.com

Clostridium botulinum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนยาว มีขนาด 0.5 -2.4 x 3.0-22.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่ยื่นออกมารอบเซลล์ (peritrichous flagella) เชื้อสร้างสปอร์จึงทนต่อการทำลายด้วยสารเคมี และสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่ประกอบด้วยธาตุไนโตรเจน เจริญได้บ้างหรือไม่เจริญเลยในอาหารที่มีสภาพเป็นกรดสูง และสภาพที่เจริญนั้นจะต้องไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) เชื้อนี้สามารถสร้างสารพิษและปล่อยออกมานอกเซลล์ (exotoxin)

Clostridium botulinum แบ่งได้เป็น 7 ชนิด (type) ตามประเภทของสารพิษที่เชื้อผลิตขึ้น (Frazier และ Westhoff , 1988 ; Hayes 1992) คือ

1) Type A ทำให้เกิดโรคของระบบประสาทที่เนื่องจากสารพิษ (botulism) ของคน พบแถบตะวันตกของสหรัฐอเมริกา เป็นชนิดที่มีความเป็นพิษสูงกว่า type B
2) Type B พบบ่อยกว่า type A พบได้ในดินโดยทั่ว ๆ ไป ทำให้เกิดโรค botulism ของคน แต่มีพิษน้อยกว่า type A
3) Type C เป็นสาเหตุของ botulism ของสัตว์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์ปีก และโค กระบือ
4) Type D ทำให้เกิดอาการเป็นพิษกับพวกโคและกระบือ พบในแอฟริกาใต้
5) Type E ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษกับคน และพบว่าส่วนใหญ่มาจากปลาและผลิตภัณฑ์ปลา
6) Type F ทำให้เกิดโรค botulism กับคนในบางโอกาส มีพิษคล้ายคลึงกับ Type A และ B แยกได้ในประเทศเดนมาร์ก
7) Type G แยกได้จากดินในประเทศอาร์เจนตินา มีรายงานว่าอาจทำให้เกิดโรคbotulism กับคนได้

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *C. botulinum* อยู่ในช่วง 25-37°C ขึ้นกับสายพันธุ์ ช่วงอุณหภูมิต่ำสุดที่สายพันธุ์ส่วนใหญ่เจริญได้ อยู่ในช่วง 10-20 °C แต่สายพันธุ์ที่เจริญในระดับอุณหภูมิต่ำ (psychotrophic strain) ของ type B , E และ F เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำสุดในช่วง 3-5°C

สปอร์ของ *C. botulinum* ทนความร้อน ซึ่งถ้าเป็นสปอร์ของ type A และ สามารถทนต่อการต้มที่อุณหภูมิน้ำเดือดถึง 6 ชั่วโมง สปอร์ของ type C และ D จะทนความร้อนน้อยกว่า และสามารถทำลายสปอร์ของ type E ได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที

สารพิษไม่ทนความร้อน การทำลายสารพิษของ type A และ B กระทำได้โดยใช้ความร้อนที่ 80°C เป็นเวลา 10 นาที ในขณะที่ต้องใช้ความร้อนที่ 60 °C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำลายสารพิษของ type E ดังนั้น การทำลายสารพิษของ *C. botulinum* ในอาหารควรใช้ความร้อนประมาณ 80 °C นาน 30 นาที

แหล่งของเชื้อ โดยปกติสามารถพบ *C. botulinum* ในดินฝุ่นละออง ผัก และผลไม้ สามารถแยกเชื้อได้ง่ายจากแหล่งน้ำ ทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม ตะกอนดินใต้ท้องน้ำ และจากปลา ซึ่งสายพันธุ์ของเชื้อที่แยกได้มักจะเป็นสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ในระดับอุณหภูมิต่ำ (psychotrophic strain) ของ type B ,E และ F สำหรับอาหารที่พบการเจริญของเชื้อและการสร้างสารพิษ ได้แก่ อาหารประเภทบรรจุกระป๋องหรือขวด ทั้งอาหารพวกเนื้อสัตว์ ผัก ผลไม้ และอาหารหมักดอง เชื้อจะสร้างก๊าซเมื่อมีการเจริญ ทำให้กระป๋องมีลักษณะบวม

การทำให้เกิดโรค สารพิษที่สร้างจาก *C. botulinum* เป็นพิษอย่างแรงกับคน โดยเฉพาะสารพิษ type A ถ้าได้รับปริมาณเพียง $1x10^{-8}$ กรัม จะตาย คนที่รับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปร่างกายจะดูดซึมสารพิษในส่วนของลำไส้เล็ก เข้ากระแสเลือด และระบบประสาท จึงจัดสารพิษนี้อยู่ในพวก neurotoxin เนื่องจากมีผลต่อระบบประสาทโดยตรง

ผู้ที่บริโภคอาหารที่มีสารพิษของ *C. botulinum* เข้าไป จะเกิดอาการของโรค botulism ภายใน 4 ชั่วโมง ถึง 4 วัน ภายหลังบริโภคขึ้นกับปริมาณสารพิษที่ได้รับ แต่โดยเฉลี่ย จะเกิดอาการขึ้นภายใน 12-36 ชั่วโมง ซึ่งพบว่ามีอาการอ่อนเพลีย มึนงง คลื่นไส้ อาเจียน ปากแห้ง อาจมีอาการอุจจาระร่วง แต่ในระยะต่อมาจะมีอาการท้องผูก และสารพิษนี้จะมีผลต่อระบบประสาทด้วย ในรายที่มีอาการรุนแรงจะมีอาการตาพร่า กล้ามเนื้อตาเป็นอัมพาต กลืนอาหารลำบาก พูดตะกุกตะกัก ไม่มีไข้ ระบบหายใจขัดข้อง หัวใจวาย และตายในที่สุด โดยปกติจะพบการตายภายหลังการบริโภคอาหารประมาณ 3-6 วัน อัตราการตายประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ถ้าไม่ตายต้องใช้เวลารักษาหลายเดือน

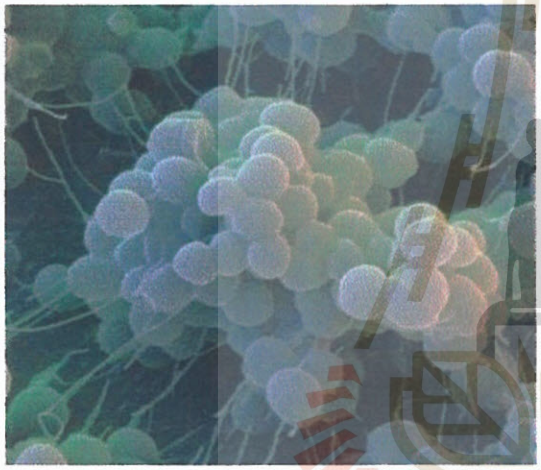
การป้องกัน โรคที่เกิดจากสารพิษของ *C. botulinum* เป็นโรคที่มีอาการร้ายแรง จึงควรระมัดระวังเกี่ยวกับอาหารประเภทบรรจุกระป๋องหรือขวด เริ่มตั้งแต่ควบคุมวิธีการผลิตให้ปลอดภัยจากการปนเปื้อนของเชื้อ หลีกเลี่ยงอาหารกระป๋องที่มีลักษณะบวม หรือผิดปกติอื่นๆ และควรอุ่นอาหารกระป๋องให้เดือดประมาณ 15 นาที ก่อนการบริโภค ถ้ามีป่วยด้วยโรคนี้ต้องได้รับการฉีดต้านซีวพิษ (antioxin) ชนิดที่เรียกว่า botulinum antitoxin

การตรวจหาเชื้อและสารพิษ อาจตรวจหาเชื้อ *C. botulinum* โดยตรงจากการนับจำนวนเซลล์และสปอร์โดยวิธีการย้อมสีแบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent) หรือใช้วิธีแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างอาหารที่ต้องการตรวจเชื้อมาขีดลาก (streak) บนอาหารวุ้น blood agar ที่เติมไข่แดง (egg york) โคโลนีที่เป็นรูปแบบ (typical colony) ของ *C. botulinum* ที่เจริญจะมีตะกอนขุ่นรอบๆ โคโลนี ภายหลังการบ่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำโคโลนีที่ได้เลี้ยงในอาหารเหลว cooked meat หรือใส่ตัวอย่างอาหารที่ต้องการตรวจสอบลงในอาหารเหลว cooked meat เพื่อให้เชื้อเจริญ โดยใช้หนูทดลอง หรือใช้

เทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) หรืออาจสกัดสารพิษจากอาหารโดยตรงเพื่อตรวจหาก็ได้

2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์อยู่ในช่วง 0.5-1 ไมโครเมตร เชื้อไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ในสภาพที่เจริญจะพบเซลล์อยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายพวงผลองุ่น เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 37 °C และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 8°C สามารถทนต่อสภาพความชื้นต่ำ ค่า water activity(a_w) ต่ำสุดที่เจริญได้คือ 0.86 เจริญได้ในที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง ทุกสายพันธุ์สามารถสร้างเอนไซม์ที่ทำให้เลือดหรือพลาสมาจับตัวเป็นก้อน(coagulate) เชื้อสามารถสร้างสารพิษและปล่อยออกมานอกเซลล์ (exotoxin) ปนเปื้อนในอาหาร สารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นมี 6 ชนิด คือ A, B, C_1, C_2, D และ E สารพิษชนิด A และ D เกี่ยวข้องกับอาการเป็นพิษเนื่องจากอาหาร ซึ่งจัดสารพิษนี้อยู่ในกลุ่ม enterotoxin *S. aureus* บางสายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถสร้างสารพิษ ซึ่งพบว่าประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของสายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* ที่สามารถสร้างสารพิษและมีรายงานว่าประมาณ 2 ใน 3 ของสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ สามารถสร้างสารพิษชนิดเดียว ซึ่งมักจะเป็นสารพิษ type A สายพันธุ์ที่เหลือมักจะสร้างสารพิษมากกว่า 1 ชนิด (Hayes , 1992) สารพิษเหล่านี้ทนความร้อน ส่วนใหญ่ทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดนานถึง 30 นาที ดังนั้นถ้าใช้ความร้อนระดับการพาสเจอไรซ์ คือ 62.8°C เป็นเวลา 30 นาที สามารถทำลายเชื้อได้ แต่ไม่สามารถทำลายสารพิษได้



รูปที่ 19 แสดงลักษณะของเชื้อ *S .aureus* ซึ่งคล้ายพวงองุ่น
ที่มา : www.scharfphoto.com

