

คู่มือปฏิบัติการ

VM063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร

(Processed-Food Safety)



จัดทำโดย

กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2567

ชื่อ.....รหัส.....กลุ่ม.....

คำนำ

คู่มือปฏิบัติการ VM063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร (Processed-Food Safety) เป็นเอกสารชี้แจงหลักความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา การตรวจสอบจุลินทรีย์ สารตกค้าง ในอาหารทั้งจากพืชและสัตว์ที่มนุษย์และสรรพสัตว์บริโภคเป็นอาหาร รวมทั้งการประเมินทางประสาทสัมผัสของอาหารและผลิตภัณฑ์อาหาร สำหรับนักศึกษาคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ชั้นปีที่ 3 โดยบทปฏิบัติการได้มุ่งเน้นเพื่อให้นักศึกษาได้ปฏิบัติด้วยตนเองให้เกิดทักษะตามจุดประสงค์ของการเรียนการสอนแต่ละหัวข้อ ตั้งแต่การเก็บสิ่งส่งตรวจหรือเตรียมตัวอย่าง การตรวจวิเคราะห์ การสรุปผล การวิเคราะห์และวิจารณ์ผลคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสารตกค้าง รวมทั้งการไปศึกษาดูงาน ณ ห้องปฏิบัติที่ได้รับการรับรองมาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาและสารตกค้าง เพื่อหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาและผู้ที่เกี่ยวข้อง หนึ่งข้อผิดพลาดประการใดหรือข้อเสนอแนะประการใด คณะผู้จัดทำยินดีรับเพื่อนำไปปรับปรุงแก้ไขต่อไป

คณะผู้จัดทำ

6 พฤศจิกายน 2567

สารบัญ

ตารางเรียนวิชา VM063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร	5
บทนำ หลักความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา	7
บทปฏิบัติการที่ 1 การประเมินทางประสาทสัมผัสของอาหารและผลิตภัณฑ์	20
บทปฏิบัติการที่ 2 การตรวจความสะอาดของมือ	29
บทปฏิบัติการที่ 3 การตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำ	39
บทปฏิบัติการที่ 4 การตรวจหาเชื้อ Yeast and Mold in foods	43
บทปฏิบัติการที่ 5 การนับจำนวนเชื้อโดยใช้ 3M Petrifilm	46
บทปฏิบัติการที่ 6 การตรวจหา Histamine	56
บทปฏิบัติการที่ 7 การตรวจหาเชื้อ <i>Streptococcus</i> spp. จากอาหาร	59
บทปฏิบัติการที่ 8 การตรวจหา formaline/ Sodium hydrosulfite/กรดเบนโซอิก	62
บทปฏิบัติการที่ 9 Screening of GMO products in foods	69
บทปฏิบัติการที่ 10 Rapid detection method for <i>Salmonella</i> spp. from foods	72
บทปฏิบัติการที่ 11 การตรวจหาเชื้อไวรัสในอาหารและอาหารทะเล	75
บทปฏิบัติการที่ 12 การวิเคราะห์สารตกค้างไนเตรท ไนไตรท์ บอแรกซ์ และ Hypo chlorite	78
บทปฏิบัติการที่ 13 การตรวจสอบแคลเซียมในนมเบี่ยงต้น	88
บทปฏิบัติการที่ 14 การตรวจสอบเบี่ยงต้นของโลหะหนักตกค้างในผลิตภัณฑ์อาหาร	91
บทปฏิบัติการที่ 15 การวิเคราะห์เมลามีนตกค้างในอาหาร	94

ภาคผนวก

น้ำบริสุทธิ์ (Purified Water) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์	97
เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร	103
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563	112
เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค	
มาตรฐานคุณภาพน้ำ	116
เกณฑ์มาตรฐานของลักษณะอาหารที่ไม่พึงประสงค์ ตามหลักการปฏิบัติที่ดีสำหรับอาหารสัตว์เลี้ยง	118
แบบฝึกหัด การคำนวณจำนวนจุลินทรีย์	119
การจัดการด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ	

พระบรมราโชวาทของ พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช

“..ในการสร้างตัวสร้างฐานะนั้นจะต้องถือหลักค่อยเป็นค่อยไป ด้วยความรอบคอบ ระมัดระวังและความพอเหมาะพอดี ไม่ทำเกินฐานะและกำลัง หรือทำด้วยความเร่งรีบ. เมื่อมีพื้นฐานแน่นหนารองรับพร้อมแล้ว จึงค่อยสร้างค่อยเสริมความเจริญก้าวหน้าในระดับสูงที่ขึ้น ตามต่อกันไปเป็นลำดับ ผลที่เกิดขึ้นจึงจะแน่นอน มีหลักเกณฑ์ เป็นประโยชน์แท้และยั่งยืน...”

พระบรมราโชวาท ในพิธีพระราชทานปริญญาบัตรของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันพฤหัสบดี ที่ ๑๘ ธันวาคม ๒๕๔๐

“...คนเราจะเอาแต่ได้ไม่ได้ คนเราจะต้องรับและจะต้องให้ หมายความว่าต่อไป และเดี๋ยวนี้ด้วย เมื่อรับสิ่งของได้มาก ก็จะต้องพยายามให้ ในการให้นั้น ให้ได้โดยพยายามที่จะสร้างความสามัคคีให้หมู่คณะและในชาติ ทำให้หมู่คณะและชาติประชาชนทั้งหลายมีความไว้วางใจซึ่งกันและกันได้ ช่วยที่ไหนได้ก็ช่วย ด้วยจิตใจที่เผื่อแผ่โดยแท้...”

พระบรมราโชวาท พระราชทานแก่นักศึกษามหาวิทยาลัยขอนแก่น

ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันพฤหัสบดี ที่ ๒๐ เมษายน ๒๕๒๑

“...การศึกษานอกระบบ หรือการศึกษาภายหลังสำเร็จจากมหาวิทยาลัย จึงมีความสำคัญยิ่งยวด ในการสร้างเสริมผู้ผ่านการศึกษาในระบบมาแล้ว ให้มีปัญญาและความสามารถที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแท้จริงของชีวิต พร้อมทั้งดำรงตนให้อยู่ในสังคมอย่างเป็นสุขและเจริญมั่นคงได้...”

พระบรมราโชวาทในพิธีพระราชทานปริญญาบัตรแก่นักศึกษามหาวิทยาลัยขอนแก่น

ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันพฤหัสบดีที่ ๑๖ ธันวาคม ๒๕๓๖

ตารางเรียนวิชา VM063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร (Processed-Food Safety)

Division of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine

Khon Kaen University Second semester 2024

รหัสวิชา:	VM063203
จำนวนหน่วยกิต:	2 (1-3-3)
วันที่/เวลา:	
บรรยาย:	จันทร์ 09.00-10.00 น.
ปฏิบัติการ: รอบหนึ่ง	จันทร์ 13.00-16.00 น.
รอบสอง	จันทร์ 16.00-19.00 น.

สถานที่เรียน:	บรรยาย	VM 1205
	ปฏิบัติการ	VM 1408
นักศึกษาชั้นปีที่	นักศึกษาชั้นปีที่	3
อาจารย์ผู้ประสานงานวิชา	ผศ.ดร. ชูสิทธิ์ ศักดิ์สง่างาม	

อาจารย์ผู้ร่วมสอน รศ.ดร. ประพันธ์ศักดิ์ ธีรราช รศ.ดร. คมกริช พิมพ์ภักดี รศ.ดร. นริศร นางาม อ. เรืองทอง กิจเจริญปัญญา

รศ.ดร. สรเพชญ อังกิตติตระกูล รศ.ดร. ไพรัตน์ ศรีผล ผศ.ดร. ปิยวัฒน์ สายพันธุ์

นักวิทยาศาสตร์: นายชัยพร สร้อยคำ นางปริยาภรณ์ สุระชน

สังเขปวิชา (Course description)

เป็นวิชาที่ศึกษาพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ ชีวเคมี และจุลชีววิทยาทางอาหาร เพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับ วิทยาศาสตร์การอาหาร ระบบความปลอดภัยของอาหาร การประเมินความเสี่ยง สุขศาสตร์โรงงาน โรคอาหารเป็นพิษจากพืชและสัตว์พิษ การผลิตอาหารแบบอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์จีเอ็มโอ สุขศาสตร์ไข่และผลิตภัณฑ์จากไข่ สุขศาสตร์อาหารทะเลเพื่อการส่งออก สารเจือปน สารกันเสียและการตกค้าง การใช้ยาสัตว์ ฮอร์โมน และการตกค้างในอาหาร สารโลหะหนักและการตกค้างในอาหาร บริโภคนิสัย และองค์ประกอบทางนิเวศวิทยาที่มีผลต่อการระบาดของโรคมักับอาหาร

วัตถุประสงค์ของวิชา (Course objectives)

เมื่อเรียนจบแล้วนักศึกษาสามารถ

1. อธิบายถึงบทบาทและหน้าที่สำคัญของสัตวแพทย์สาธารณสุขต่อการความปลอดภัยของอาหารได้
2. อธิบายถึงความสำคัญของความปลอดภัยของอาหารต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคได้
3. อธิบายถึงงานสัตวแพทย์สาธารณสุขร่วมกับวิชาชีพที่เกี่ยวข้องในการควบคุมการผลิตการแปรรูปอาหาร การเก็บรักษา การจัดส่ง และจัดวางจำหน่ายที่ถูกต้องสู่ผู้บริโภค
4. อธิบายวิธีและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์เชื้อโรค และสารตกค้างจากอาหารที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคได้
5. อธิบายการควบคุมป้องกัน และการเฝ้าระวังโรคที่มากับอาหาร และอาหารเป็นพิษได้
6. อธิบายถึงความสำคัญ ชนิด และอันตรายของสารเจือปน และสารตกค้างในอาหารได้
7. อธิบายพฤติกรรมผู้บริโภคบริโภคนิสัย และองค์ประกอบทางนิเวศวิทยาที่มีผลต่อการระบาดของโรคที่มากับอาหารได้
8. ประยุกต์ความรู้ที่ได้จากการเรียนการสอนในงานสัตวแพทย์ที่เกี่ยวข้องได้

วิธีการสอน (Method of instruction)

- บรรยาย
- ปฏิบัติการ
- ศึกษาด้วยตนเอง
- จัดทำชิ้นงานส่งตามที่อาจารย์แต่ละหัวข้อกำหนด

การประเมินผล (Course evaluation)

1. สอบกลางภาค: บรรยาย	40	%
2. สอบปลายภาค: บรรยาย	35	%
3. รายงานปฏิบัติการ	5	%
4. สอบข้อเขียนปฏิบัติการ	10	%
5. สอบปฏิบัติการ	5	%
6. พฤติกรรมการเข้าเรียน	5	%

(การแต่งกายชุดนักศึกษาหรือชุดสุภาพ สวมรองเท้าหุ้มส้น ไม่เปิดหัวและปลายเท้าและสวมเสื้อกาวน์ขณะเรียนปฏิบัติการ
คะแนน เข้าเรียนซ้ำ หัก 0.5 คะแนน ไม่เข้าเรียน 0 คะแนน)

รวมทั้งหมด 100 %

เกณฑ์การตัดเกรด (Criteria for grading)

80-100 = A 75-79 = B+ 70-74 = B 65-69 = C+
60-64 = C 55-59 = D+ 50-54 = D 0-49 = F

ตารางเรียน VM 063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร (Processed-Food Safety)