แหล่งของเชื้อ พบ *Staphylococcus aureus* ได้ทั่วไปในอากาศ ฝุ่นละออง น้ำ อาหาร ร่างกายคน ได้แก่ ผิวหนัง หรือตามบาดแผลที่เป็นหนอง แหล่งของเชื้อ *S. aureus* ที่สำคัญที่สุดคือร่างกายคน โดยเฉพาะอย่างยิ่งจมูก ประมาณ 30-40% ของคนที่สุขภาพแข็งแรงจะมีเชื้อสะสมอยู่บริเวณจมูก ตามมือและส่วนอื่นๆ ของร่างกาย อีกแหล่งหนึ่งที่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อคือเส้นผม สำหรับสัตว์ก็เป็นแหล่งของ *S. aureus* ที่สำคัญ โดยเฉพาะโคนมซึ่งอาจติดเชื้อ *S. aureus* ที่เต้านม เกิดโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) และแพร่เชื้อทางนม อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องในการรีดนม คนงาน และแพร่ในฝูงสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังพบได้ง่ายในสัตว์ปีกและปนเปื้อนกับเนื้อสัตว์ปีกด้วย ดังนั้นอาหารที่พบการเจริญของเชื้อและสารพิษ ส่วนใหญ่จึงเป็นอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ นมและผลิตภัณฑ์นม ไข่ และขนมอบต่างๆ อาหารที่ต้องใช้มือจับมาก ๆ เช่น ต้องปั้นหรือหั่นและไม่ผ่านความร้อนอีกก่อนการบริโภค จะมีโอกาสเป็นสาเหตุของโรคที่มีอาการเป็นพิษ

เนื่องจาก *S. aureus* ได้มาก ลักษณะอาหารที่มีเชื้อเจริญ จะมีกลิ่นและรสไม่เปลี่ยนแปลงและไม่แสดงการเน่าเสีย ถึงแม้ว่าจะมีการย่อยสลายโปรตีนและกระบวนการหมักเกิดขึ้นบ้าง

การทำให้เกิดโรค ผู้ที่บริโภคอาหารที่มีสารพิษของ *S. aureus* เข้าไปจะเกิดอาการผิดปกติขึ้นกับระบบทางเดินอาหารอย่างเฉียบพลัน อาการจะเกิดภายหลังได้รับสารพิษในช่วง 1-4 ชั่วโมง โดยเฉลี่ยประมาณ 3 ชั่วโมง ความรุนแรงของอาการขึ้นอยู่กับความต้านทานของผู้บริโภค และปริมาณสารพิษที่บริโภคเข้าไป ระดับของสารพิษที่ทำให้เกิดโรคประมาณ 1 ไมโครกรัม แต่ถ้าเป็นเด็กได้รับสารพิษประมาณ 0.2 ไมโครกรัม ก็อาจเกิดอาการ อาการที่เกิดขึ้นคือ มึนงง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง เป็นตะคริวที่ท้อง และจะหายไปเองภายใน 24-72 ชั่วโมง เมื่อขับถ่ายอาหารที่มีสารพิษออกหมดแล้ว ไม่ค่อยพบการตาย

การป้องกัน การป้องกันโรคระบบทางเดินอาหารที่เกิดเนื่องจากสารพิษของ *S. aureus* กระทำได้ง่ายโดยรักษาความสะอาดในการผลิตอาหาร โดยเฉพาะผู้ผลิต และรับประทานอาหารที่สุกใหม่ ๆ

การตรวจหาเชื้อและสารพิษ *Staphylococcus aureus* ทนความเค็มได้ดี สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์หรือสูงกว่าในบางสายพันธุ์ การเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการจึงมักเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 7.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการตรวจนับ *S. aureus* ในตัวอย่างอาหารคือ Baird-Parker agar ที่เติม potassium tellulite , lithium chloride และไข่แดง โคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญบนอาหารดังกล่าวจะมีสีดำล้อมรอบด้วยบริเวณใส ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และจะพบการตกตะกอนของเลซิตินที่ย่อยสลายแล้ว (hydrolysed lecithin) ในบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อในระยะต่อมา

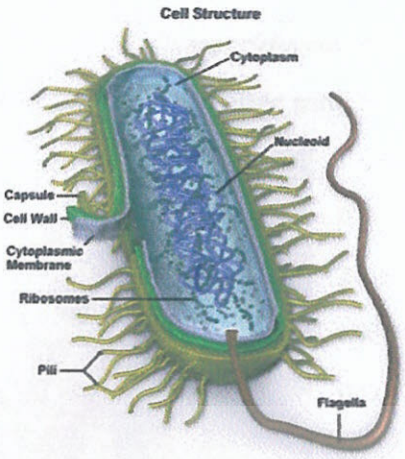
<u>จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อและปนเปื้อนในอาหาร</u>

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อเมื่อปนเปื้อนในอาหารอาจไม่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร แต่ทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคติดเชื้อ (infectious diseases) ได้ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ที่สำคัญ คือ

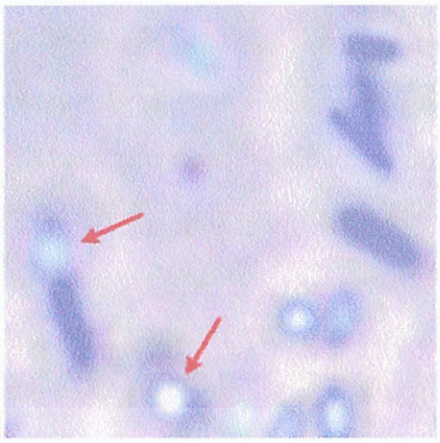
<u>1. Bacillus cereus</u>

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์เป็นท่อนยาว เซลล์มีขนาด 1x3-5 ไมโครเมตร สร้างสปอร์ที่ทนความร้อน สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อได้ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5-30 นาที เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน(facultative anaerobe) เจริญได้ที่อุณหภูมิในช่วง 10-48 °C ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 35-45°C บางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 4 °C แต่เป็นสายพันธุ์ที่ไม่เจริญในอุณหภูมิสูงกว่า 30°C สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคสร้างสารพิษ 2 ชนิด คือ สารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อน(heat-sensitive toxin)ซึ่งสร้างและปล่อยออกนอกเซลล์ในระหว่างการเจริญของเชื้อในระยะที่เรียกว่า logarithmic growth สารพิษชนิดนี้ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 56°C เป็น

เวลา 30 นาที และสารพิษชนิดที่ทนความร้อน (heat-resistant toxin) เป็นสารพิษที่ทนความร้อนที่อุณหภูมิ 126°C ได้นาน ถึง 90 นาที



รูปที่ 20 ลักษณะของเซลล์ของ *B. cereus*
ที่มา : www.singleton_associcate.org



รูปที่ 21 ลักษณะสปอร์ของ *B. cereus* ที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์
ที่มา : www.micro.msb.le.ac.uk

แหล่งของเชื้อ พบ *Bacillus cereus* ได้ทั่วไปในดิน น้ำ และอาหารประเภทต่างๆ เช่น พืช ผัก เนื้อสัตว์ และธัญพืช

การทำให้เกิดโรค ปริมาณเชื้อที่จะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคระบบทางเดินได้ ต้องมีปริมาณมาก ประมาณ 10^5-10^8 ต่อกรัมของอาหาร *Bacillus cereus* ทำให้เกิดโรคได้ 2 ลักษณะคือ

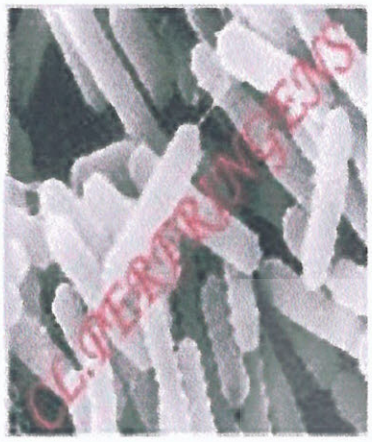
1) อุจจาระร่วง(diarrhea) เกิดเนื่องจากสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อน อาการของโรคเกิดขึ้นภายหลังการบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน 1-5 ชั่วโมง โดยปกติระยะของการป่วยจะนาน 6-24 ชั่วโมง

2) อาเจียน (vomiting) เกิดเนื่องจากสารพิษชนิดที่ทนความร้อน เกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียนภายหลังการบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน 1-5 ชั่วโมง โดยปกติ ระยะของการป่วยจะนาน 6-24 ชั่วโมง

การตรวจหาเชื้อ ในการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* นั้นจำเป็นต้องตรวจนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนอาหาร เนื่องจากต้องพบเชื้อปริมาณมากจึงจะก่อให้เกิดโรคกับผู้บริโภค อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจนับเป็นอาหารเพื่อคัดเลือกเชื้อ (selective medium) ที่เติมสารปฏิชีวนะพอลิมัยซิน (polymyxin) ไข่แดง (egg yolk) แมนนิทอล (mannitol) และสารชี้ความเป็นกรดด่าง (pH indicator) เช่น โบรโมทัยมอลบลู (bromothymol blue) ภายหลังการบ่มเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะพบบริเวณขุ่นรอบโคโลนีของ *B. cereus* เนื่องจากการตกตะกอนของเลซิตินที่ย่อยสลายแล้ว (hydrolysed lecithin) ของไข่แดง และอาหารบริเวณที่เชื้อเจริญจะมีสีน้ำเงิน เนื่องจาก ไม่เฟอร์เมนต์แมนนิทอล ในขณะที่เชื้ออื่นที่สามารถเฟอร์เมนต์แมนนิทอล จะมีโคโลนีสีเหลือง

2.Clostridium perfringens

Clostridium perfringens หรืออีกชื่อหนึ่งที่รู้จักกันคือ *Clostridium welchii* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบว่าเป็นปรสิต (obligate parasite) ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนมีขนาด 0.6-2.4x1.3-19.0 ไมโครเมตร มักพบเซลล์อยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นคู่ ไม่เคลื่อนที่ สร้างสปอร์ทนความร้อนได้ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 37-45 °C เจริญได้ดีในที่มีอุณหภูมิต่ำถึง 15°C ไม่พบการเจริญของเชื้อนี้ที่ระดับความเป็นกรดที่ pH 5.0 และความเป็นด่างที่ pH 8.5 เชื้อสามารถสร้างสารพิษ 5 ชนิด คือ A ,B ,C , D และ E สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารจะสร้างสารพิษชนิด A และ C โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารพิษชนิด A สปอร์ของสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษชนิด A ทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดนานถึง 1-5 ชั่วโมง



รูปที่ 22 ลักษณะของเชื้อ *C.perfringens*

ที่มา : www.iav.ac.ma

แหล่งของเชื้อ เซลล์และสปอร์ของ *C. perfringens* กระจายอยู่ทั่วไปในฝุ่นละออง ดิน มูลสัตว์ และปนเปื้อนในอาหารและอุปกรณ์เครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ อาหารที่พบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้แก่ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ผัก และเครื่องเทศ