บรรยาย (9.00-10.00)	ปฏิบัติการ (13.00-19.00)
18 พ.ย. 67 Biochemistry in Foods (ชุดฝึก)	-Safety Practice in Research Laboratory -Organoleptic test or sensory evaluation of foods and food products (ชุดฝึก และคณะ)
25 พ.ย. 67 Microorganism Growth in Foods (ชุดฝึก)	-Preparation of equipment for Laboratory test -การนับจำนวนเชื้อในอาหารโดยวิธีแบบ 3M Petri Film: Total bacterial count (TBC), Enterobacteriaceae count, <i>E. coli</i> /coliform count -Quantitative analysis of food for micro-organisms and test (ชุดฝึก และคณะ)
2 ธ.ค. 67 Consumer behavior on food habit and ecological factor influencing disease outbreaks (คัมกริช)	HACCP, critical point, critical control point in food production and processing (คัมกริช; บรรยาย)
อาทิตย์ที่ 8 ธ.ค. 67 (10.00-16.00) เตรียมสอบปฏิบัติ	Quantitative analysis of food for micro-organisms and test (ชุดฝึก)
9 ธ.ค. 67 Food quality control (ชุดฝึก)	-Microbiological examination from Hands of worker (ชุดฝึก และคณะ)
16 ธ.ค. 67 Food additive and toxic residues (สรพรเพชญ์)	Determination of Yeast and Mold in foods (สรพรเพชญ์ และคณะ)
23 ธ.ค. 67 Food preservation (ชุดฝึก)	-Microbiological examination from water (ชุดฝึก และคณะ)
6 ม.ค. 67 สารเคมีชนิดสำคัญที่ตกค้างในอาหารและการควบคุม (ปิยวัฒน์) ระบบ online	Histamine test kits (ปิยวัฒน์) ระบบ online
Midterm exam: 13-17 มค	Midterm exam
20 ม.ค. 67 ระบบ online Risk analysis in food industries (ปิยวัฒน์)	-Detection of heavy metal residues and calcium in foods (ปิยวัฒน์) ระบบ online
27 ม.ค. 67 Fish, shrimp and seafood hygiene (ไพรัตน์)	-Detection method for <i>Vibrio</i> spp. from foods (ไพรัตน์ และคณะ) -Analysis of residues using ready to use test kits: formaline/ Sodium hydrosulfite (ไพรัตน์ และคณะ)
3 ก.พ. 68 Eggs and egg products hygiene (นริศร)	Rapid detection for <i>Salmonella</i> spp. from foods: Brilliance <i>Salmonella</i> Agar base (Oxoid) (นริศร และคณะ)
10 ก.พ. 68 Food factory sanitation (สรพรเพชญ์)	Determination of fecal Streptococci from foods (สรพรเพชญ์ และคณะ)
17 ก.พ. 68 Food poisoning: toxic plants and animals (ไพรัตน์)	กลุ่มตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน (คัมกริชและคณะ)
24 ก.พ. 68 Organic food production and veterinary profession (ประพันธ์ศักดิ์)	Screening of GMO products in foods (ประพันธ์ศักดิ์ และคณะ)
3 มี.ค. 68 Veterinary drugs, hormones, growth promoter and aflatoxin (คัมกริช)	กลุ่มตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน (คัมกริชและคณะ)
Final exam: 17-24 มี.ค. 68	Final exam:

บทนำ
หลักความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา
(Microbiological Laboratory Safety)

หลักการ

ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาโดยทั่วไปแล้วมีข้อกำหนดที่ควรปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด ทั้งนี้เพื่อป้องกันตัวผู้ปฏิบัติการจากความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้น และต่อไปนี้เป็นบัญญัติ 10 ประการ ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ที่ควรระลึกไว้เสมอและควรปฏิบัติตามตลอดเวลาที่ท่านอยู่ในห้องปฏิบัติการ

1. ไม่ควรสูบบุหรี่ รับประทานอาหาร หรือดื่ม ในห้องปฏิบัติการ
2. ไม่ยอกล้อกันเล่นในห้องปฏิบัติการ
3. สวมเสื้อกาวน์ตลอดเวลาที่อยู่ในห้องปฏิบัติการ
4. ใส่แว่นตาป้องกัน หรืออุปกรณ์การป้องกันดวงตาอื่นๆ ในเวลาปฏิบัติการ
5. ระลึกไว้เสมอว่า สารเคมี เชื้อแบคทีเรีย ตัวอย่างอาหารส่งตรวจ เป็นสิ่งที่อาจก่อให้เกิดพิษภัยและอาจก่อโรคได้
6. จัดเก็บอุปกรณ์ต่างๆในห้องปฏิบัติการให้ห่างจากใบหน้าของท่านตลอดเวลาที่อยู่ในห้องปฏิบัติการ
7. ห้ามทำการดูดปล่อยสารละลายโดยใช้ปากดูดปิเปตต์เป็นอันขาด
8. ควรทำความสะอาดพื้นที่ที่จะใช้ในการทำงานด้วยแอลกอฮอล์ทั้งก่อนและหลังการทำงานเสมอ
9. ควรล้างมือทั้งก่อนและหลังการทำงานเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์เสมอ
10. ควรจะงดเว้นการพูดคุยหรือเคลื่อนที่ไปมามากเกินไปจนจำเป็นในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา

ในห้องปฏิบัติการในต่างประเทศบางประเทศที่มีความเคร่งครัด ในเรื่องความปลอดภัยในการปฏิบัติการอย่างมาก ผู้ที่จะสามารถเข้าใช้ห้องปฏิบัติการได้จะต้องทำการทดสอบ เมื่อผ่านการทดสอบแล้วจึงจะสามารถเข้าใช้ห้องปฏิบัติการได้ โดยเฉพาะในการศึกษาระดับหลังปริญญา ในขณะที่ในประเทศไทยเริ่มนำมาตรการนี้มาใช้ในบางห้องปฏิบัติการแล้ว

โดยทั่วไปข้อปฏิบัติที่ควรกระทำในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาซึ่งอาจมีอันตรายเกิดขึ้นมาจากตัวเชื้อจุลินทรีย์เองอีกทางหนึ่ง สิ่งสำคัญคือ ต้องพยายามอย่าให้ความกดดันที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการมีผลต่อความปลอดภัย

กฎสำหรับความปลอดภัยทั่วไป

1. พึงระลึกไว้เสมอว่าท่านกำลังทำอะไรอยู่ ควรจะทราบว่าคุณทำอะไรทุกขั้นตอน ถ้าไม่แน่ใจให้สอบถามผู้รู้ก่อนเสมอ ตรวจสอบอุปกรณ์ที่ท่านจะใช้งานก่อนและแก้ไขให้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน ติดป้ายประกาศถ้าอุปกรณ์ชิ้นนั้นๆ ไม่พร้อมใช้งาน
2. จัดห้องปฏิบัติการให้สะอาดเรียบร้อยเสมอ โดยการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวโต๊ะหลังการปฏิบัติการ เกี่ยวกับเชื้อเป็นๆ และกำจัดอุปกรณ์ที่ไม่ใช้แล้วจากโต๊ะทันที
3. ดำเนินการตามข้อแนะนำเกี่ยวกับความปลอดภัยทั้งหมดและควรจะรู้วิธีใช้เครื่องมือเพื่อความปลอดภัยต่างๆ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีข้อมูลความปลอดภัย สารเคมีก็เช่นกัน ควรอ่านเอกสารเหล่านี้อย่างระมัดระวังและ

ทำตามทีบอไว้ในเอกสารดังกล่าวทุกประการ ควรจะทราบถึงดับเพลิง อ่างอาบน้ำ อ่างล้างตา ที่สับสวิสช์ไฟ อยู่ตรงส่วนใดของห้อง

4. สวมใส่ชุดเสื้อผ้านี้ที่เหมาะสมกับการปฏิบัติการ และใส่เครื่องป้องกันอันตรายต่างๆ เช่น ผุ่นละอองจากอาหาร เลี้ยงเชื้ออาจจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ดังนั้นควรสวมผ้าปิดจมูกและปาก ในขณะที่เตรียม หรือขณะที่กำลังใช้ สารที่อาจเป็นอันตรายต่างๆ เช่น dyes, azides, tetrazolium salts เป็นต้น สวมถุงมือเมื่อต้องทำงานกับ สารอันตราย เวลาทำงานกับเครื่องอบฆ่าเชื้อ (autoclave) ควรมีอุปกรณ์ป้องกันใบหน้าหรือ แว่นตาป้องกัน เสมอ สวมผ้าปิดจมูกเมื่อต้องทำงานกับสารที่เป็นสารระเหยเช่น บีโตรเลียม อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม อย่าใส่รองเท้า ที่อาจทำให้ลื่นง่ายในห้องปฏิบัติการที่อาจมีหยดน้ำ หรือมีน้ำนองพื้นได้
5. ระลึกเสมอว่า ตัวอย่างส่งตรวจทุกตัวอย่าง และ เชื้อจุลชีพในงานเลี้ยงมีโอกาสก่อโรคได้ ควรปิดบริเวณผิวหนังที่มีแผลให้เรียบร้อย ใส่เสื้อกาวน์ หรือชุดหมี (overall) ไม่กิน ดื่ม สูบบุหรี่ในห้องปฏิบัติการ และหลีกเลี่ยงกับจับ ใบหน้าของตัวเองในห้องปฏิบัติการ ถ้ามีสารหกกระเด็นใส่มือ ควรล้างหรือเช็ดด้วยสารฆ่าเชื้อเสมอหรืออาจใช้ ยาสีฟัน เช็ดมือให้แห้งโดยใช้กระดาษเช็ดแบบใช้แล้วทิ้งเสมอ (disposable towels) ถุงมือที่ใช้ ก่อนถอดทิ้งต้องเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนเสมอ ตัวอย่างทุกตัวอย่างจะต้องทำการฆ่าเชื้อก่อนทิ้งเสมอโดยการอบ หรือนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C เป็นเวลา 30 นาที กรณี pipette/ tips/ slides และ สิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ควรเก็บแช่ใน สารฆ่าเชื้อก่อนเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะทิ้งไป ถ้าเป็นเชื้อก่อโรคที่รู้จักกันดี เช่น เชื้อซัลโมเนลลา ต้องทำการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนทิ้งเสมอ ถ้ามีการหกกระจายของเชื้อแบคทีเรียจะต้องรีบทำความสะอาดบริเวณนั้นๆ ทันที โดยใช้สารฆ่าเชื้อในปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสม เช็ดด้วยกระดาษเช็ดมือที่ใช้แล้วทิ้ง ก่อนทิ้งต้อง นึ่งฆ่าเชื้อกระดาษชิ้นนั้นๆ ด้วยเสมอ และอย่าลืมใส่ถุงมือขณะเช็ดเชื้อที่หกกระจายอยู่ด้วย
6. ระมัดระวังในขณะที่ดูดสารหรือตัวอย่าง ห้ามใช้การดูดสารด้วยปากโดยใช้ปิเปตต์แทน หรือใช้เครื่องช่วยอื่นใดที่มี อยู่ในห้องปฏิบัติการ
7. ระลึกเสมอว่าสารละลายทั้งหมดเป็นสารอันตราย ดำเนินการโดยระมัดระวังเป็นพิเศษ ใช้ตู้ดูดควันถ้าต้องทำงาน เกี่ยวกับสารระเหย สารที่ระบิดง่ายควรเก็บหรือเคลื่อนย้ายโดยใช้เครื่องป้องกันเสมอ
8. ป้องกันการหกกระจายของสารเคมีเข้าตา โดยใส่แว่นตารวมทั้งเวลาเปิดเครื่อง นึ่งฆ่าเชื้อ เวลาใช้ vacuum lines ต่างๆ และเวลาที่กำลังทำงานกับสิ่งติดเชื้อ หรือสารพิษต่างๆ เวลาใช้แสงยูวีควรสวมแว่นป้องกันแสงยูวี
9. หลีกเลี่ยงการสูดดมละอองสารต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นในขณะที่ปฏิบัติการ โดยเฉพาะสารระเหยที่ต้องทำในตู้ดูดควัน เท่านั้น ระมัดระวังเวลาทำงานกับเชื้อก่อโรคอย่าให้เกิดละออง เวลาเขย่าสารละลายที่มีเชื้ออยู่ด้วยควรเขย่าแบบหมุน (swirl) แทนการเขย่าขึ้นลงแบบแรงๆ (shake) พยายามเปิดขวดเชื้อใกล้ตะเกียงหรือใกล้ไฟเสมอเพื่อเป็นการ ป้องกันอีกทางหนึ่ง พยายามใช้ ตู้ปลอดเชื้อแทนที่จะเป็นพื้นโต๊ะที่เปิดโล่ง และระวังไว้เสมอว่าอย่าใช้ laminar flow hood สำหรับการเชื้อเชื้อที่เป็น respiratory pathogens เช่น *Legionella* หรือ สปอร์ของเชื้อรา เช่น *Aspergillus*
10. ระมัดระวังเรื่องอุปกรณ์ที่ทำจากแก้ว แก้วสามารถแตกได้ง่ายและก่อให้เกิดการบาดเจ็บได้ง่ายเช่นกัน จึงต้องป้องกัน มือด้วยผ้า ถ้าต้องการตัดแก้ว ทั้งเครื่องแก้วที่มีรอยแตกทั้งหมด สวมรองเท้าที่ป้องกันการบาดเจ็บของแก้วเวลามี แก้วตกกระจายตามพื้นห้องปฏิบัติการ
11. ระมัดระวังไฟ เครื่องมือ และเครื่องใช้ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ ห้ามจับเครื่องใช้ไฟฟ้าเวลาที่มือเปียก
12. กำหนดการเข้าออกห้องปฏิบัติการ โดยผู้ที่เข้าไปในห้องปฏิบัติการควรจะเป็นผู้มีความจำเป็นต้องเข้าไปใน ห้องปฏิบัติการจริงๆ เท่านั้น โดยผู้ที่ได้รับอนุญาตให้เข้าห้องปฏิบัติการต้องสวมเสื้อกาวน์ และจะต้องไม่จับ

สิ่งของใดๆ ในห้องปฏิบัติการ และผู้ดูแลต้องบอกให้ผู้เข้าเยี่ยมชมต้องล้างมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อหรือสบู่ก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ

- บันทึกเกี่ยวกับอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการ โดยจัดให้มี accident logbook ซึ่งระบุรายละเอียดเกี่ยวกับอุบัติเหตุที่เกิดขึ้น เช่น วันที่เกิดอุบัติเหตุ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการประกันภัยต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งอุบัติเหตุเล็กๆ น้อยๆ ก็มีความจำเป็นต้องระบุไว้ในสมุดบันทึกด้วย เพื่อช่วยในการบ่งบอกพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงกว่าบริเวณอื่นในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งอาจมีความจำเป็นต้องจัดระบบ หรือโครงสร้างของห้องปฏิบัติการใหม่เพื่อความสะดวกเหมาะสมและลดปัญหาอุบัติเหตุต่อไป

การใช้และการกำจัดสารที่เป็นอันตรายในห้องปฏิบัติการ

สารเคมี (Chemical)

การสูดดม การสัมผัส หรือการกลืนสารเคมีอาจเป็นอันตรายอย่างมาก จำเป็นต้องอ่านคู่มือให้เข้าใจและทำตามอย่างเข้มงวด รวมทั้งป้องกันดวงตาให้ปลอดภัย ใส่เสื้อกาวน์ และใช้ตู้ดูดควัน สารเคมีไม่ควรจะใช้ปากดูด ไม่ควรเก็บกรด ต่าง ไกล่สารตัวทำละลาย (solvent) ผ่นจากอาหารเลี้ยงเชื้อแบบผงก่อนข้างระคายเคืองจึงควรใส่ผ้าปิดปาก และจุ่มเวลาซึ่งสารหรือจัดการกับสารนั้นๆ ระยะเวลาที่ต้องเตรียมสารที่เป็นพิษมากๆ เช่น สาร azide สาร tetrazolium salts dyes เช่น basic fuchsin

สารชีวพิษ (Biological hazard)

เชื้อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารหรือตัวอย่างอาจรวมถึงชนิดที่ก่อโรคได้ด้วย การติดเชื้ออาจเกิดจากการใช้ปากดูดสารหรือตัวอย่างที่ส่งตรวจ แม้จะเป็นปิเปตต์ที่มีกอนสำลียป้องกันอยู่แล้วก็ตาม หรือการติดเชื้ออาจมาจากละอองที่เกิดขึ้นในขณะปั่นผสมสารละลาย หรือจากการกระเด็นของสารละลายถูกผิวหนัง ควรระวังการใช้สารละลายที่อาจจะมีเชื้อปนเปื้อนมาด้วยและไม่ควรปล่อยให้เชื้อต่างๆ มีชีวิตอยู่ได้ในบริเวณที่ทำการตรวจสอบหรือบริเวณที่ทำการทดลอง เครื่องมือเช่นปิเปตต์ควรแช่ในสารฆ่าเชื้อเพื่อให้มั่นใจว่าปลอดภัย อุปกรณ์ที่จะใช้แช่สารฆ่าเชื้อเพื่อรองรับปิเปตต์จะต้องแข็งแรงเพียงพอ นิ่งฆ่าเชื้อได้ และลึกพอที่จะจุ่มวัสดุอุปกรณ์ที่ปนเปื้อนเชื้อได้พอดี

ตัวอย่างส่งตรวจและจานเพาะเลี้ยงเชื้อควรนึ่งฆ่าเชื้อก่อนทิ้งที่ 121°C เป็นเวลา 30 นาที อาจจะใช้ spore strips (เป็น spore indicators ที่มีจำหน่ายสำเร็จรูป) ตรงจุดกึ่งกลางของหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและตรวจสอบการแสดงว่ามีชีวิตอยู่ (viability) หลังการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วด้วย และท้ายที่สุดควรป้องกันไม่ให้สัตว์และแมลงเข้ามาผ่านผ่านในห้องปฏิบัติการเป็นอันตราย

สารฆ่าเชื้อและสารทำให้ปลอดเชื้อ (Germicidal agents and disinfectants)

สารฆ่าเชื้อมีมากมายหลายชนิด ทุกชนิดล้วนเป็นพิษทั้งสิ้นต่อผู้ใช้ (ในระดับใดระดับหนึ่ง) อาจทำให้ผิวหนังตาและระบบหายใจระคายเคือง ดังนั้นควรสวมถุงมือ แวนตา แวนกันสาร ผ้าปิดปากปิดจมูกเป็นประจำเวลาใช้หรือเตรียมสารละลายเข้มข้น เชื้อแบคทีเรียและราที่เป็น vegetative cells ส่วนมากจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยสารทำให้ปลอดเชื้อ แม้ว่า สปอร์และไวรัสบางตัวอาจจะทนต่อสารเหล่านี้ได้ สารเหล่านี้มีจำหน่ายมากมายทั่วไปและเวลาใช้ต้องทำตามที่กำหนดไว้ในฉลากเสมอ ตัวอย่างเช่น

Phenolic disinfectants

สารชนิดนี้มีผลต่อ vegetative cells และรา แต่จะไม่มีผลต่อสปอร์และไวรัสเท่าใดนัก มักจะมีคุณภาพด้อยกว่าสารในกลุ่ม cationic detergents (quaternary ammonium compounds) สารชนิดนี้ควรจะใช้ในความเข้มข้นประมาณ 2-5 % ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ สารละลายที่เตรียมไว้เกิน 24 ชั่วโมง ควรทิ้งไป และสารนี้อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังและตาได้

Hypochlorites

เป็นสารที่ปลดปล่อยคลอรีนออกมาซึ่งเป็นตัวออกฤทธิ์ต่อ vegetative cells และ เชื้อรา คลอรีนมีผลน้อยต่อไวรัสโดยเฉพาะเวลามีโปรตีนบนเปลือกอยู่ในปริมาณมากพอสมควร สำหรับการใช้อย่างทั่วๆ ไปสารละลายที่มีความเข้มข้นของคลอรีนอยู่ระหว่าง 2500 พีพีเอ็ม ของคลอรีนที่ออกฤทธิ์ (available chlorine) เป็นความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ สารละลายที่ผลิตในระดับการค้าส่วนใหญ่ใช้ความเข้มข้น 100,000 พีพีเอ็ม และเจือจางลง 1:20 เวลาต้องการใช้ สารละลายที่เจือจางแล้วควรเททิ้ง ถ้าเตรียมไว้นานเกินกว่า 24 ชั่วโมงแล้ว การออกฤทธิ์ ในการฆ่าเชื้อจากการละลายน้ำแล้วให้กรดไฮโปคลอรัส (Hypochlorous acid :-HOCL) เข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ หรืออาจเกิดการออกซิไดซ์(oxidize) ไวทัลเอนไซม์ (vital enzyme)

Gluteraldehyde

มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย รา ไวรัส และสปอร์ ตัวกระตุ้น (activator) เช่น โซเดียมโบคาร์บอเนตจำเป็นต้องใช้และมีมาให้แล้วพร้อมกับสารละลายหลัก สารที่มีส่วนผสมของ gluteraldehyde ส่วนใหญ่จะแพงและมีพิษ ดังนั้นจึงต้องใช้และจัดการด้วยความระมัดระวังอย่างสูงเวลาใช้อย่างสุดคม ควรป้องกันดวงตาและผิวหนังให้พ้นจากสารละลายด้วย ที่ความเข้มข้นมากกว่า 2% จัดเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้แม้บนเปลือกเลือดหรือสารคัดหลั่ง ไม่ทำลายเนื้อพลาสติกและเลนส์ มีฤทธิ์กัดกร่อนโลหะต่ำ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ปลอดเชื้อวัตถุที่ไม่สามารถทนความร้อนได้

Alcohols

ส่วนมากที่ใช้คือ ethanol การเตรียมเอทานอลในความเข้มข้น 70 % (v/v) ด้วยน้ำพบว่า มีผลต่อ vegetative cells แต่ไม่มีฤทธิ์ ต่อสปอร์และเชื้อรา ฤทธิ์อาจเพิ่มมากขึ้นได้โดยการเติม hypochlorite เพื่อให้มี final concentration ที่ 2,000 พีพีเอ็ม คลอรีนที่ออกฤทธิ์ (available chlorine) สารละลายของแอลกอฮอล์ไม่ทำอันตรายต่อผิวหนังแต่อาจทำให้ระคายเคืองตาได้ ข้อจำกัดของแอลกอฮอล์ ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อสัมผัสสารอินทรีย์ เนื่องจาก แอลกอฮอล์ไม่ละลายโปรตีนใน เลือดหรือน้ำลาย กัดกร่อนทำลายเลนส์และเครื่องใช้พลาสติก

Quaternary ammonium compounds

ส่วนมากจะเรียกว่า cationic detergents ออกฤทธิ์ต่อ vegetative cells เป็นส่วนใหญ่ เชื้อราบางตัว แต่ไม่มีผลต่อสปอร์ เหมาะที่จะใช้กับพื้นผิวหน้า (surfaces) เช่น พื้นโต๊ะในห้องปฏิบัติการ (โดยใช้ความเข้มข้น 1-2 %) เนื่องจากสารนี้ไม่กัดกร่อน และไม่มีพิษนั่นเอง

Iodophores

ไอโอดิฟอร์ (ไอโอดีน) ออกฤทธิ์ต่อ vegetative cells (รวมทั้งเชื้อ mycobacterium) เชื้อรา ไวรัส และ สปอร์ ส่วนมากจะขายกันในรูปของสารผสม และใช้ในความเข้มข้น 75-150 พีพีเอ็ม สำหรับการล้างมือและฆ่าสปอร์จะต้องเจือจางด้วย 50% แอลกอฮอล์ เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1,600 พีพีเอ็ม ของไอโอดีน รอยย้อมของไอโอดิฟอร์ที่ติดบนผิวหนังสามารถล้างออกได้ เมื่อใช้สารละลาย sodium thiosulphate พบว่าไอโอดิฟอร์ค่อนข้างไม่เป็นพิษต่อผิวหนังแต่อาจระคายเคืองต่อดวงตาได้ สารออกฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ โดย free Iodine (I_2) ผ่านผนังเซลล์ไปทำลายโปรตีนและทำลายกระบวนการสร้าง nucleic acid ของเชื้อจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว แต่สารอินทรีย์จะทำให้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อลดลง

การทำลายเชื้อหรือทำให้ปลอดเชื้อโดยไม่ใช้สารเคมี (Non-chemical sterilization)

ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาจำเป็นต้องมีการทำให้ปลอดเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่ไม่ต้องการหรือไม่อยู่ในความสนใจออกไปจากวัสดุและอุปกรณ์ต่างๆ โดยสามารถทำให้ปลอดเชื้อได้ด้วยวิธีการหลายๆ อย่างดังต่อไปนี้

การใช้เปลวไฟสีแดง (Red heat)

เข็มเย็บเชื้อ (loop) อาจทำให้ปลอดเชื้อได้โดยการเผาด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์หรือ ตะเกียงไฟฟ้า โดยที่ตะเกียงไฟฟ้าสามารถลดการเกิดละอองได้ดีกว่าตะเกียงแอลกอฮอล์

การใช้ความร้อนแห้ง (Dry heat)