การทำให้เกิดโรค *C. perfringens* เมื่อปนเปื้อนกับอาหารแล้วมีการบริโภคเข้าไปซึ่งต้องบริโภคเซลล์ของแบคทีเรียเข้าไปในปริมาณมาก เชื้อจะเข้าไปเจริญและสร้างสปอร์ เชื้อสร้างสปอร์ได้ดีในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น และปล่อยสารพิษออกมาในลำไส้เล็กทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง และเป็นตะคริวที่ท้อง ปกติไม่มีอาการอาเจียนหรือมีไข้ อาการของโรคเกิดขึ้นภายหลังการบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน 6-22 ชั่วโมง

การตรวจเชื้อ ปริมาณเชื้อ *C.perfringens* ที่ปนเปื้อนในอาหารบ่งบอกถึงอันตรายเนื่องจากอาหาร ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจนับปริมาณ(จำนวน)ของเชื้อในอาหาร ซึ่งอาจใช้เทคนิค pour plate หรือ spread plate มีการเจือจางตัวอย่างอาหารเพื่อการตรวจนับ และใช้อาหารเพื่อคัดเลือกเชื้อ(selective medium) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อตรวจนับ *C.perfringens* ชนิดหนึ่งคือ sulfite cycloserine agar ซึ่งเติมสารปฏิชีวนะไซโคลเซอรีน (cycloserine) และสารประกอบของซัลไฟต์ (sulfite) *C.perfringens* สามารถรีดิวซ์ซัลไฟต์ และให้โคโลนีสีดำในขณะที่มีเกลือของเหล็กอยู่ด้วย ภายหลังการบ่มเชื้อในสภาพไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจะทดสอบความสามารถในการเคลื่อนที่(motility) และความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรต (nitrate) เป็นไนไตรท์(nitrite) ของเชื้อจากโคโลนีที่แยกได้เพื่อเป็นการยืนยัน หรืออาจยืนยันโดยการเลี้ยงเชื้อจากโคโลนีที่แยกได้ในอาหารแข็งที่เติมไข่แดง และเติม *C.perfringens* antitoxin ลงไปด้วยในส่วนหนึ่ง

ของอาหาร ภายหลังการบ่มเชื้อ จะสังเกตเห็นลักษณะของโคโลนีของเชื้อที่เจริญในอาหารไข่แดง ที่เติมและไม่เติม antitoxin ซึ่ง antitoxin จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยไข่แดง เมื่อเชื้อเจริญในบริเวณของอาหารที่เติมสารดังกล่าว จึงไม่เกิดบริเวณขุ่นซึ่งเกิดจากการตกตะกอนของเลซิตินที่ย่อยสลายแล้ว

3. Escherichia coli

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในตระกูล *Enterobacteriaceae* รูปร่างเซลล์เป็นท่อนสั้นที่มีขนาด 1.1-1.5x2.0-6.0 ไมโครเมตร เซลล์มักอยู่เดี่ยว ๆ และอาจพบอยู่เป็นคู่ เคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาที่ยื่นออกมารอบเซลล์ (peritrichous flagella) พบเชื้อได้ทั่วไปในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น และในธรรมชาติโดยเฉพาะในดินและในน้ำ จึงใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ (indicator microorganism) ด้านสาธารณะสุขของน้ำและอาหาร

รูปที่ 23 ลักษณะของเซลล์ของ *E.coli*
ที่มา : www.fuga.ru

Escherichia coli มีทั้งสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารกับคนและสายพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดโรค สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารนั้นแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มจะมีความแตกต่างกันในแง่ความรุนแรงและอาการของโรค การแพร่ระบาดของเชื้อ และความแตกต่างของ somatic(O) และ flagella(H) antigen(Lewin, 1987) E. coli ในแต่ละกลุ่มยังมีการจัดจำแนกออกเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า serotype โดยอาศัยความแตกต่างของ O และ H antigen

การตรวจหาเชื้อ การตรวจหา *E.coli* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารของคนจากตัวอย่างอาหารนั้น จะใช้วิธีแยกเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือก (selective medium) ที่ใช้กันแพร่หลายคือ Levin's eosin methylene blue (L-EMB) ซึ่งโคโลนีของ *E.coli* ที่เจริญบนอาหารนี้จะมีลักษณะสีดำเข้มและที่ผิวมีสีเขียวเหลือบคล้ายรอยตัดของโลหะ (metallic sheen) และอาจใช้อาหาร MacConkey agar ควบคู่กันไป เนื่องจาก *E.coli* บางสายพันธุ์เจริญไม่ดีบน L-EMB agar เมื่อแยกโคโลนีของแบคทีเรียโดยใช้ selective medium แล้ว จำเป็นต้องทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อเพื่อจัดจำแนก *E.coli* ออกจากแบคทีเรียอื่น ๆ การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีนี้อาจใช้ชุดทดสอบ (detection kit) ที่มีจำหน่าย และในกรณีที่ต้องการตรวจสอบ *E.coli* กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคจะนำโคโลนีที่แยกได้ไปทดสอบปฏิกิริยาทางซีรัมวิทยา โดยใช้ *E.coli* polyvalent antiserum หลาย ๆ ชนิด ซึ่งในปัจจุบันมีการผลิตออกจำหน่ายเช่นกัน

ในด้านของอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีการพัฒนาในรูปของอาหารแห้ง(film plate) ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางสามารถดูดซับน้ำได้(dry rehydratable film) ซึ่งบริษัท สามเอ็ม(3M) ได้ผลิตอาหารสำเร็จรูปในลักษณะนี้ออกจำหน่ายโดยใช้ชื่อว่า **Petrifilm** ใช้สำหรับตรวจเชื้อในกลุ่ม coliform bacteria, และ faecal coliform (*E.coli*) Petrifilm มีลักษณะเป็นแผ่นกระดาษที่เคลือบไว้ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง(อาหารผสมวุ้น) อย่างบางๆ และเคลือบทับด้วยพอลิเอทิลีน (polyethylene) เมื่อใส่สารละลายที่สงสัยว่ามีเชื้อเช่นความเจือจางต่างๆ ของ

อาหารที่ต้องการตรวจสอบลงไป 1 มิลลิลิตรแล้วปิดทับด้วย polypropylene film(ซึ่งเคลือบด้วย indicator dye) ทำให้เชื้อกระจาย และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25-32 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบ/ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่เจริญ

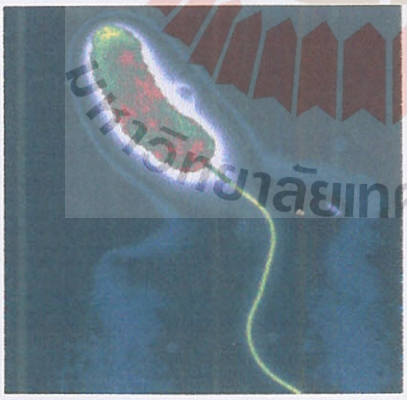
4.Vibrios

Vibrios เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเซลล์เป็นท่อน โค้งเล็กน้อย มีขนาด 0.5-0.8 x 1.4-2.6 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลัมที่มีหนึ่งเส้นที่ปลายขั้วด้านหนึ่งของเซลล์(polar flagellum) เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) *Vibrios* สามารถเจริญได้ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกรดถึงสภาพ ที่เป็นด่าง แต่เจริญได้ดีในอาหารที่มีสภาพเป็นด่าง (pH 8.5-9.5) ในสภาวะที่มีออกซิเจนที่มีอุณหภูมิ 37°C สามารถทำลายเชื้อได้โดยการต้มที่อุณหภูมิ 56°C เป็นเวลา 30 นาที

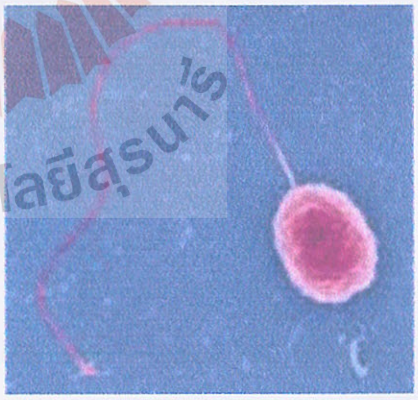
Vibrios species ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ได้แก่ *Vibrio cholerae, V.parahemolyticus, V.alginolyticus , V.vulnificus , V.mimicus ,* และ *V. metschnikovii*

แหล่งของเชื้อ *Vibrios* มีชีวิตอยู่ได้ในธรรมชาติทั่วไปรวมไปถึงในน้ำทะเล หรือน้ำในสภาพที่มีความเป็นด่าง แต่จะตายง่ายในน้ำโสโครก พบได้ตามพืชผักผลไม้และในอาหารต่างๆ

V.parahemolyticus เป็นแบคทีเรียที่ชอบเจริญในสภาพที่เป็นเกลือ (halophilic bacteria) เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3-8 เปอร์เซ็นต์ ไม่เจริญในอาหารที่ไม่มีเกลือดังกล่าวเป็นส่วนประกอบ จึงพบ *V.parahemolyticus* ได้ในน้ำทะเลและปนเปื้อนในอาหารทะเลประเภทกุ้ง ปลา หอย ปูที่ปรุง สุก ๆ ดิบ ๆ เช่น ปลาดิบ กุ้งเต้น หอยนางรม



รูปที่ 24 ลักษณะของเชื้อ *V.cholerae* ที่สังเกตจากกล้องจุลทรรศน์
ที่มา : www.kennislink.nl



รูปที่ 25 ลักษณะของเชื้อ *V.parahemolyticus* ที่สังเกตจากกล้องจุลทรรศน์
ที่มา : www.microscopyconsulting.com

การทำให้เกิดโรคของเชื้อกลุ่ม *Vibrios* *Vibrios cholerae* ทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรคในคน และเป็นโรคติดต่อที่มีการระบาดรวดเร็วมาก เนื่องจากเชื้อสามารถเกาะกับผนังลำไส้เล็กและเพิ่มจำนวน แต่ไม่บุกรุกผ่านผนังลำไส้ หรือบุกรุกไปยังอวัยวะอื่นๆ ของร่างกาย โดยสร้างสารพิษที่มีชื่อว่า cholera toxin (CT) CT เป็นสารพิษที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น polypeptide ที่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ adenyl cyclase ในเยื่อบุลำไส้ ทำให้มีการผลิต cyclic adenosine monophosphase (cAMP) เพิ่มมากขึ้น มีผลทำให้เกิดการหลังน้ำและเกลือแร่เข้าสู่ลำไส้เล็ก ทำให้มีอาการอุจจารร่วงเป็นน้ำมีลักษณะเหมือนน้ำซาวข้าวจำนวนมาก อาการของโรคจะปรากฏหลังการได้รับเชื้อ 1-4 วัน ผู้ป่วยมักมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและมีอาการอุจจาระร่วง ร่างกายสูญเสียน้ำมาก อาจมากถึง 10-15 ลิตรต่อวัน ถ้ารักษาไม่ทันอาจมีอาการช็อคและตายได้