ส่วนมากจะใช้ในการทำให้เครื่องแก้วปลอดเชื้อ เช่น ปิเปตต์แก้ว จานเพาะเชื้อแก้ว เนื่องจากความร้อนแห้งจะช่วยป้องกันความชื้นไม่ให้จับตัวเป็นก้อนภายในเครื่องแก้วเหล่านั้น ปิเปตต์ส่วนมากจะบรรจุในกล่องสเตนเลสหรือเหล็ก สำหรับขวดแก้วอาจใช้ foil ปิดปากขวดหรือฝาที่ทำจากเหล็กปิดก็ได้ ระยะเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน คือ 3 ชั่วโมง ที่ 160°C ผลของการทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้ความร้อนแห้งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้ spore strips หรือ spore suspensions

การนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclaving)

การนึ่งฆ่าเชื้อสามารถทำลายเชื้อได้เร็วกว่าวิธีการอื่นๆ เมื่อมีการดำเนินการที่ถูกต้องสมบูรณ์ ก่อนเพิ่มความดันต้องกำจัดอากาศออกให้หมดจึงจะได้อุณหภูมิ 121°C ที่ 15 psi การดึงอากาศออกหมดจะทำให้ได้ก็ต่อเมื่อวัสดุที่จะฆ่าเชื้อถูกบรรจุอย่างหลวมๆ มีพื้นที่เพียงพอรอบๆ กล่องบรรจุ (containers) ไอน้ำและอากาศต้องเลื่อนไหลไปได้ อย่างอิสระก่อนปิดวาล์วเมื่อเพิ่มความดัน โดยทั่วไปอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลาย เครื่องมืออุปกรณ์ชิ้นเล็กๆ เช่น filter units หรือขวดเปล่าสำหรับเก็บตัวอย่าง สามารถนำมานึ่งฆ่าเชื้อได้ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์โบไฮเดรตและ membrane filters ควรนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C เป็นเวลา 10 นาทีเท่านั้นก็เพียงพอในการฆ่าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อบางตัวเช่นพวกที่มีคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง ควรจะนึ่งฆ่าเชื้อที่ $115-118^{\circ}\text{C}$ ซึ่งจะมีความดันประมาณ 10 psi ส่วนการนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุที่ปนเปื้อนและจานเพาะเชื้อที่ต้องการทิ้ง หรือสารละลายที่มีปริมาตร 500-1,000 มิลลิลิตร ควรจะนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C เป็นเวลา 30 นาที จึงจะพอเพียงในการทำลายเชื้อ แถบเปลี่ยนสีหรือ autoclave tape (colour-change strips ตัวอย่างเช่น steam clox) ใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าได้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือ

บอกระดับการฆ่าเชื้อได้ แต่ที่ดีที่สุดคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเหล่านี้นี้ควรตรวจเช็คโดยการทดลองนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อที่สมบูรณ์ การใส่ spores strips ที่กึ่งกลางหม้อนึ่งความดันเป็นสิ่งที่พึงกระทำ เพื่อบ่งชี้ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ ซึ่งจะสำคัญยิ่งเมื่อต้องนึ่งทำลายเชื้อหรือวัสดุที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรคต่างๆ ก่อนการนำไปกำจัดต่อไป นอกจากนี้อาจเกิดอุบัติเหตุอย่างรุนแรงได้ในขณะที่ใช้หม้อนึ่งความดัน ถ้าเปิดหม้อนึ่งในขณะที่มีความดันอยู่ กรณีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 80°C และเข็มความดันชี้ที่ 0 จึงจะสามารถเปิดหม้อนึ่งได้อย่างปลอดภัย บางครั้งแม้จะได้ระวังแล้วแต่ขวดอาจแตกได้เมื่อสัมผัสกับอากาศที่อุณหภูมิห้อง จึงควรสวมถุงมือและแว่นป้องกันใบหน้าและดวงตาเสมอ โดยเฉพาะเครื่องป้องกันที่คลุมลงมาถึงกางและคอได้จะเหมาะสมที่สุด

การทำลายเชื้อทั้งหมด (Tyndallisation)

วิธีการนี้เหมาะสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่อาจถูกทำลาย ถ้าใช้วิธีการอื่น เช่น Dorset egg medium หรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเจลาติน โดยที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกนึ่งเป็นเวลา 30-45 นาที ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วัน โดยในวันแรก vegetative cells จะถูกทำลาย ในวันต่อมา เซลล์ที่เริ่มงอกจากสปอร์จะถูกทำลายให้หมดไปในที่สุด

การกรอง (Filtration)

วิธีการที่ดีที่สุดในการทำให้ปลอดเชื้อคือการกรองผ่าน membrane filters ซึ่งมีขนาดของรู (pore size) 0.22 ไมครอน รูขนาดนี้สามารถที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและไวรัสส่วนใหญ่ได้เป็นอย่างดี เพื่อเป็นการป้องกันแผ่นกรองตัน (clog) ควรใช้การกรองก่อนหน้าหนึ่งชั้น (pre filter) หรือ กรองผ่านกระดาษกรองธรรมดา เช่น Whatman no. 1 ในปัจจุบันมี filter units ขนาดเล็กที่ใช้แล้วทิ้ง (disposable) สามารถใช้ควบกับกระบอกฉีดยาพลาสติกได้ เหมาะมากสำหรับการกรองให้ปลอดเชื้อแก่สารละลายที่มีปริมาณน้อย เช่น ยาปฏิชีวนะ สาร additives อื่นๆ ที่ต้องใส่ผสมเข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากที่อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว หน่วยกรองที่มีขนาดใหญ่ขึ้นมาอาจใช้ร่วมกับ vacuum pumps และควรใส่แว่นป้องกันดวงตาและใบหน้าเสมอเมื่อใช้ระบบนี้ในการกรองสารละลายเพื่อความปลอดภัยสูงสุด

การควบคุมการทำให้ปลอดเชื้อทางชีววิทยา (Biological sterilization controls)

สำคัญมากที่จะต้องตรวจสอบว่าวัสดุต่างๆ ได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่สมบูรณ์แล้วก่อนการกำจัดทิ้ง โดยใช้ตัวบ่งชี้ทางชีววิทยาที่เป็นมาตรฐาน ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้ spore strips หรือกระดาษกรองที่จุ่มหรือชุบด้วยสปอร์ ในบางห้องปฏิบัติการสามารถเตรียม strips ไว้ใช้เองได้ ซึ่ง strip นี้อาจมีสปอร์ของเชื้อ *Bacillus stearothermophilus* หรือ *B. subtilis* อยู่เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพของไอน้ำร้อนและการฆ่าเชื้อแบบใช้ความร้อนแห้ง ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบ ควรตรวจสอบ non-sterilized spore strip ด้วยเพื่อทดสอบ viability ของ strip นั้นเอง

การนับจำนวนจุลชีพที่มีชีวิต (viable accounts of micro-organisms)

การนับจำนวนจุลชีพที่มีชีวิต สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ Pour plate, Spread plate, Drop plate และ Most Probable Number method (MPN)

1. The regular plate count

Plate count เป็นวิธีที่สามารถนับจำนวนจุลชีพที่มีอยู่ได้โดยอาศัยหลักที่ว่า เซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ขณะที่เริ่มทำการตรวจสอบ จะเจริญและสร้างโคโลนี ดังนั้น การทำให้เซลล์มีการกระจายอย่างดีเพียงพอและความสามารถของเซลล์แต่ละเซลล์ในการเพิ่มจำนวนตัวอย่าง (Multiplication) ได้โดยไม่ถูกทำลายไปในขณะเตรียม Dilution เป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง และตัวอย่างที่จะนำมาตรวจสอบ จะต้องทำให้เจือจางด้วยสารละลายที่ทราบปริมาตรเพื่อเตรียม Serial dilution เมื่อนำไปทำ Plate count แล้วจะต้องมีบาง Dilution สามารถนำมานับจำนวนจุลชีพได้

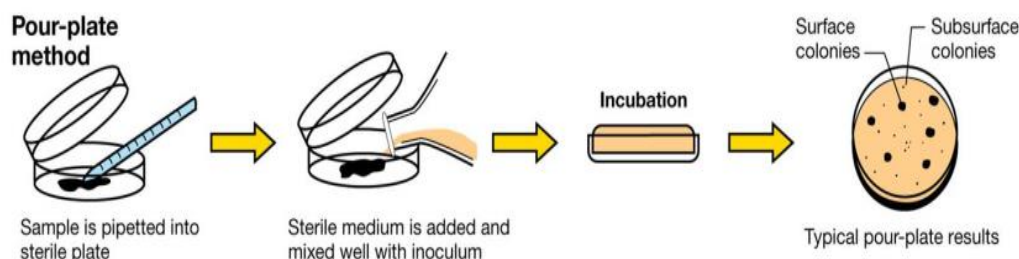
วิธี Standard plate count (SPC) เป็นวิธีตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนม ผลิตภัณฑ์นม อาหารต่าง ๆ และน้ำดื่ม เป็นต้น โดยการนับจำนวน Mesophilic bacteria ที่เจริญได้โดยใช้อากาศ และไม่ใช้อากาศ ต่อหน่วยปริมาณของอาหารที่ทำการตรวจสอบและใช้ตรวจหาปริมาณ Aerobic facultative bacterial นอกจากนี้วิธี SPC ยังถูกดัดแปลงไปใช้สำหรับ Plate count แบบอื่น ๆ โดยการเปลี่ยนอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเชื้อ เช่น Laboratory pasteurization count (LPC), Thermophilic plate count (TP), Psychrophilic plate count (PPC), Coliform plate count (CPC) และ Yeast-mold plate count (YMPC)

ขั้นตอนของ SPC ประกอบด้วย

- เตรียมอุปกรณ์และสารเคมีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
- เก็บตัวอย่างอาหารเพื่อทำการวิเคราะห์
- การทำให้เจือจางควรทำ 3 การเจือจาง เช่น เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ของอาหารดิบ เชื้อ *Bacillus cereus* ต้องพบน้อยกว่า 2.0×10^2 cfu/g ดังนั้นควรทำการเจือจางช่วง 10^{-1} - 10^{-3} หรือกรณีอาหารปรุงสุกทั่วไป เชื้อจุลินทรีย์รวมต้องน้อยกว่า 1.0×10^6 cfu/g ดังนั้นควรทำการเจือจางช่วง 10^{-5} - 10^{-7} กรณีทำเทคนิค Pour plate
- เทอาหารเหลวในจานเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ปริมาณ 15-20 ml เพื่อเตรียมสำหรับกรณี Spread plate และ Drop plate แล้วจึงใส่ตัวอย่างต่อไป แต่ส่วนกรณี Pour plate ต้องใส่ตัวอย่างก่อนแล้วจึงเทอาหารเหลวในจานเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และที่สำคัญ แต่ละความเจือจางควรทำ 2 ซ้ำ (Duplicate)
- การบ่มเพาะเชื้อ
- การนับจำนวนโคโลนี
- การคำนวณปริมาณจุลินทรีย์และรายงาน

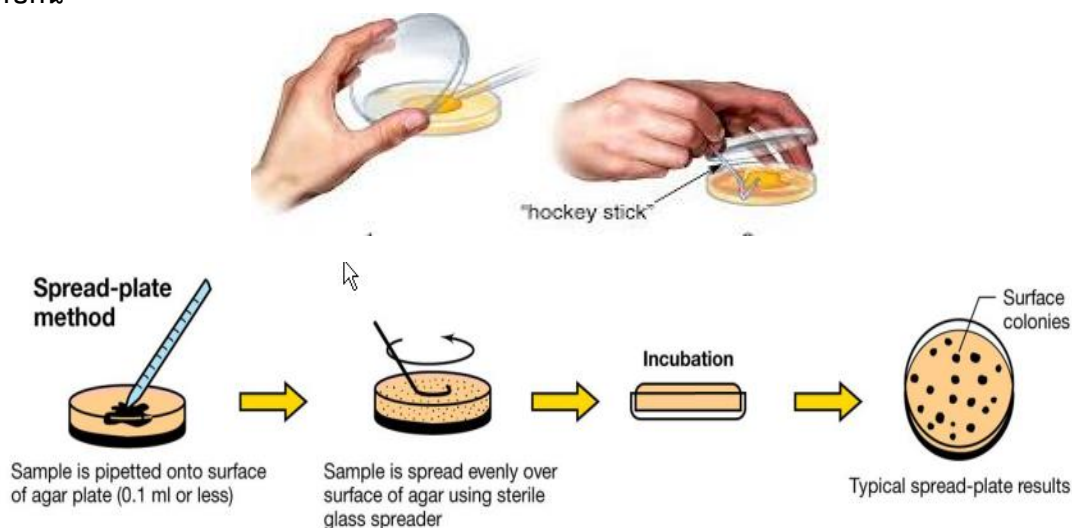
1.1 Pour plates เป็นวิธีที่ผสม Dilution ของตัวอย่างที่จะทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น ขณะที่ยังเหลวอยู่แล้วทิ้งให้วุ้นแข็งตัว โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 มล. ใส่ในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นซึ่งยังเหลวอยู่และมีอุณหภูมิ $45 \pm 2^\circ\text{C}$ เททับลงไปบนจานเพาะเชื้อ (การที่ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิระบุ เพื่อป้องกัน Heat shocking และผสมให้เข้ากัน การผสมให้เข้ากันทำโดยหมุนจานเพาะเชื้อเป็นวงกลมไปในทางทิศตามเข็มนาฬิกา 5 รอบ ทวนเข็มนาฬิกา 5 รอบ และเคลื่อนจานเพาะเชื้อไปซ้าย-ขวา อย่างละ 5 ครั้ง จากนั้นทิ้งให้วุ้นแข็งตัว