ส่วน *Vibrios* สายพันธุ์อื่น ๆ อาจทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) หรือโรคอุจจาระร่วงที่มีอาการคล้ายอหิวาตกโรคเนื่องจากความสามารถของเชื้อในการสร้างสารพิษหรือเอนไซม์

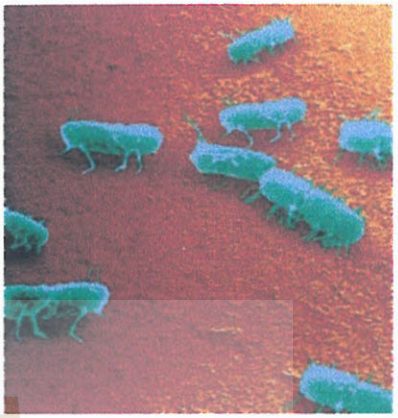
การตรวจหาเชื้อ การแยกเชื้อ *Vibrios* จากตัวอย่างอาหารหรืออุจจาระร่วงของผู้ป่วยนิยมเพาะเลี้ยงบนอาหารเพื่อคัดเลือกเชื้อ (selective medium) เช่น บน Thiosulfate citrate bile-salt sucrose (TCBS) agar ทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อกลุ่มนี้มากขึ้น และในการตรวจหา *Vibrios* นี้มักจะนำเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างอาหารมาเลี้ยงใน alkaline peptone water (pH 8.4-8.6) หรือ alkaline peptone water ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นอาหารเสริม (enrichment medium) ก่อนประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงลงบน TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ลักษณะของ *Vibrios* แต่ละ species ที่เจริญบน TCBS agar จะแตกต่างกัน ซึ่งถ้าเป็นโคโลนีของเชื้อ *Vibrios cholerae* จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร มีลักษณะกลม ขอบเรียบ ไม่ทึบแต่ไม่โปร่งแสง และมีสีเหลืองเนื่องจากสามารถใช้น้ำตาลซูโครสในอาหารได้ ทำให้เกิดกรด สีของอาหารเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง โคโลนีของเชื้อที่ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลซูโครสในอาหารจะมีสีเขียว ได้แก่ *V.parahemolyticus* ซึ่งมีโคโลนีสีเขียวขนาดใหญ่

5. Salmonella

Salmonella จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับลำไส้(enteric bacteria) ในตระกูล Enterobacteria ceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อนสั้นที่มีขนาด 0.7-1.5 x 2.0-5.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยื่นออกมารอบเซลล์(peritrichous flagella) เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน(facultative anaerobe) สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสแล้วเกิดกรดและแก๊ส ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโทสและซูโครส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ประมาณ 38°C และไม่

เจริญที่อุณหภูมิต่ำถึง 7-8 °C สามารถทำลายเชื้อได้ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 15-20 นาที เชื้อสามารถสร้างสารพิษ (endotoxin) ซึ่งเป็น lipopolysaccharide อยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์

รูปที่ 26 ลักษณะ vegetative cell ของเชื้อ *Salmonella spp.*
ที่มา : www.nature.com



รูปที่ 27 แสดงเชื้อ *Salmonella spp.* ที่เกาะตามผนังกระเพาะและลำไส้
ที่มา : www.astrosurf.com

การทำให้เกิดโรค *Salmonella* subspecies I ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงที่เรียกว่า salmonellosis ซึ่งโดยปกติจะมีอาการหลังบริโภคอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนในปริมาณที่มากพอ ($\geq 10^5$ เซลล์) ประมาณ 12-36 ชั่วโมง อาการจะปรากฏอยู่นานตั้งแต่ 1-5 วัน อาการของโรคที่พบได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง ปวดท้อง มีไข้ และอ่อนเพลีย ซึ่งเป็นผลเนื่องจากสารพิษ (endotoxin) ที่เชื้อสร้างขึ้น โรคอุจจาระร่วงที่มีอาการรุนแรงกว่า salmonellosis ปกติและเกิดจาก *S.Typhi* มีชื่อเฉพาะว่าโรค (ไข้) ไทฟอยด์ (typhoid fever หรือ enteric fever) และที่เกิดจาก *S.Paratyphi* เรียกว่า โรคพาราไทฟอยด์ ผู้ป่วยด้วยไข้ไทฟอยด์จะมีไข้สูงในระยะแรกและพบเชื้อในเลือดและปัสสาวะในระยะต่อมาด้วย ความรุนแรงของอาการที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อ serotype ของเชื้อที่บริโภค และความต้านทานของผู้บริโภค การแพร่เชื้อเกิดขึ้นได้ง่ายจากอุจจาระของคนและสัตว์ที่ป่วยหรือเป็นพาหะ และมีการปนเปื้อนในอาหารและน้ำ เชื้อแพร่กระจายได้ในดิน แหล่งน้ำ น้ำดื่ม และน้ำใช้ ซึ่งอาจทำให้กุ้ง หอย ปูและปลาที่จับจากแหล่งน้ำนั้นมีเชื้อปนเปื้อนอยู่ด้วย

การตรวจหาเชื้อ ในการตรวจหาเชื้อในตัวอย่างอาหาร เริ่มด้วยขั้นตอน pre-enrichment เพื่อให้เกิดการคืนสภาพของเซลล์ที่บาดเจ็บโดยใช้อาหารเหลว nutrient broth (NB) หรือ trypticase soy broth (TSB) หรือ น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เติมสี เช่น brilliant green (ในกรณีของตัวอย่างที่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารมาก) จากนั้นจึงเลี้ยงเชื้อในอาหารเสริม (enrichment medium) เช่น selenite cystein broth (SCB) หรือ tetrathionate broth (TTB) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่สามารถเจริญได้ แล้วจึงแยกเชื้อโดยใช้อาหารแข็งที่เป็นอาหารเพื่อคัดเลือกเชื้อ (selective medium) ได้แก่ brilliant green (BG) agar ,

desoxycholate citrate (DC) agar , desoxycholate hydrogen sulfide lactate (DHL) agar , xylose lysine desoxycholate (XLD) agar และ Salmonella-Shigella (SS) agar เป็นต้น ใน selective medium นี้จะเติม selective agent หลายชนิด แลคโทส และสารชี้ความเป็นกรดด่าง (pH indicator) เช่น phenol red หรือ neutral red เชื้อ *Salmonella* ไม่เฟอร์เมนต์แลคโทสและสร้างไฮโดรเจรซัลไฟด์ ทำให้โคโลนีที่เจริญมีสีและลักษณะแตกต่างจากโคโลนีของเชื้อที่สามารถฟอร์เมนต์แลคโทสและไม่สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เช่นถ้าใช้อาหาร brilliant green (BG) agar ให้สังเกตลักษณะโคโลนีสีชมพูใส บริเวณรอบๆ อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีชมพูจนถึงแดง bismuth sulfide (BS) agar ให้สังเกตลักษณะโคโลนีสีน้ำตาล เทา หรือดำ บางครั้งมี metallic sheen บริเวณรอบๆ โคโลนีที่มีสีน้ำตาล ถ้าใช้อาหาร xylose lysine desoxycholate (XLD) agar ให้สังเกตลักษณะโคโลนีสีแดงใส อาจมีหรือไม่มีจุดดำ และถ้าใช้อาหาร Salmonella-Shigella (SS) agar ให้สังเกตลักษณะโคโลนีไม่มีสี ใส หรือทึบแสง อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลาง ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Salmonella*

2. <u>Reay-to-eat -Food</u>

ในปัจจุบันวิถีชีวิตของผู้คนเปลี่ยนไป คนมีเวลาน้อยลง ต้องการความสะดวก รวดเร็ว มากยิ่งขึ้น ทำให้การทำอาหารเพื่อรับประทานเองที่บ้านลดลง มีการบริโภคอาหารสำเร็จรูป Ready-to-eat Food (Cooked Food & Precooked Food) เพิ่มมากขึ้น ทำให้อาหารประเภทนี้เข้ามามีส่วนในชีวิตประจำวันของผู้คนทั่วไป ไม่ว่าจะเป็น อาหารตามร้านอาหารทั่วไป อาหารสำเร็จรูปที่จำหน่ายตามซุปเปอร์มาร์เก็ต อาหารตามร้านฟาสต์ฟู้ดต่างๆ อาหารให้บริการที่ร้านในห้างสรรพสินค้า เช่น สุกี้ ฯลฯ อาหารบุฟเฟต์ที่โรงแรม อาหารกล่องทั่วไป รวมทั้งอาหารให้บริการสายการบินด้วย

Ready-to-eat Food นี้ สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะของอาหาร คือ

- **อาหารเสริฟร้อน** ได้แก่ อาหารที่ผ่านการปรุงสุกได้ที่ โดยมีอุณหภูมิแกนกลางอาหารหลังปรุงสุกไม่ต่ำกว่าระดับ Pasteurization รวมทั้ง มีการอุ่นให้ร้อน (Reheat) โดยใช้ความร้อนระดับ Pasteurization ก่อนเสริฟให้บริการ
- **อาหารเสริฟเย็น** ได้แก่ อาหารที่ผ่านกระบวนการทำให้ปลอดภัย (เช่น ทำให้สุก , ล้างผักให้สะอาด , รมควัน ฯลฯ) และเสริฟให้บริการโดยไม่ Reheat ก่อนเสริฟ

เทคโนโลยีของการผลิตอาหาร Ready-to-eat Food นี้ มีหลักการทั่วไปเหมือนกัน คือ ต้องมีการควบคุมอุณหภูมิของอาหารทุกขั้นตอนไม่ให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ **10-60** °C (Danger Zone) ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่จุลินทรีย์ต่างๆ รวมทั้งที่สามารถก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษเจริญเติบโตได้ดี ทำให้ต้องมีการควบคุมให้เกิด **"Cold Chain"** ทั้งกระบวนการผลิตอาหาร มีการปรุงอาหารให้สุกเพียงพอ และลดอุณหภูมิอาหารหลังปรุงสุกอย่างรวดเร็วเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อทนร้อนที่หลงเหลืออยู่ มีการควบคุมไม่ให้เกิดความล่าช้า