ข้อควรระวัง จะต้องไม่ทำให้วุ้นเหลวกระฉอกไปเกาะติดบนฝาของจานเพาะเชื้อระหว่างผสมให้เข้ากัน เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวให้คว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่ม (Incubation)



รูปที่ 1 เทคนิค Pour plate

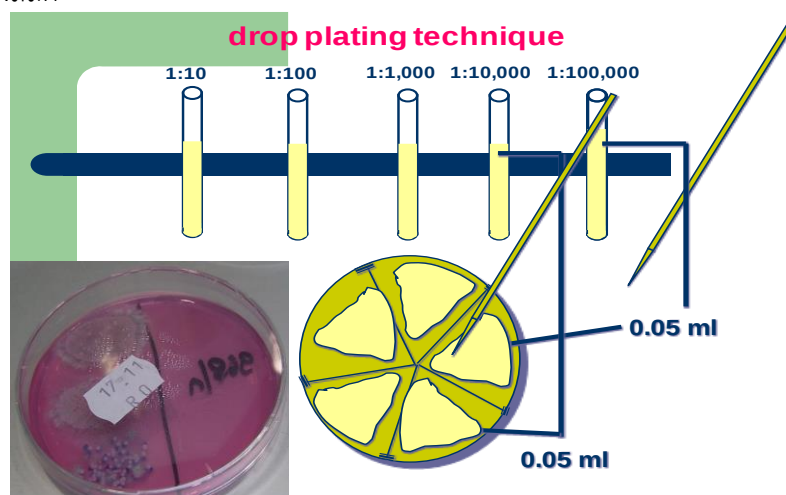
1.2 Spread plates จัดเป็น Surface method วิธีหนึ่งซึ่งใช้ได้กับแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่ผิวหน้า เช่น พวก Obligate aerobes วิธีนี้ต้องการแยกชนิดของโคโลนีให้ได้อย่างเด่นชัด ทำให้ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ทึบแสง และเหมาะสมกับชนิดของแบคทีเรียที่ไม่ทนต่อความร้อนขนาด $45-50^\circ\text{C}$ เป็นเวลาสั้น ๆ สามารถทำได้โดยใช้ปิเปตดูด Dilution ของตัวอย่าง 0.1 มล. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ จนแข็งตัวแล้ว อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ควรจะแห้ง (หลังอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวควรทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องทั้งคืน ก่อนใช้งาน) เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อดูดซึมตัวอย่างที่ใส่ลงไปบนพื้นที่ที่ทำการ spread ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แห้งหรือไม่สามารถดูดซึมตัวอย่างที่ถูก Spread ลงไปได้แล้วตัวอย่างซึ่งยังเป็นของเหลวจะลอยอยู่ ทำให้โคโลนีต่าง ๆ เจริญขึ้นซ้อนทับกัน



รูปที่ 2 เทคนิค Spread plate

เมื่อ Spread ตัวอย่างแล้วควรทิ้งให้ทุกอย่างแห้งและตัวอย่างถูกดูดซึมไปหมดแล้วก่อนที่จะคว่ำจานเพาะเชื้อลงและนำไปบ่ม (Incubate) ในภาวะต่าง ๆ ในการบ่มจะต้องเหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิดและระยะเวลาการบ่มจะต้องมากพอที่จะให้โคโลนีทุกโคโลนีเจริญขึ้นมาอย่างเต็มที่ ซึ่งอาจจะต้องทำการตรวจการนับโคโลนีที่ชั่วโมงการบ่มต่าง ๆ กัน

2. The drop-plate count วิธีนี้เหมาะสำหรับกรณีที่มีจานเพาะเชื้อจำนวนน้อย ไม่เพียงพอ กับจำนวนตัวอย่างหรือเพื่อเป็นการประหยัดอาหารเลี้ยงเชื้อและอุปกรณ์อื่น ๆ ทำได้โดยการเตรียมจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวันที่แข็งตัวแล้วและแห้งสนิท แบ่งเนื้อที่บนจานเพาะเชื้อเป็นช่อง ๆ ตามจำนวน Dilution ที่เตรียมไว้ จากนั้นหยดแต่ละ Dilution ลงบนแต่ละพื้นที่ที่แบ่งไว้แล้ว หลังจากนั้นรอตัวอย่างขี้นลงที่อาหารเลี้ยงเชื้อ รอประมาณ 15-20 นาที ก่อนที่จะคว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำไปบ่มและตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้นและคำนวณด้วยวิธีทางสถิติ



รูปที่ 3 แสดง The drop-plate count

ข้อควรคำนึงในการเตรียมสารละลายแต่ละความเข้มข้น (Dilution series)

ในกรณีที่มีเซลล์ที่มีชีวิตมากเกินไปที่จะนับได้ จะต้องทำ Serial dilution เพื่อให้การนับง่ายขึ้น สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการทำ Serial dilution คือ

1. สารละลายที่ใช้ในการทำ Serial dilution อาจมีผลต่อการแขวนลอยของจุลชีพ การอยู่รอดของจุลชีพ และการเพิ่มจำนวนของจุลชีพ ดังนั้น ควรเลือกสารละลายให้เหมาะสมต่อชนิดของจุลชีพ สิ่งที่สำคัญที่สุด คือ สารละลายที่ใช้ควรจะผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และบรรจุในหลอดที่แห้งสะอาดและปราศจากเชื้อ

2. การทำ Dilution series ควรมีการวางแผนเพื่อให้ใช้เครื่องแก้วเท่าที่จำเป็นและจำนวนน้อยที่สุด โดยปกติจะใช้ 10-Fold dilution หรือน้อยกว่า (เช่น 5 หรือ 2 Fold)

3. ปริมาณที่จะถ่ายจาก Dilution หนึ่งไปอีก Dilution หนึ่ง เจือจางกว่านั้น อยู่ในช่วง 0.1-1 มล. แต่ควรจะต้องตระหนักถึงความจริงที่ว่า ยิ่งใช้ปริมาณน้อยเท่าไร ความคลาดเคลื่อนยิ่งมากขึ้นเท่านั้น โดยปกติไม่ควรใช้ปริมาณที่น้อยกว่า 0.1 มล. ยกเว้นในบางวิธีที่ระบุให้ใช้ เช่น Breed smear หรือในกรณีที่มีปิเปตหรือเครื่องแก้วจำนวนจำกัด

4. ควรเลือก Dilution ที่เหมาะสมของ Serial dilution ในการเตรียม Plate เพื่อนับจำนวนจุลชีพควรเลือก Dilution จะให้โคโลนีต่อ Plate iva สำหรับหลาย ๆ Dilution โดยทั่ว ๆ ไป เราจะเลือก 3 Dilution เพื่อเตรียมทำ Plate count ก็พอ จะประมาณจำนวนแบคทีเรียได้

5. เมื่อโคโลนีต่าง ๆ ขึ้นบน Plate เราจะนับและรายงานเฉพาะ Plate ที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10 - 300 โคโลนี กรณี Pour plate และ Spread plate ส่วน Drop plate นับและรายงานเฉพาะ Plate ที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 5 - 50 โคโลนี ดังรายละเอียดตาม ISO 4833(1991) เป็นต้น

Flow diagram: Colony count techniques

ISO 4833(1991)

Sample

Homogenisation: Stomacher 1 minute

Inoculum: 10 ml sample in 90 ml Maximum Recovery Diluent (drop plating: +0.075% agar)

Decimal Dilution

Inoculum: 1 ml of initial suspension + 9 ml Maximum Recovery (drop plating: +0.075% agar)

Inoculation (Double test)

Pour plate

Surface plate (Spread plate)

Drop plate

Inoculum: 1 ml

0.1 ml

0.05 ml

Incubation: 30 °C, 72 Hours or 37°C, 48 Hours

Evaluation

10 - 300 cfu/plate

10 - 300 cfu/plate

5-50 cfu/sector

Confidence limits associated with numbers of colonies on plates

colony count	95 % confidence limits	
	lower	upper
3	< 1	9
5	2	12
10	5	18
12	6	21
15	8	25
30	19	41
50	36	64
100	80	120
200	172	228

Dilution ratios.....Exponential form

Dilution ratio (DR)	Dilution factor (DF)	Exponential form	Plate label dilution
1/10	10	10^{-1}	-1
1/100	100	10^{-2}	-2
1/1,000	1,000	10^{-3}	-3
1/10,000	10,000	10^{-4}	-4
1/100,000	100,000	10^{-5}	-5
1/1,000,000	1,000,000	10^{-6}	-6
1/10,000,000	10,000,000	10^{-7}	-7
1/100,000,000	100,000,000	10^{-8}	-8

สูตรการคำนวณ

N = Number of colonies per ml of product (milk) or per g (meat)

Σc = Sum of all colonies on all plates counted.

V = inoculum volume of sample.

n_1 = Number of plates in **first dilution** counted

n_2 = Number of plates in **second dilution** counted

d = Dilution from which the **first counts** were obtained

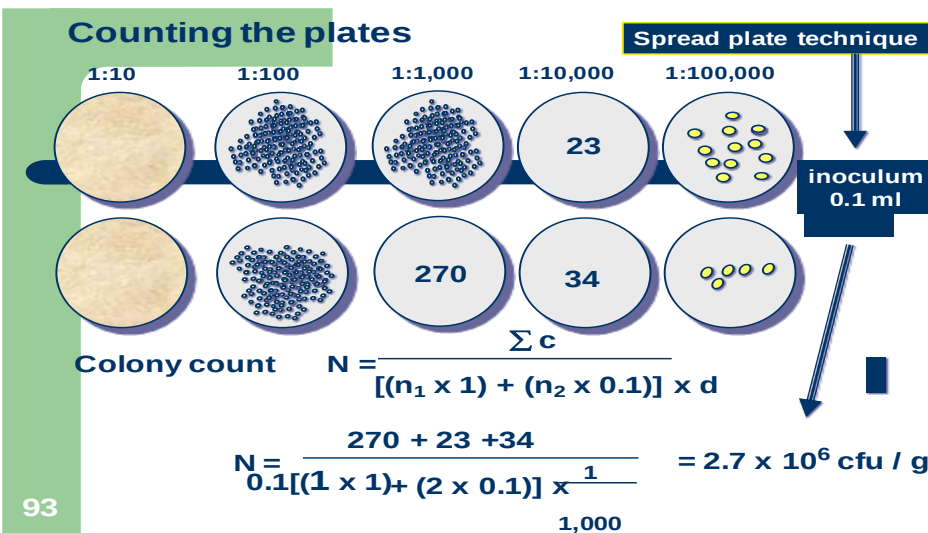
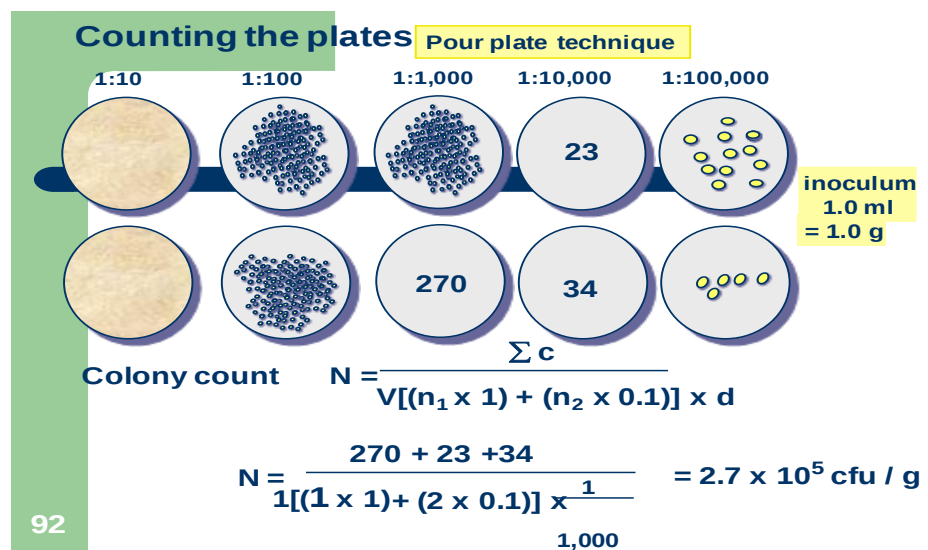
$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0.1 n_2)d}$$

Counting the plates **Pour plate technique**

Colony count

$$N = \frac{\Sigma c}{V[(n_1 \times 1) + (n_2 \times 0.1)] \times d} = \frac{180 + 155 + 23 + 14}{1[(2 \times 1) + (2 \times 0.1)] \times \frac{1}{1,000}} = \frac{372}{2.2} \times 1,000 = 1.7 \times 10^5 \text{ cfu / ml}$$

91



ขั้นตอนการตรวจตัวอย่างอาหารเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์

- การเตรียมห้องปฏิบัติการ
- การ calibrate อุปกรณ์และเครื่องมือ
- ความรู้พื้นฐานและความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน
- เตรียมตัวอย่าง
- การวางแผนทำ Dilution
- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ อุปกรณ์และสารเคมี
- การควบคุมคุณภาพการปฏิบัติงาน
- การทำ Dilution
- เทคนิคการปฏิบัติงาน Pour plate, Spread plate, Drop plate
- การบ่มเพาะเชื้อ
- การคำนวณปริมาณเชื้อ
- การแปลผล (ผ่าน/ไม่ผ่านมาตรฐาน)

ข้อสอบปฏิบัติการ รายวิชา VM063203 ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร

ตัวอย่างอาหาร ระบุ..... เทคนิค ☐ pour plate ☐ spread plate ☐ drop plate

หัวข้อสังเกต	ดี	พอใช้	ปรับปรุง	หมายเหตุ
การเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือครบและถูกต้อง				
ทำความสะอาดบริเวณที่ปฏิบัติงาน (ผ้า แอลกอฮอล์)				
เลือกจำนวนหลอดและระดับปริมาตรสารเจือจางเท่ากัน				จำนวนหลอด
เลือกชนิด plate ที่ต้องการตามเทคนิค				
เขย่าตัวอย่าง เปิดคลายเกลียวฝาขวดตัวอย่าง				
เปิดกระบอกปิเปต ลนไฟ แล้ววางฝากระบอกปิเปต				
เลือกขนาดปิเปตได้เหมาะสม				
หยิบ-จับปิเปต				
การถือฝาหลอดทดลองและจับหลอดทดลอง				
การดูดตัวอย่างให้ได้ปริมาตรสารละลายที่ต้องการ				
การปล่อยสารละลายลงหลอดทดลอง (ปลายปิเปตจุ่มต่ำกว่าระดับสารละลายแล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอด)				
นำปิเปตที่ใช้แล้วใส่ในภาชนะที่มีสารละลายฆ่าเชื้อ				
ปิดฝาหลอดแล้วนำไปเขย่า เป็นเวลา 15 วินาที				
การใช้ spreader และ micropipette				
เทคนิคปลอดเชื้อและการเก็บอุปกรณ์				
ตอบคำถาม ตอบด้านหลังกระดาษไม่ต้องเขียนคำถาม				ได้ข้อ.....

การเขียนรายงาน Processed-Food Safety (10 คะแนน)

- กลุ่ม..... (เขียนหัวมุมด้านขวา) เขียนให้ถูกต้อง พร้อมรายชื่อสมาชิก และรหัสนักศึกษา
- ชื่อเรื่องปฏิบัติการ
- หลักการและทฤษฎี (1 คะแนน)
- วิธีการทดสอบ (1 คะแนน)
- ผล (2 คะแนน)
- สรุป (2 คะแนน)
- วิจารณ์ ต้องหางานวิจัยอื่นๆมาประกอบอย่างน้อย 2 งานวิจัยหรือบทความ ซึ่งควรวิจารณ์ผลการทดลองและเทคนิคการทดลอง ตนเองเปรียบเทียบ กับงานวิจัยหรือบทความที่ค้นคว้า อย่าลืมนัดเส้นใต้หรือเน้นข้อมูลที่นำมาประกอบวิจารณ์ อย่าลืมนัดงานวิจัยหรือบทความที่ค้นคว้าแนบมาด้วย (3 คะแนน)
- ข้อเสนอแนะ (กรณีปรับแก้ไขการทดลองได้ใหม่ จะวางแผนการทดลองอย่างไร หรือมีปัญหา อุปสรรคอะไรในการทดลอง) และเอกสารอ้างอิง (1 คะแนน)
- ส่งเข้าหัดคะแนน (วันจันทร์ก่อน 12.00 น)

บทปฏิบัติการที่ 1 การประเมินทางประสาทสัมผัส

เรียบเรียงโดย ผศ.ดร.ชูลีพร ศักดิ์สง่าวงศ์

หลักการ

มนุษย์สามารถใช้ประสาทสัมผัสทั้ง 5 คือ ประสาทการมองเห็น ประสาทการได้ยิน ประสาทการรับรู้รส ประสาทการรู้กลิ่นและประสาทการสัมผัส เรียกว่า “sensory test” หรือ “organoleptic test” หรือ “subjective test” โดยการประเมินทางประสาทสัมผัสอย่างมีระบบ เริ่มมาจากสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 จากความพยายามที่จะจัดหาอาหารให้เป็นที่ยอมรับของทหารอเมริกัน ดังนั้นประสาทสัมผัสของมนุษย์จึงเป็นอุปกรณ์ทดสอบเสมือนเครื่องมือวิทยาศาสตร์ช่วยในการทดสอบคุณภาพอาหาร ประกอบกับผู้บริโภคสมัยปัจจุบันมีความสนใจต้องการทราบข้อมูลเกี่ยวกับอาหารและมีความต้องการด้านความปลอดภัย ด้านคุณภาพ ด้านคุณค่าทางโภชนาการ และการใช้ประสาทสัมผัสรับรู้ความรู้สึกเพิ่มมากขึ้น เพราะฉะนั้นความพึงพอใจของผู้บริโภคด้านประสาทสัมผัสต่อผลิตภัณฑ์อาหารจึงมีความสำคัญมาก

การประเมินทางประสาทสัมผัสจึงนำมาเป็นเครื่องมือใช้ในธุรกิจอาหาร เมื่อมีการผลิตผลิตภัณฑ์ใหม่ งานควบคุมดูแลคุณภาพและระบบประกันคุณภาพ งานคัดเลือกวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ งานกรณีปรับสูตรหรือเปลี่ยนแปลงการผลิต และการประเมินอายุการเก็บรักษา ซึ่งการทดสอบอาหารโดยใช้ประสาทสัมผัสของมนุษย์มีตัวแปรหลายอย่างที่ต้องควบคุมเพื่อให้ได้คำตัดสินทางประสาทสัมผัสที่อ้างอิงได้อย่างไม่ลำเอียง แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ ตัวแปรกลุ่มสถานที่ทดสอบ ตัวแปรกลุ่มผลิตภัณฑ์และตัวแปรกลุ่มผู้ทดสอบ

ลักษณะเฉพาะทางประสาทสัมผัสของอาหาร (Sensory characteristics of food) คือ การประเมินด้วยประสาทสัมผัสของมนุษย์ ทั้งทางกายและจิต คือ ตา หู จมูก ปาก (ลิ้น เพดาน ฟัน) ผิวหนัง (มือ, ลิ้น) รวมทั้งความรู้สึกทางจิตด้านอารมณ์พึงพอใจ/ทัศนคติ /ความเห็น ได้แก่ ลักษณะปรากฏ (สี ความเป็นเงา) กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบ ความประทับใจ (จิต) ดังรายละเอียด

1. ลักษณะปรากฏ (Appearance)

ลักษณะปรากฏ หมายถึง ลักษณะทางกายภาพของอาหารที่ปรากฏให้เห็นด้วยตา และรับรู้ด้วยประสาทสัมผัสอื่นร่วมกัน ด้วยการสังเกตพบสี ขนาดรูปร่าง ลักษณะทางแสง เช่น ความขุ่น ความใส ตะกอน การแยกชั้น เป็นต้น ดังจะกล่าวต่อไป

1.1 สี (Colour) ความเป็นเงา (Gloss) หรือความสุกใส (Sheen)

1.2 ขนาด รูปร่างและสิ่งบกพร่อง/ตำหนิ อาจใช้คุณสมบัติด้านเรขาคณิต ได้แก่ ขนาด รูปร่าง และสิ่งบกพร่อง รวมทั้งความหนาแน่น น้ำหนัก ปริมาตร สามารถวิเคราะห์โดยใช้สายตา ตรวจเปรียบเทียบในผังมาตรฐาน ซึ่งขนาด รูปร่างและสิ่งบกพร่อง อาจเนื่องจากพันธุกรรม จุลินทรีย์ เครื่องจักรกล เป็นต้น

2. กลิ่น (Odor/smell/aroma/fragrance) ตาม Joint FAO/WHO Food standards Program แบ่งเป็นกลิ่นธรรมชาติ กลิ่นเหมือนธรรมชาติหรือกลิ่นสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติ และกลิ่นเทียมที่สังเคราะห์ทางเคมี ชีวภาพ โดยที่ในธรรมชาติไม่พบ

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส และความข้นหนืด/ ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Texture and Viscosity / Consistency) เป็นลักษณะเฉพาะของอาหารรับรู้โดยประสาทสัมผัส เช่น การจับ การกด การลูบไล้ การยืด การเคี้ยว การนวด การเห็น การได้ยินเสียง

ก. ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture) ในคำแปลภาษาลาติน หมายถึง ทอ (weave) ซึ่งหมายถึง ส่วนโครงสร้าง ของวัตถุ โดยเฉพาะของแข็งและกึ่งแข็ง ซึ่งมนุษย์รับรู้ได้จากระบบประสาทสัมผัส การจับ การลูบไล้ การบีบ การกด การกัด การดิ่ง การฉีก การนวด

ข. ความข้นหนืด (Viscosity/Consistency) ลักษณะเนื้อสัมผัสของของเหลว ศึกษาการไหล (rheology) ของของเหลว แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ของเหลวที่มีเนื้อเดียวกัน (homogeneous) ทั้งทางเคมี และทางกายภาพเรียกว่า ของไหลนิวโตเนียน (Newtonian fluid) ซึ่งเป็นค่าความข้นหนืดที่วัดได้เป็นอิสระไม่ ขึ้นกับแรงในการกวนของเหลว เช่น น้ำเชื่อม น้ำผลไม้ใส และของไหลอีกประเภทคือ ของเหลวที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน เรียกว่า ของไหลไมใช่ นิวโตเนียน (Non-Newtonian fluid) ได้แก่ นํ้ามะเขือเทศ นํ้าผลไม้ขุ่น ค่าความข้นหนืดขึ้นกับแรง ความเร็ว รอบและระยะเวลาในการกวน

ตารางที่ 1. ระดับของลักษณะเนื้อสัมผัส

ประเภทลักษณะเนื้อสัมผัส	ระดับของลักษณะเนื้อสัมผัส (ต่ำไปสูง)
การสัมผัสเคลื่อนไหว	
-ความแข็ง (Hardness)	- นุ่ม (soft) แน่น (firm) แข็ง(hard)
-การเกาะกันระหว่างอนุภาค (Cohesiveness)	- ก้อนร่วน (crumbly) เม็ดร่วน (crunchy) ผงร่วน หรือกรอบร่วน (brittle)
	- นุ่ม (tender) เหนียว (chewy) กระด้าง (tough)
-ความข้นหนืด (Viscosity)	- เหลว (thin) ข้นหนืด (viscous)
-การเกาะกันระหว่างอนุภาคอาหารกับผิวสัมผัส เช่น ลิ้น เพดาน	- เหนียว (sticky) เหนอะหนะ (tacky) เหนียวแน่น (gooey)
การสัมผัสนิ่ง และใช้ตา	
-ขนาดรูปร่าง อนุภาค	- ก้อน (gritty) เม็ด (grainy) ขึ้นหยาบ (coarse) ผงละเอียด (powdery)
-การเรียงอนุภาค	- เป็นเส้นใย (fibrous) เซลล์ (cellular) ผลึก (crystalline)
-ความชื้น	- แห้ง (dry) ชื้น (moist) เปียก (wet) และ (watery)
-น้ำมัน	- อุดมน้ำมัน (oily) เย็นน้ำมัน (greasy)