รวมทั้งต้องมีสุขลักษณะที่ดีในการผลิต สามารถป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ไม่ให้ปนเปื้อนในอาหารที่เตรียมเสร็จแล้ว

3. <u>ความปลอดภัยทางอาหาร</u> (Food safety)

ความปลอดภัยของอาหารถือเป็นความต้องการของลูกค้า ที่ไม่จำเป็นต้องบ่งบอกเป็นลายลักษณ์อักษรและไม่สามารถต่อรองได้

<u>ผลกระทบที่เกิดจากความไม่ปลอดภัยในอาหาร</u>

- เป็นคดีความ
- ผู้บริโภคเจ็บป่วย
- เสียค่าประกันเพิ่มขึ้น
- เสียชื่อเสียงและความน่าเชื่อถือ
- พนักงานตกงาน
- สูญเสียลูกค้า
- เสียรายได้ ขาดทุน ปิดกิจการ
- พนักงานเสียขวัญและกำลังใจ

<u>ความเจ็บป่วยที่เกิดจากอาหาร</u>

อาการป่วยเช่น ปวดท้อง, คลื่นไส้, อาเจียน, ท้องร่วง, เป็นไข้, กล้ามเนื้อเป็นอัมพาต, การหายใจล้มเหลว, ช็อก, เสียชีวิต อาการบาดเจ็บ เช่น ฟันหัก, ฟันบิ่น, เกิดบาดแผลในปาก, ทางเดินอาหาร, ติดคอ

<u>อันตรายในอาหารและการควบคุม</u>

อันตรายในอาหาร หมายถึงสิ่งที่อยู่ในอาหารและอาจก่อให้เกิดโทษ ซึ่งมีผลต่อสุขภาพของมนุษย์ แบ่งออกได้3กลุ่มคือ 1.อันตรายทางชีวภาพ 2.อันตรายทางกายภาพ 3.อันตรายจากสารเคมี

<u>1. อันตรายชีวภาพ</u> (Biological Hazard)

ประกอบด้วย

- จุลินทรีย์ต่างๆ ได้แก่แบคทีเรีย,ยีสต์,รา,ไวรัส
- โปรโตซัว
- หนอนพยาธิ
- สารพิษจากสัตว์ทะเลต่างๆ

<u>แบคทีเรีย</u> (Bacteria)

- เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวขนาดเล็กมาก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็นขนาด0.5-1.0*2.0-5.0 ไมโครมิเตอร์
- บางชนิดสร้างสปอร์ได้
- บางชนิดสร้างสารพิษได้

<u>สปอร์</u> **(Spore)**

คือเซลล์ของแบคทีเรียในรูปแบบพิเศษที่เกิดขึ้นเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเพื่อให้มันสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้

-สปอร์จะทนทานต่อความร้อนและยาฆ่าเชื้อต่างๆ ได้ดีกว่าเซลล์ปกติ

-เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมสปอร์จะกลายเป็นเซลล์ปกติ และสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้

แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้ตัวอย่างเช่น Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum เชื้อเหล่านี้พบอยู่ทั่วไปตามดิน และในลำไส้ของสัตว์ต่างๆ

สปอร์และเซลล์ปกติของเชื้อโรคเหล่านี้อาจปะปนอยู่กับวัตถุดิบต่างๆเช่น เนื้อสัตว์ ปลา สัตว์ปีก ผัก เป็นต้น ซึ่งความร้อนที่ใช้ในการปรุงประกอบอาหารจะทำลายเซลล์ปกติแต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ได้หมด หากอุณหภูมิของอาหารอยู่ระหว่าง 29-50 องศาเซลเซียส สปอร์จะกลายเป็นเซลล์ปกติ และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และจะสร้างสารพิษได้ในช่วงนี้ และเมื่อรับประทานอาหารนั้นเข้าไปก็จะเกิดการเจ็บป่วยได้

<u>การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย</u>

แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนแบบ Log (เพิ่มเกือบ10เท่า) ทุกๆ1ชั่วโมง

<u>อุณหภูมิเขตอันตรายในการผลิตอาหาร</u>

ช่วงอุณหภูมิ10-60 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี ถือว่าเป็นช่วงอุณหภูมิอันตรายในการผลิตอาหาร

<u>การเกิดอาหารเป็นพิษ</u>

อันตรายทางชีวภาพส่วนใหญ่เกิดจากจุลินทรีย์ ซึ่งมีลักษณะของการเป็นพิษ2 แบบ

1. **Infection** เกิดจากการบริโภคจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเช่น Salmonella,Shigella,Virus
2. **Intoxication** เกิดจากการบริโภคสารพิษ (toxic) ที่จุลินทรีย์สร้างไว้ในอาหาร เช่น Staph.Toxin, Botulinum Toxin

<u>2. อันตรายทางกายภาพ</u> **(Physical Hazard)**

อันตรายทางกายภาพจะหมายถึงสิ่งแปลกปลอมซึ่งตามปกติไม่ควรมีในอาหารประเภทนั้นๆ เช่น เศษโลหะ เศษไม้ เศษแก้ว เมื่อผู้บริโภครับประทานสิ่งแปลกปลอมเหล่านี้เข้าไปจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพ อันตรายทางกายภาพนี้มีผลกระทบที่ปรากฏชัดเจนภายในเวลาไม่นานหลังจากบริโภคเข้าไป และผู้บริโภคมักจะเรียกร้องทันที อันตรายทางกายภาพนี้มีผลกระทบต่อทั้งผู้บริโภคและชื่อเสียงของบริษัทมาก

อันตรายทางกายภาพเหล่านี้มีที่มาจากแหล่งต่าง ๆ หลากหลายมาก และการแพร่กระจายก็ไม่สม่ำเสมอ ทำให้การสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจเช็คอันตรายทางกายภาพไม่มีผล ดังนั้น **มาตรการควบคุมอันตรายทางกายภาพจึงเน้นการป้องกันในขั้นต้น**

ตารางที่ 5 ตัวอย่างอันตรายทางกายภาพและลักษณะของอันตรายที่เกิดขึ้น

อันตรายทางกายภาพ	ลักษณะของอันตรายและการบาดเจ็บ
เศษแก้ว	จะบาดอวัยวะต่าง ๆ ทำให้เลือดออก อาจต้องใช้ศัลยแพทย์เพื่อค้นหาหรือนำออกจากร่างกาย
เศษโลหะ	จะบาดอวัยวะต่าง ๆ ทำให้ฟันหักหรือบิ่น อาจต้องใช้ศัลยแพทย์เพื่อค้นหาหรือนำออกจากร่างกาย
เศษไม้	จะฝังในอวัยวะต่าง ๆ ทำให้บาดเจ็บเป็นแผล
เศษหิน	อาจทำให้ฟันบิ่นหรือหักได้

ที่มา : สุวิมล กีรติพิบูล (2546)

3. อันตรายทางเคมี (Chemical Hazard)

การปนเปื้อนจากสารเคมีอาจเกิดขึ้นในทุกขั้นตอนของกระบวนการแปรรูปอาหาร สารเคมีบางอย่างเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องใช้ เช่น สารฆ่าแมลงที่ใช้กับผักผลไม้ แต่สารเคมีเหล่านี้จะไม่มีอันตรายถ้ามีการใช้และควบคุมอย่างถูกต้อง ถ้าใช้สารเคมีโดยไม่มีการควบคุมหรือไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำในการใช้จะเป็นการเสี่ยงต่อผู้บริโภค การที่มีสารเคมีตกค้างไม่ได้หมายถึงอันตรายเสมอไป ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและปริมาณของสารเคมีตกค้าง สารเคมีบางอย่างจะต้องมีการสะสมเป็นระยะเวลานานกว่าจะเกิดอันตรายขึ้นได้

อันตรายที่เกิดจากสารเคมีนั้นจะมีลักษณะที่แตกต่างจากอันตรายจากชีวภาพ กล่าวคือ อันตรายทางชีวภาพเมื่อเกิดขึ้นก็มักจะแพร่กระจายไปกับอาหารอย่างสม่ำเสมอและรวดเร็ว แต่อันตรายทางเคมีนั้นจะไม่มีการแพร่กระจายมากนัก ทำให้การสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจเช็คอันตรายทางเคมีไม่มีผล ดังนั้น มาตรการควบคุมอันตรายทางเคมีจึงเน้นการป้องกันในขั้นต้น และความถี่ในการตรวจเช็คเพื่อป้องกันไม่ให้มีการปนเปื้อนต้องเพียงพอที่จะสามารถประกันความปลอดภัยของอาหารได้ อันตรายจากเคมีมาจากแหล่งต่าง ๆ 4 แหล่ง คือ

1. สารเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ

สารเคมีหรือสารพิษเหล่านี้อาจมาจากตัวพืช สัตว์ และจุลินทรีย์บางชนิดที่สร้างขึ้นมาโดยธรรมชาติ เช่น สารพิษอะฟลาทอกซิน จากเชื้อรา *Aspergillus flavus* เป็นต้น ส่วนใหญ่สารเคมีเหล่านี้จะเกิดขึ้นในช่วงก่อนหรือระหว่างเก็บเกี่ยว แม้ว่าสารพิษที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติหลายชนิดจะเกิดขึ้นจากกระบวนการทางชีวภาพ แต่ก็จัดเป็นอันตรายทางเคมี

2. สารเคมีที่เติมลงไปโดยเจตนา

สารเคมีเหล่านี้จงใจเจิมลงไปในอาหารเพื่อช่วยในกระบวนการผลิต เช่น การเติมสีผสมอาหาร การเติมดินประสิว (สารประกอบไนไตรต์) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผลิตภัณฑ์ไวน์ เป็นต้น การใช้สารเคมีเหล่านี้จะปลอดภัยถ้าใช้ในปริมาณที่กำหนด