4. รส (Taste) หมายถึง สารใดๆ ที่ให้รส หรือมีรส ซึ่งประสาทสัมผัสของมนุษย์สามารถรับรู้ได้โดยผ่านลิ้น เพดาน และอวัยวะในช่องคอ ประกอบด้วยรสพื้นฐาน 5 รส คือ รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขม และรสฝางขรุส หรือมีชื่อเรียกว่า รสอุมามิ

การจำแนกวิธีการทดสอบด้วยประสาทสัมผัส (Classification of sensory evaluation methods)

เทคนิคการวิเคราะห์อาหารเพื่อหาข้อมูลด้านประสาทสัมผัส แบ่งเป็น 3 วิธี ในการทดสอบโดยวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้นุขย์เสมือนอุปกรณ์ หรือเครื่องจักร มนุษย์ทำหน้าที่อธิบายรายละเอียด จำแนกความแตกต่างตามสเกลที่คำถามกำหนด และเป็นการตอบรับของมนุษย์ในฐานะผู้บริโภคตัวจริง โดยที่คำศัพท์ที่ใช้เรียกผู้ที่ทดสอบว่า “panel”, “Subject”, “panelist”, “judge”, “ respondent” , “ taster” , “ assessor” เป็นต้น แต่ผู้ทดสอบที่เป็นมนุษย์ย่อมมีขีดจำกัดเสมอ คือ

1. มนุษย์มีความแปรปรวนตลอดเวลาอย่างเห็นได้ชัดตามธรรมชาติ
2. มนุษย์มีความแตกต่างระหว่างมนุษย์ด้วยกัน
3. มนุษย์มีความลำเอียง อคติ

การจำแนกวิธีการทดสอบ

1. วิธีวิเคราะห์เชิงความแตกต่าง หรือการทดสอบความแตกต่าง (Discriminative test/ Difference test)

1.1 ลักษณะเฉพาะของการทดสอบความแตกต่าง

- (1) วิเคราะห์เฉพาะความแตกต่าง
- (2) ผลลัพธ์ที่ถูกระบุว่าแตกต่าง อาจจะเหมือน หรืออาจจะไม่เหมือนกันทุกส่วน
- (3) ผลลัพธ์ที่ถูกระบุว่าไม่แตกต่าง จะต้องเหมือนกันทุกส่วน
- (4) เป็นวิธีที่วัดความไวของผู้ทดสอบได้
- (5) ใช้ผู้ทดสอบที่มีคุณภาพ ทั้งระดับชำนาญและระดับผ่านการฝึก

1.2 ทำไมต้องใช้การทดสอบความแตกต่าง

- (1) ช่วยลดจำนวนผลลัพธ์ โดยแยกกลุ่มผลลัพธ์ที่ไม่แตกต่าง
- (2) รวดเร็ว ใช้เวลา 10-15 นาที ต่อชุดทดสอบ

(3) ค่าใช้จ่ายต่ำ ใช้ผู้ทดสอบ 20-25 คน ต่อชุดทดสอบ

(4) ใช้ข้อมูลที่ชี้แทนผู้บริโภครู้ได้ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ถูกระบุว่าไม่แตกต่างโดยผู้ทดสอบให้ความเชื่อมั่นเหมือนผู้บริโภครู้ว่าไม่แตกต่างกัน

1.3 ข้อจำกัดของการทดสอบความแตกต่าง

- (1) ต้องใช้ผู้ทดสอบที่มีคุณภาพ
- (2) ไม่ทราบเงื่อนไขหรือเหตุผลของการตัดสินใจที่ชัดเจน
- (3) เป็นผลของการตัดสินใจด้านความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ แต่ไม่ใช่การตัดสินใจทางธุรกิจ
- (4) เป็นวิธีที่ถูกบังคับด้วยข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์

2. วิธีวิเคราะห์เชิงพรรณนา (Descriptive test)

2.1 ลักษณะเฉพาะของการทดสอบเชิงพรรณนา

- (1) ผู้ทดสอบทุกคนมีความชำนาญเฉพาะ
- (2) ใช้ผู้ทดสอบจำนวนน้อย 10-12 คน
- (3) วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์จำนวนมาก (30 ตัวอย่าง หรือมากกว่า)
- (4) วิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ทั้งด้านรายละเอียดและระดับความเข้ม ซึ่งมนุษย์รับรู้ได้
- (5) ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์ได้โดยผู้ทดสอบอาจจะวิเคราะห์โดยผู้บริโภครู้ไม่ได้

2.2 ทำไมต้องใช้การทดสอบเชิงพรรณนา

- (1) หลีกเลี่ยงการใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุม หรือผลิตภัณฑ์อ้างอิง เนื่องจากผลิตภัณฑ์อ้างอิงผลิตภัณฑ์อ้างอิงไม่มี หรือไม่มีการผลิตซ้ำ
- (2) แสดงลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ทัศนคติของผู้บริโภคได้
- (3) นำข้อมูลไปใช้กล่าวอ้างในการโฆษณาโดยไม่เกินจริง
- (4) ชี้ความแตกต่างโดยละเอียด รูปพรรณสัณฐานของผลิตภัณฑ์ (product arrays)
- (5) ชี้ข้อมูลเอกลักษณ์สินค้า

2.3 ข้อจำกัดของการใช้การทดสอบเชิงพรรณนา

(1) การฝึกหัด ฝึกอบรมผู้ทดสอบมากเกินไปอาจทำให้เกิดการเบี่ยงเบน ดัดแปรพฤติกรรมของผู้ทดสอบได้ และอาจเชื่อมโยงไปถึงปัญหาใหม่ที่เกิดขึ้นกับผู้ทดสอบ เช่น อารมณ์อ่อนระเห็ด เครียด เก็บกด

(2) ต้องใช้เฉพาะผู้ทดสอบชำนาญ

(3) ควบคุมไม่ให้มีการทดสอบความพอใจ และความสำคัญของลักษณะเฉพาะผลิตภัณฑ์ มาร่วมด้วย

(4) ต้องการทดสอบหลายครั้งซ้ำหลายครั้งจนเกิดความมั่นใจได้ข้อมูลน่าเชื่อถือ

(5) ประสิทธิภาพด้านความไว อ่อนไหว อาจจะเกินหน้าเทคโนโลยี

3. วิธีทดสอบการตอบรับ หรือการทดสอบการยอมรับ (Affective methods)

3.1 ลักษณะเฉพาะของการทดสอบการยอมรับ

(1) ผู้ทดสอบ คือ ผู้บริโภคทั่วไป อาจเป็นพนักงาน หรือผู้บริโภคทั่วไป

(2) ต้องมีความไว รู้สึกไวต่อลักษณะอาหาร

(3) ทดสอบได้ในสถานที่ที่ไม่ต้องมีการควบคุม เช่น บ้าน ศูนย์การค้า ห้องปฏิบัติการหรือห้องอาหาร

(4) การทดสอบทำได้ง่าย แต่การสร้างความสำเร็จอาจทำได้ยาก จึงต้องนำข้อมูลวิธีการทดสอบอื่นมา

ประกอบการพิจารณาด้วย

3.2 ทำไมต้องใช้การทดสอบการยอมรับ

(1) สร้างระบบคัดกรองที่ได้ผล

(2) ลดจำนวนผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคไม่ชอบ ไม่ยอมรับ

(3) ค่าใช้จ่ายต่ำ และการตอบสนองทำได้ง่าย เร็ว

(4) ช่วยทำให้เกิดการตกลงกันได้ ถ้าเป็นการทดสอบที่มีสเกลใหญ่

3.3 ข้อจำกัดของการทดสอบการยอมรับ

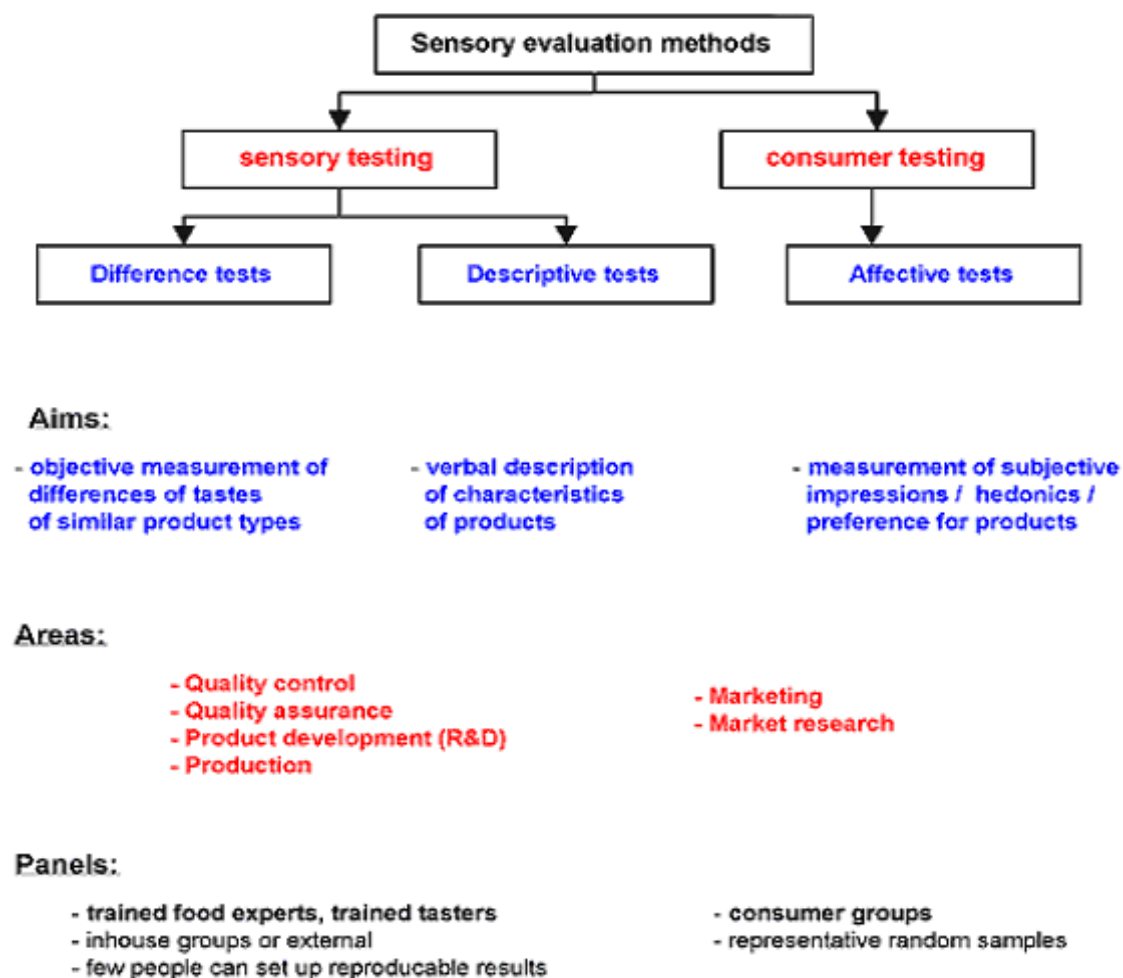
(1) ผู้ทดสอบบางคนอาจไม่กล้าตอบตรง (passive response) จึงต้องแก้ไขโดยการทำร่วมกับการทดสอบความบ่อยของการบริโภค

(2) ยุ่งยากในการหาผู้ทดสอบที่เป็นผู้บริโภคตรง และถ้าเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ มากต้องทำการทดสอบโดยใช้ผู้บริโภคหลายกลุ่ม

(3) ไม่เหมาะสมกับการทดสอบที่ต้องนำไปตัดสินใจทางตลาดขนาดใหญ่ และมีส่วนแบ่งการตลาดไม่สูง

(4) ยุ่งยากในการสื่อสารกับผู้บริโภคสเกลใหญ่ ดังนั้นข้อมูลที่ได้อาจเป็นเพียงทิศทางร่วมกับข้อมูลด้าน