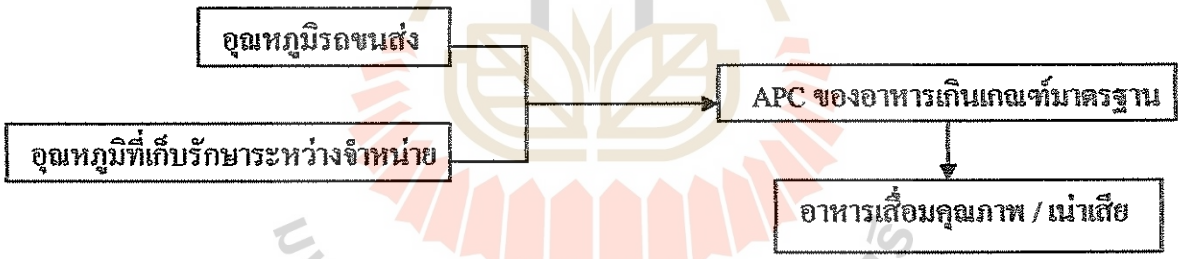
3. สารเคมีที่อาจปนเปื้อนมาโดยไม่เจตนา

สารเคมีบางอย่างอาจมีการปนเปื้อนในอาหารโดยไม่เจตนา สารเคมีเหล่านี้อาจติดมากับวัตถุดิบที่ใช้ เช่น สารปฏิชีวนะตกค้างที่พบในกุ้ง ไก่ น้ำนมวัว สารฆ่าแมลงตกค้างในผักและผลไม้ สารอะฟลาทอกซินในน้ำนมวัว สารเคมีที่ปนเปื้อนมากับวัสดุหีบห่อ เช่น การปนเปื้อนของหมึกพิมพ์ สารเคมีเหล่านี้จะไม่มีผลต่อความปลอดภัยมากนักถ้าระดับการปนเปื้อนไม่สูงจนเกินไป ผู้ผลิตจึงควรศึกษาข้อกำหนดเกี่ยวกับสารตกค้างในผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง และพยายามหาแหล่งวัตถุดิบที่มีการปนเปื้อนของสารเหล่านี้ให้น้อยที่สุด

4. สารเคมีที่ใช้ในโรงงาน

สารเคมีที่ใช้ในโรงงาน ได้แก่ สารหล่อลื่น สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด สารฆ่าเชื้อ หรือสารที่ใช้ทาเครื่องจักรผลิตอาหาร สารเคมีเหล่านี้จำเป็นต้องเป็นสารเคมีที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ในโรงงานผลิตอาหารเท่านั้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารเคมีที่ใช้จะได้รับอนุมัติให้ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารได้ก็ตาม ผู้ผลิตอาหารก็ยังต้องมีแนวทางการควบคุมสารเคมีเหล่านี้ไม่ให้มีการปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์อาหารด้วย

<u>สมมติฐานของการวิจัย</u>



ปัจจัยที่มีผลให้เกิดการเน่าเสียที่เร็วกว่าปกติของผลิตภัณฑ์ Puff&Pie เกิดจากการควบคุมอุณหภูมิของรถขนส่งและตู้แช่ไม่ได้ตามเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งเกิดจากการที่รถขนส่งผลิตภัณฑ์ Puff&Pie เป็นรถที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ และในการวางจำหน่ายพนักงานจะเปิดฝาตู้แช่ทิ้งไว้ตลอดเวลา จึงทำให้อุณหภูมิของตู้แช่สูงขึ้นจนใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง(25°C) ซึ่งเอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์ใช้อากาศเจริญเติบโตได้ดี และส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ Puff & Pie เสื่อมคุณภาพเร็วขึ้น โดยเฉพาะ เอแคลร์

การที่ไม่นำเวลาในการขนส่งมากำหนดเป็นตัวแปรหนึ่งในสมมติฐานนั้น เนื่องจาก ในการวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์ Puff & Pie จะวางจำหน่ายหมดภายใน 1 วัน ถ้าเหลือจะนำมาให้พนักงานในบริษัทรับประทานในช่วงเช้าของวันถัดไป อีกทั้งการขนส่งผลิตภัณฑ์ไปวางขายตามสถานที่จำหน่ายจำเป็นต้องเร่งขนส่งให้ทันเวลา เมื่อรวมกับเวลาในการจำหน่ายจึงคงที่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงได้

<u>แผนการทดลอง</u>

ตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์คือ ผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ประเภท Cold Meal โดยทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร 2 ซ้ำ และทำการเจือจางแต่ละตัวอย่าง และทำการเจือจางแต่ละตัวอย่าง ตามจำนวนเชื้อที่ได้จากการทำการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นก่อนทำการวิจัยจริง ดังนี้

<u>ตารางที่ 6</u> แสดงค่าความเจือจางที่ใช้ในการทดลอง

ชั่วโมงที่	Dilution	
	5°C	25 °C
0	10^{-1}, 10^{-2}	10^{-1}, 10^{-2}
3	10^{-2}, 10^{-3}	10^{-3}, 10^{-4}
6	10^{-2}, 10^{-3}	10^{-3}, 10^{-4}
8	10^{-2}, 10^{-3}	10^{-3}, 10^{-4}
24	10^{-3}, 10^{-4}	10^{-5}, 10^{-6}
27	10^{-3}, 10^{-4}	10^{-5}, 10^{-6}
30	10^{-3}, 10^{-4}	10^{-5}, 10^{-6}

<u>วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี</u>

1. Weight balance
2. Sterile scissor
3. SterilePlastic bag
4. Tube 16 x 100 ml.
5. Sterile measuring cylinder 250 ml.
6. Sterile graduated pipette 1 ml., 5 ml., 10 ml.
7. Stomacher
8. Bunsen burner
9. Incubator 35°C
10. Sterile glass spreader
11. Phosphate buffer saline
12. 3 M Petrifilm สำหรับหา Aerobic Plate Count
13. Mannital Salt Egg Yolk Kanamycin Agar (MYK)
14. Culture tube racks

การเก็บตัวอย่างอาหาร

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ โดยใช้ภาชนะบรรจุ เครื่องมือ เครื่องใช้ที่ปราศจากเชื้อและต้องป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก

การเตรียมตัวอย่างอาหารสำหรับการตรวจวิเคราะห์

นำตัวอย่างอาหารที่ทำการสุ่ม ชั่งใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อถุงละ 25 กรัม จำนวน 30 ถุง จากนั้นเก็บตัวอย่างอาหารแต่ละถุงไว้ที่ 5°C(ตู้เย็น) และอุณหภูมิ 25°C(Incubater) และนำตัวอย่างแต่ละถุงมาทำการตรวจวิเคราะห์ตามระยะเวลาที่ 0 (เริ่มต้น) , 3 , 6 ,8 ,24 ,27 และ 30 ชั่วโมง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

การตรวจวิเคราะห์

ตรวจวิเคราะห์หาค่า Aerobic Plate Count ของตัวอย่างอาหารที่ถูกทิ้ง ไว้ที่อุณหภูมิ 5°C และ25°C ในแต่ละช่วงเวลา

วิธีการหา Aerobic Plate Count ในอาหาร

ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ phosphate buffer saline 225 ml

↓

ตีปั่นในเครื่อง Stomacher 30 sec. (จะได้ dilution ที่ 10^{-1})

↓

ปิเปต1 ml ใส่ tube ที่มี Buffer 9 ml เขย่าให้เข้ากัน จะได้ dilution 10^{-2}

ทำ Dilution จนถึง dilution ที่กำหนด

↓

ปิเปตสารละลายที่อยู่ใน Tube ที่มีความเจือจางที่กำหนดไว้ 1 ml

ลงบน Petrifilm สำหรับตรวจหา Aerobic Plate Count

↓

ปิเปตสารละลายที่อยู่ใน Tube ที่มีความเจือจางที่กำหนด 1 ml

ลงบน Petrifilm สำหรับตรวจหา Aerobic Plate Count

↓

Incubate ที่ 35±1 °C เป็นเวลา 48 hr.

↓

นับจำนวนโคโลนีสีแดงที่เกิดขึ้นทั้งหมด

การรายงานผล

นับโคโลนีสีแดงทั้งหมด คูณด้วย Dilution Factor เป็นค่า CFU / gm ของอาหาร ถ้าไม่พบโคโลนี รายงานผล < Dilution Factor CFU/gm

ผลการทดลอง

ตารางที่ 7 ปริมาณจุลินทรีย์ APC ในเอแคลร์ที่เวลาการเก็บต่าง ๆ ภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 และ 25 °C

ชั่วโมงที่	APC (cfu/g)					
	5 °C			25 °C		
	1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย
0	210	100	150	210	210	150
3	600	1,000	800	1,000	1,000	1,000
6	800	1,000	900	1,000	1,000	1,000
8	1,000	800	900	2,000	2,000	2,000
24	4,000	4,000	4,000	2.3×10^{6}	2.5×10^{6}	2.4×10^{6}
27	7,000	4,000	7,000	1.5×10^{7}	2.3×10^{7}	1.9×10^{7}
30	10,000	12,000	11,000	6.5×10^{7}	1.28×10^{8}	9.6×10^{7}

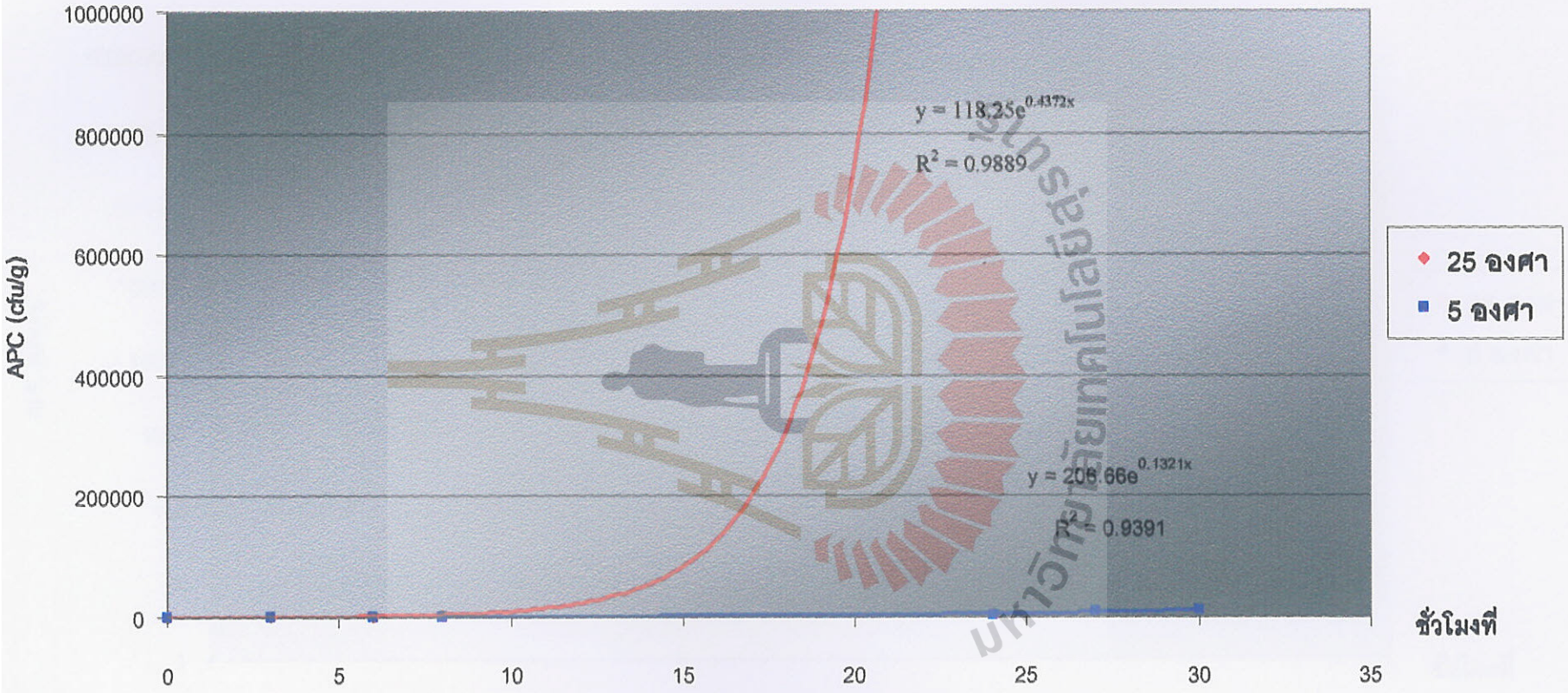
ตารางที่ 8 แสดงปริมาณเชื้อ APC และอายุการเก็บ ของผลิตภัณฑ์เอแคลร์จากการคำนวณ ภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 และ 25 °C

ปริมาณเชื้อ APC (cfu/g)		อายุการเก็บชั่วโมงที่
25°C	5°C	
1,000,000*	3,300	21
10,000,000	6,200	26
100,000,000**	12,000	31

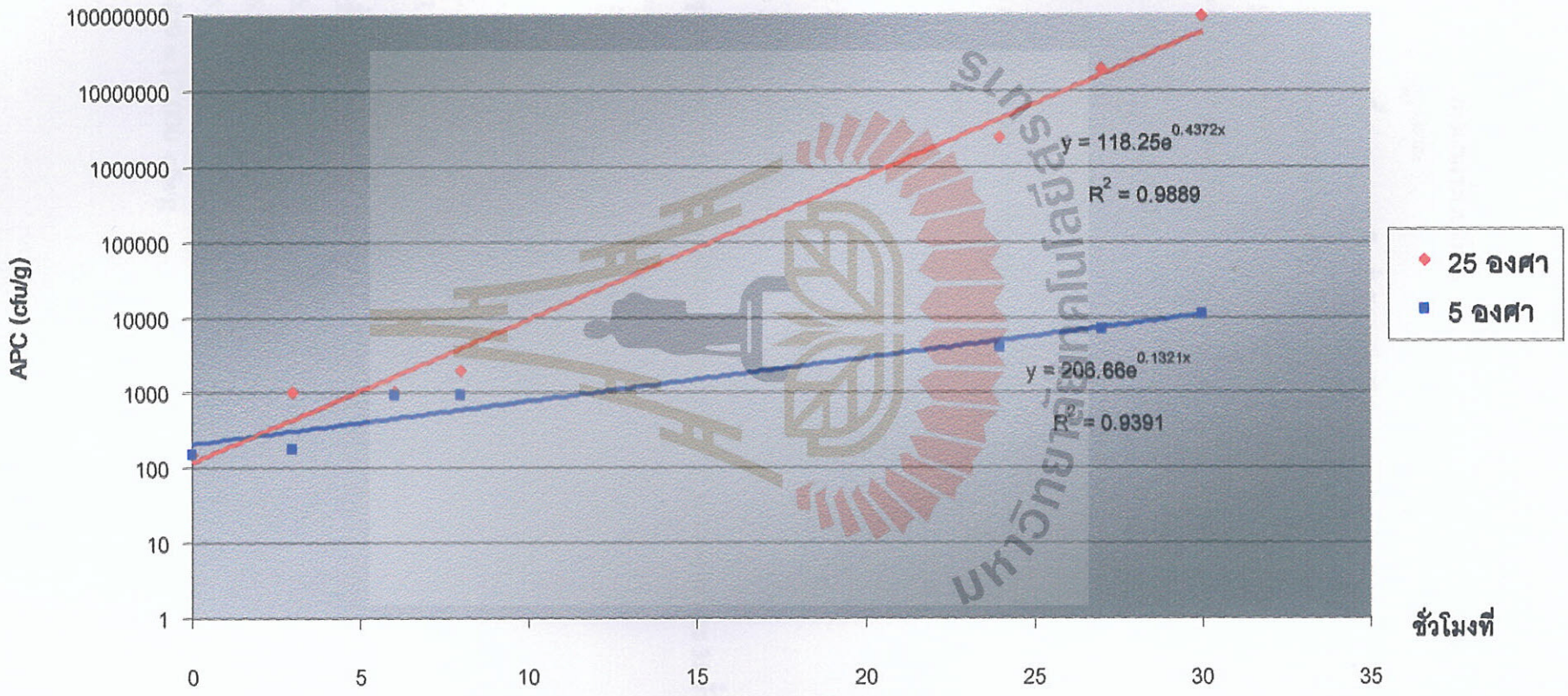
หมายเหตุ * เกณฑ์คุณภาพอาหารที่มีคุณภาพดี (IFCA/IFSA Food Safety Guidelines 2000.) ตามมาตรฐานสากล APC จะต้องไม่เกิน 1,000,000 cfu/g

** ปริมาณเชื้อที่ 100,000,000 cfu/g คือ ปริมาณเชื้อที่อาหารทั่วไปเริ่มเน่าเสีย

กราฟที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเอแคลร์ ภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 และ 25 องศาเซลเซียส



กราฟที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเอแคลร์ ในรูปของ log กราฟ
ภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 และ 25 องศาเซลเซียส



<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

1. การคำนวณหาอายุการเก็บเอแคลร์ภายใต้สภาวะการเก็บที่ 25 °C

จากสมการ $y = 118.25e^{0.4372x}$

เมื่อ y คือ จำนวนเชื้อ และ x คือ ชั่วโมงการเก็บ

- ที่ปริมาณเชื้อ (y) เท่ากับ 1,000,000 cfu/g

$$10^6 = 118.25e^{0.4372x}$$
$$\ln 10^6 = \ln 118.25 + 0.4372x$$
$$x = \ln\left(\frac{10^6}{118.25}\right)/0.4372$$
$$x = 20.68 \approx 21 \text{ ชั่วโมง}$$

- ที่ปริมาณเชื้อ (y) เท่ากับ 100,000,000 cfu/g

$$10^8 = 118.25e^{0.4372x}$$
$$\ln 10^8 = \ln 118.25 + 0.4372x$$
$$x = \ln\left(\frac{10^8}{118.25}\right)/0.4372$$
$$x = 31.21 \approx 31 \text{ ชั่วโมง}$$

2. การคำนวณหาจุลินทรีย์ของเอแคลร์ภายใต้สภาวะการเก็บที่ 5 °C ณ เวลา 21 และ 31 ชั่วโมง

จากสมการ $y = 206.66e^{0.1321x}$

- <u>ณ เวลา 21 ชั่วโมง</u>

$$y = 206.66e^{0.1321x}$$
$$y = 206.66e^{(0.1321)(21)}$$
$$y = 206.66 \times 16.02$$
$$= 3{,}311 \approx 3{,}300 \text{ cfu/g}$$

- <u>ณ เวลา 31 ชั่วโมง</u>

$$y = 206.66e^{0.1321x}$$
$$y = 206.66e^{(0.1321)(31)}$$
$$y = 206.66 \times 60.04$$
$$= 12{,}409 \approx 12{,}000 \text{ cfu/g}$$

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

จากการศึกษา Aerobic Plate Count ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ซึ่งเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 อุณหภูมิ คือ 5 °C ซึ่งคืออุณหภูมิตู้เย็น และ 25 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิของจุดจำหน่ายผลิตภัณฑ์ Puff&Pie เป็นเวลา 0(เริ่มต้น), 3, 6, 8 , 24, 27 และ 30 ชั่วโมง พบว่า ที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง) นั้น พบว่าผลิตภัณฑ์เอแคลร์มีปริมาณ Aerobic Plate Count 150 cfu/g ซึ่งมีปริมาณเชื้อน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อมาตรฐานสากลยอมรับ ทำให้ช่วยถนอมรักษาคุณภาพของอาหารได้ แต่เมื่อเวลาการเก็บตัวอย่างเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิ 25 °C จะทำให้ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณเชื้อเกินเกณฑ์ (มากกว่า 10^6 cfu/g) ภายในระยะเวลา 21 ชั่วโมง และ เอแคลร์เกิดการเสื่อมเสีย หรือมีจำนวนเชื้อมากกว่า 10^8 cfu/g ภายในเวลา 31 ชั่วโมง (ข้อมูลจากตารางที่ 8) โดยที่เอแคลร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C นาน 31 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพียง 12,000 cfu/g ซึ่งเพิ่มจากเดิมเล็กน้อย และถือว่าผลิตภัณฑ์ยังมีคุณภาพที่ดีอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิตู้เย็นจะชะลอกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ รวมทั้งการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนด้วย

ดังนั้น จะเห็นได้ว่า หากควบคุมอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เอแคลร์ในแต่ละขั้นตอนไม่ดีพอ มีการนำผลิตภัณฑ์ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) นานเกินไป ผลิตภัณฑ์ก็จะเริ่มมีจำนวนจุลินทรีย์เกินเกณฑ์คุณภาพที่ดี และอาจเน่าเสีย เสื่อมคุณภาพ ส่งผลให้ไม่เป็นที่พอใจของลูกค้า หรืออาจเกิดอาหารเป็นพิษหากมีการบริโภคเข้าไปได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องระมัดระวังเป็นอย่างยิ่งในเรื่องนี้

<u>วิจารณ์ผลการทดลอง</u>

จากกราฟเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเอแคลร์ ที่อุณหภูมิ 5 °C ซึ่งคืออุณหภูมิตู้เย็น และ 25 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิของจุดจำหน่ายผลิตภัณฑ์ Puff&Pie พบว่า ที่อุณหภูมิ 5 °C นั้นมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากเดิมเพียงเล็กน้อย และลักษณะทางด้าน สี กลิ่น รส ของเอแคลร์ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ ที่ 25 °C ที่มีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมหาศาล โดยที่เวลา 0-10 ชั่วโมงนั้น เป็นระยะที่จำนวนจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงน้อย เนื่องจากกำลังปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ หรืออยู่ในช่วง lag phase จุลินทรีย์จึงเพิ่มจำนวนค่อนข้างช้า แต่เมื่อเวลาตั้งแต่ 10 ชั่วโมงเป็นต้นไปนั้น เป็นระยะที่อัตราการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เพราะอยู่ในช่วง log phase ลักษณะของเอแคลร์ที่ 31 ชั่วโมงนั้น มีกลิ่นเปรี้ยว ลักษณะไส้เป็นยางเหนียว ๆ ซึ่งเป็นลักษณะของการเสื่อมเสียของเอแคลร์ คือมีการเพิ่มของจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากที่ 25 °C นั้นอยู่ใน **เขตอันตราย** ของอาหาร ซึ่งก็คือช่วงอุณหภูมิระหว่าง 10-60 °C โดยเป็นช่วงอุณหภูมิที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี เป็นผลให้ผลิตภัณฑ์เอแคลร์มีกลิ่นรสและลักษณะเปลี่ยนไปในทิศทางที่ไม่ต้องการ

จากข้อมูลผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์เอแคลร์เมื่อถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C อัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ จะเป็นไปอย่างรวดเร็ว และเกิดการเน่าเสียเร็วกว่าเดิม ดังนั้น เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เอแคลร์และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ชนิดอื่นๆ ยังคงมีคุณภาพดี และสดใหม่ จึงต้องมีการควบคุมอุณหภูมิทั้งห่วงโซ่

การผลิตทั้งหมดให้เป็นแบบ "Cold Chain" เริ่มตั้งแต่การรับและเก็บรักษาวัตถุดิบ , การผลิต , การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ การขนส่ง และการจัดวางจำหน่าย ให้อยู่ต่ำกว่าเขตอันตรายของอาหาร ซึ่งในการจัดวางจำหน่าย อาจจะจัดตู้กระจกที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้สำหรับใส่ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่ค่อนข้างที่จะเสียได้ง่าย ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่แบบมีไส้ เช่น เอแคลร์ แซนวิชทูน่า แซนวิชหมูหยอง พายไก่ ฯลฯ และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ต่ำกว่าเขตอันตราย เช่นที่ 5 °C เป็นต้น ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้จะช่วยให้ทราบถึงผลกระทบของการควบคุมอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการผลิต ขนส่ง เก็บรักษา และวางจำหน่ายที่มีผลต่อการถนอมรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์เอแคลร์ และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ชนิดอื่น ๆ เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ในการจัดการที่ดีในอนาคตต่อไป

ในการทดลองครั้งนี้ มีข้อจำกัดในการทดลอง 2 ข้อ คือ ข้อจำกัดของตัวอย่าง เนื่องจากในการศึกษาการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์เอแคลร์ที่มาจากจุดวางขายมาทำการทดลอง แต่ใช้ผลิตภัณฑ์เอแคลร์จากกระบวนการผลิตมาทำการทดลองแทน ทำให้ผลของจำนวนจุลินทรีย์ที่ได้ อาจแตกต่างจากสถานการณ์จริงไปบ้าง

ข้อจำกัดที่ 2 คือ ข้อจำกัดทางด้านเวลาในการทดลอง ซึ่งจำเป็นต้องเลือกทำการทดลอง ในช่วงเวลาปฏิบัติงานของฝ่ายครัวการบิน ดังนั้น จึงต้องเลือกทำการทดลองตามช่วงเวลาแบบไม่สม่ำเสมอ ซึ่งอาจทำให้ข้อมูลจากการทดลองนั้นแตกต่างกับการใช้ช่วงเวลาแบบสม่ำเสมออยู่บ้าง

บทที่ 4
สรุปผลการปฏิบัติงาน และข้อเสนอแนะ

การปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ ฝ่ายครัวการบิน บริษัท การบินไทย จำกัด (มหาชน) ตั้งแต่วันที่ 29 สิงหาคม ถึงวันที่ 16 ธันวาคม 2548 นั้น ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ดังนี้

1. ด้านทฤษฎี

- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การตรวจวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การตรวจวิเคราะห์น้ำดื่ม น้ำผลไม้ และน้ำที่ใช้ในการผลิตอาการทางจุลชีววิทยา
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การตรวจวิเคราะห์ภาชนะอุปกรณ์ในการประกอบอาหารทางจุลชีววิทยา
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การตรวจวิเคราะห์สุขลักษณะส่วนบุคคลทางจุลชีววิทยา
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การตรวจวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงในผักและผลไม้
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การกำจัดขยะ และระบบการบำบัดน้ำเสียของฝ่ายครัวการบิน
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การปรับสภาพน้ำ เพื่อใช้ในกระบวนการผลิตของฝ่ายครัวการบิน
- ได้รับความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับ การออกแบบโครงสร้างอาคารของครัวการบิน

2. ด้านการปฏิบัติงาน

- ได้รับความรู้และความชำนาญในการผลิตผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และขนมไทย
- ได้รับความรู้และความชำนาญในการผลิตอาหารนานาชาติ
- ทำการเก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ หาสาเหตุ วิธีแก้ไขและรายงานผล
- ได้รับประสบการณ์ในการทำงานและรู้จักการแก้ปัญหาเฉพาะหน้า

3. ด้านสังคม

- ได้เรียนรู้การปฏิบัติงานจริงในสถานประกอบการ
- ได้เรียนรู้และปรับตัวให้เข้ากับวัฒนธรรมองค์กร รวมถึงการบริหารทรัพยากรบุคคลอย่างมีคุณภาพ
- ได้ศึกษาการใช้ชีวิตในการทำงานจริง
- ได้ฝึกการทำงานและประสานงานร่วมกับผู้อื่น

- ได้ฝึกการเป็นผู้นำ และผู้ตามที่ดี
- ได้ฝึกการมีทัศนคติที่ดีต่อการทำงาน
- ได้ความกล้าแสดงความคิดเห็น
- ได้ร่วมกิจกรรมต่างๆ ที่ฝ่ายครัวการบินจัดขึ้น

ปัญหาในการปฏิบัติงาน

1. เนื่องจากการทำงานในครั้งนี้เป็นการสัมผัสงานจริงเป็นครั้งแรก ทำให้ในช่วงแรกไม่สามารถทำงานได้อย่างคล่องตัวนัก และยังมีข้อบกพร่องบางประการในการทำงานอยู่
2. เนื่องจากยังขาดประสบการณ์ในการทำงาน ทำให้ต้องมีการเรียนรู้งานเป็นระยะเวลาหนึ่ง จึงจะสามารถทำงานตามที่ได้รับมอบหมายได้อย่างสมบูรณ์
3. ในการทำงานที่ได้รับมอบหมายยังมีการทำงานที่ล่าช้าอยู่ และใช้เวลานานกว่างานจะเสร็จสมบูรณ์อันเนื่องมาจาก ยังขาดความเข้าใจบางประการในงานที่ทำ อุปกรณ์เครื่องมือในการทำงานมีไม่พอเพียงกับการใช้งานของพนักงาน ข้อจำกัดในการประสานงานกับพนักงานที่ปรึกษา และหน่วยงานอื่นๆ ในองค์กร
4. ในการปฏิบัติงานต้องมีการทำงานกับบุคคลในหลายหน่วยงาน ทำให้บางครั้งการสื่อสารในการทำงานยังไม่มีความเข้าใจที่ตรงกัน และหน่วยงานอื่นมีงานที่ต้องทำเป็นจำนวนมาก ไม่มีเวลาทำงานให้เราตามที่เราต้องการก่อน ทำให้หลายงานเราต้องลงมือทำงานนั้นเอง แต่เนื่องจากประสบการณ์ในการทำงานทำให้มีความล่าช้าในการทำงานอยู่บ้าง
5. พ่อครัว และพนักงานในครัวการบิน ยังไม่มีความรู้ความเข้าใจทางด้านสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารเท่าที่ควร แต่คำนึงถึงการผลิตอาหารให้เสร็จภายในเวลาเท่านั้น

ข้อเสนอแนะในการปฏิบัติงาน

1. ควรมีการจัดอบรมพนักงานทุกคนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตได้รับทราบถึงปัญหาที่เกิดขึ้น และพัฒนาให้มีความรู้ความเข้าใจที่มากขึ้น อย่างสม่ำเสมอ เพราะในปัจจุบันได้มีการอบรมเฉพาะหัวหน้าของฝ่ายเท่านั้น และหัวหน้าฝ่ายอาจละเลยในการให้ความรู้แก่พนักงานระดับล่าง
2. ในกระบวนการผลิตอาหารควรให้พนักงานมีการหมุนเวียนการทำงาน เพื่อให้พนักงานมีความชำนาญในการผลิตอาหารในทุกๆด้าน
3. ในการตรวจวิเคราะห์อาหารในแต่ละครั้งไม่สามารถทราบได้ว่าตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการตรวจจะมีมากหรือน้อย จึงอาจทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ไม่เพียงพอในการตรวจ

เอกสารอ้างอิง

สุมลฑา วัฒนสินธุ์. (2545). **จุลชีววิทยาในอาหาร.** นนทบุรี : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สุมาลี เหลืองสกุล. (2541). **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สุรีลักษณ์ รอดทอง.(2539). **จุลินทรีย์และโรคซึ่งเกิดจากอาหาร.** สาขาชีววิทยา. สำนักวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สุวิมล กีรติพิบูล. (2546). **ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร HACC.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ ส.ส.ท.

ไพโรจน์ วิริยจารี. (2545). **หลักการวิเคราะห์จุลินทรีย์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition Revision A. AOAC INTERNATIONAL. 2002.

Codex Alimentarius. Code of hygienic practice for precooked and cooked foods in mess catering. Volume 1 Sup 1. 1993.

IFCA/IFSA Food Safety Guidelines. 2000.

www.prokariotae.com

www.scharfphoto.com

www.singleton_associcate.org

www.micro.msb.le.ac.uk

www.iav.ac.ma

www.fuga.ru

www.kennislink.nl

www.microscopyconsulting.com

www.nature.com

www.astrosurf.com

ภาคผนวก

ตารางอ้างอิงทางสถิติที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพอาหาร

ตารางที่ 9 Most Probable Number (MPN). Using 5 tubes of 10 ml (in Double Strength lactose broth 10 ml)., 1 ml and 0.1 ml (in Singlr Strength lactose broth 10 ml)

Number of Positive Tubes			MPN / 100 ml
10 ml	1.0 ml	0.1 ml	
0	0	0	<2.2
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	4
1	0	0	2.2
1	0	1	4.4
1	1	0	4.4
1	1	1	6.7
2	0	0	5
2	0	1	7.5
2	1	0	7.6
2	1	1	10
3	0	0	8.8
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	0	240
5	1	1	>240

ที่มา :_ Standard methods for the examination of water and wastewater.

American Public Health Association

ตารางที่ 10 ตาราง Most Probable Number (MPN) per 1 g of Sample , Using 3 Tubes with each of 0.1 , 0.01 , and 0.001 g Portion

Positive Tubes				Positive Tubes				Positive Tubes				Positive Tubes			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	<3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	15	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	54
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	450
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	460
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100