อื่น



ภาพ 1. การจำแนกวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัส

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบค่าความหวานของน้ำตาล (Difference testing)

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

ตั้งแต่สมัยโบราณ เราทำน้ำตาลจากน้ำหวานของต้นตาล จึงเรียกสารให้ความหวานนั้นว่า "น้ำตาล" จนปัจจุบันถึงแม้ว่ารูปแบบของสารให้ความหวานจะเปลี่ยนไป ทั้งรูปลักษณะ และวัตถุดิบ ซึ่งทำมาจากอ้อย แต่ชื่อน้ำตาลก็ยังคงถูกใช้อยู่ ส่วนชื่อน้ำตาลในความหมายเดิมเปลี่ยนชื่อเป็นน้ำตาลโตนดแทน โดยที่น้ำตาล คือ สารให้ความหวานตามธรรมชาติชนิดหนึ่ง แต่ไม่ใช่ น้ำตาลทุกชนิดจะมีค่าความหวานเท่ากัน ลักษณะโครงสร้างทางโมเลกุลที่ต่างกันของน้ำตาลแต่ละชนิดมีผลให้น้ำตาลมีค่าความหวานต่างกัน ดังนั้นจุดประสงค์การทดลองจึงให้เปรียบเทียบค่าความหวานของน้ำตาลโมโนและไดแซ็กคาไรด์ต่างๆ

ตัวอย่าง

Glucose	10 กรัม	Sucrose	10 กรัม
Lactose	10 กรัม	Fructose	10 กรัม

วิธีการทดสอบ

1. ใช้ช้อนตักตัวอย่างครึ่งละตัวอย่าง แล้วนำมาแตะที่ลิ้นผู้ทดสอบ
2. คอยประมาณ 10-20 วินาที แล้วทำการเปรียบเทียบค่าความหวานในแต่ละชนิดน้ำตาล โดยที่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบตัวอย่างต้องทำความสะอาดล้างช่องปากด้วยน้ำ แล้วรอประมาณ 2-5 นาที ก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไป แล้วบันทึกในแบบสอบถามจัดลำดับ

* ระดับความหวาน เป็นมาตรวัดเรียงลำดับเป็นการวัดที่แสดงความแตกต่างของคุณภาพ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มนั้นสามารถบอกได้เพียงว่าหวานมากที่สุด หวานมาก หวานน้อย เป็นต้น

คำถาม น้ำตาลชนิดใดหวานมากที่สุด และน้อยที่สุดตามหลักวิทยาศาสตร์

แบบสอบถามจัดลำดับ (ranking)

ชื่อ.....วันที่.....

ผลิตภัณฑ์.....

การจัดลำดับ ตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง จากค่าความหวานมากที่สุดไปน้อยที่สุด

ค่าความหวานมากที่สุด

.....

.....

ค่าความหวานน้อยที่สุด

การทดลองที่ 2 ลักษณะของคุกกี้ (Description testing)

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

ในสหรัฐอเมริกา แคนาดา และออสเตรเลีย เรียก ขนมอบชิ้นเล็ก ๆ รูปร่างแบน ซึ่งทำจากแป้งสาลี ไขมัน ไข่และน้ำตาล ว่าคุกกี้ แต่ที่ประเทศอังกฤษเรียกขนมแบบเดียวกันนี้ว่า "บิสกิต" (biscuit) คำว่าคุกกี้มีที่มาจากคำในภาษาดัตช์ "koekje" ซึ่งหมายถึง "เค้กชิ้นเล็ก ๆ" แรกเริ่มเดิมทีนั้น คุกกี้ทำโดยการแบ่งแป้งขนมเค้กที่ผสมแล้วออกมาส่วนหนึ่ง จากนั้นแบ่งออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำเข้าเตาอบ เพื่อทดสอบอุณหภูมิที่จะใช้อบขนมเค้ก จนเมื่อศตวรรษที่ 19 ความหอมอร่อยของคุกกี้ก็ดังไกลไปถึงประเทศอังกฤษ เรื่อยไปยังรัฐแมสซาชูเซตของประเทศสหรัฐอเมริกา และนับแต่นั้นจนถึงปัจจุบัน ก็ได้มีสูตรคุกกี้ที่มีส่วนผสมหลากหลายเกิดขึ้น ดังนั้นจุดประสงค์การทดสอบให้ระบุความต่างของเนื้อสัมผัสของคุกกี้แต่ละชนิด

ตัวอย่าง คุกกี้ 3 ชนิด

วิธีการทดสอบ

1. ให้ผู้ทดสอบใช้ประสาทสัมผัสทดสอบเนื้อสัมผัส (texture) ครั้งละตัวอย่าง โดยการสัมผัสผิว (surface) การกัด (first bite) เพื่อพิจารณาความแข็ง (hardness) โดยที่ต้องกัดจนขาด และการบด (chew down) จนเป็นชิ้นเล็กพอที่จะให้ผสมกับน้ำลายเกิดเป็นก้อนรวมเวลาทั้งสิ้นประมาณ 7-15 วินาที เพื่อพิจารณาความเหนียวของก้อนอาหาร (adhesiveness of mass) ซึ่งเป็น ความเหนียวติดฟัน ติดเพดาน เหงือก โดยมีขั้นตอนคือ นำตัวอย่างเข้าปาก 1. กัด (ฟันหน้า) 2. บด (ฟันหลัง) 4. นวด (ลิ้น น้ำลาย) 5. กลืน (ลิ้น ขากรรไกร น้ำลาย)

2. ทุกครั้งที่ทำการทดสอบตัวอย่างต้องทำความสะอาดล้างช่องปากด้วยน้ำ แล้วรอประมาณ 2-5 นาที ก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไป แล้วบันทึกในแบบสอบถามสเกลวัด ใช้สเกลเส้น (line scale) ที่มีค่ากำกับทั้ง 2 ปลาย มีตัวเลข 0-10

* กรุณา ศึกษาองค์ประกอบ สูตรผสมคุกกี้อย่างละเอียด

แบบสอบถามสเกลวัด

รหัสแบบทดสอบ.....วันที่ชื่อตัวอย่าง.....รหัสหรือชื่อผู้ทดสอบ.....

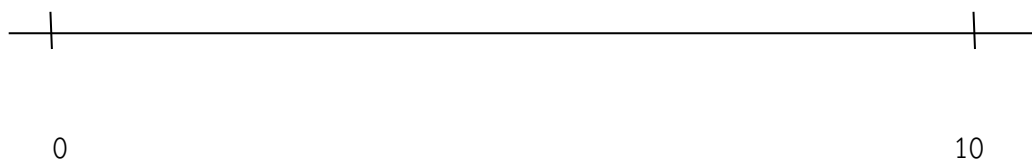
โปรดเขียนเส้นแนวขวางตั้งฉากพร้อมระบุรหัสตัวอย่างบนแนวเส้นแกนนอน

พร้อมวัดระยะความแตกต่างเป็นหน่วยเซนติเมตร

การกัด (first bite) วัดความรู้สึกความแข็ง (hardness)



การบด (chew down) วัดความเหนียวของก้อนอาหาร (adhesiveness of mass)



การทดลองที่ 3 คุณชอบน้ำผึ้งชนิดไหน (Affective testing by Hedonic scale)

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

ปัจจุบันสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ร่วมกับกรมปศุสัตว์ออกมาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่อง การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มผึ้ง (8200-2559) ตั้งแต่องค์ประกอบ ฟาร์ม อาหาร น้ำ การจัดการในการเลี้ยง การจัดการด้านสุขภาพ การจัดการด้านสิ่งแวดล้อมและการบันทึกข้อมูล เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์จากผึ้งที่มีคุณภาพ ถูกสุขลักษณะและปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยที่สัตว์แพทย์มีบทบาทปฏิบัติงานกำกับในส่วนผึ้งพันธุ์ (European honey bee; *Apis mellifera* L.) และผึ้งโพรง (Indian honey bee; *Apis cerana* F.) ที่เลี้ยงไว้ เพื่อผลิตน้ำผึ้ง รอยัลเจลลี เกสรผึ้ง ไขผึ้ง กาวผึ้งหรือยางผึ้งหรือชันผึ้ง (propolis) และการผสมเกสร พืชอาหารผึ้ง ได้แก่ พืชตามธรรมชาติหรือพืชที่ปลูกเพื่อให้ให้น้ำหวานและเกสรที่ผึ้งสามารถเก็บเป็นอาหารได้อย่างเหมาะสม สำหรับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตในแต่ละช่วงการเลี้ยง ป้องกัน ควบคุม กำจัดโรคและศัตรูผึ้ง ห้ามใช้ยาและสารเคมีกับรังผึ้ง ก่อนเก็บน้ำผึ้งเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ช่วงระหว่างการเก็บเกี่ยว ผลผลิต ย้ายรังผึ้งไปตั้งในแหล่งพืชอาหารตามแผนงานที่กำหนดไว้และการสลัดน้ำผึ้งหัวคอน (น้ำผึ้งที่อยู่ในรวงผึ้งก่อนฤดูกาลผลิต) ออกให้หมดก่อนที่จะมีการสลัดน้ำผึ้งออกจากพืชอาหารหลักครั้งแรก ห้ามใช้อาหารเสริม ยา และสารเคมี ช่วงหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต และป้องกัน ควบคุม กำจัดโรคและศัตรูผึ้ง โดยทำความสะอาดในรังผึ้งและอุปกรณ์เลี้ยงผึ้ง

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ได้ออกมาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องมาตรฐานสินค้าเกษตร 8003-2556 ระบุชัดเจนว่าน้ำผึ้ง หมายถึง ของเหลวรสหวานซึ่งผึ้งผลิตขึ้นจากน้ำหวานของดอกไม้หรือจากส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ที่ผึ้งนำมาสะสมไว้ในรวงผึ้ง ผ่านขั้นตอนทางธรรมชาติของผึ้ง จนได้เป็นน้ำหวานที่มีความหอมหวาน ลักษณะเหนียวหนืด ชื่น มีสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม เป็นสินค้าเกษตรจากสัตว์ที่มีความสำคัญและมีราคาสูง มีกลิ่นรสเฉพาะตัว การผลิตน้ำผึ้งจะต้อง คำนึงถึงคุณภาพต่างๆ เช่น สี กลิ่น รสตามธรรมชาติ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทส ปริมาณสารตกค้างและสารปนเปื้อนต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ มีการระบุข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์คือ ไม่พบ *Salmonella* spp. ในน้ำผึ้ง 25 กรัมหรือมิลลิลิตร ไม่พบ *Staphylococcus aureus* ในน้ำผึ้ง 0.1 กรัมหรือมิลลิลิตรเพื่อเป็นการส่งเสริมและเป็นแนวทางให้เกษตรกร ผู้ประกอบการผลิตน้ำผึ้งที่มีคุณภาพ จำนวนยีสต์และราไม่เกิน 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัมหรือมิลลิลิตร มีฉลากตามข้อกำหนดของกฎหมายที่เกี่ยวข้องและมีข้อความแสดงรายละเอียดที่ภาษาชนบรจุ โดยต้องมองเห็นได้ง่าย ชัดเจน ไม่หลอกลอก ไม่เป็นเท็จหรือหลอกลวง โดยระบุชื่อผลิตภัณฑ์ ได้แก่ “น้ำผึ้ง” และควรระบุชนิดของพืชหรือดอกไม้ที่เป็นแหล่งที่มาของน้ำผึ้ง เช่น “น้ำผึ้งลำไย” การตรวจสอบการเติมน้ำตาลในน้ำผึ้ง (ความเป็นน้ำผึ้งแท้) ระบุให้มีน้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก ซึ่งมาตรฐานสินค้าเกษตร 8003-2556 มีการปรับปรุงเพิ่มเติมจาก ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำผึ้ง ให้ทันสมัยและตรวจสอบการปลอมปนน้ำตาลในน้ำผึ้งเนื่องจากการปลอมปนน้ำเชื่อมข้าวโพดฟรุกโตสในน้ำผึ้งที่เกิดขึ้นในตลาดโลกตั้งแต่ในปี พ. ศ. 2513 และในหลายประเทศมีการอนุญาตให้จำหน่ายน้ำผึ้งผสมน้ำตาลหรือไซรัปได้ แต่สำหรับประเทศไทยไม่มีการอนุญาต ประกอบกับปัจจุบันการตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหารเป็นเรื่องสำคัญสำหรับทั้งผู้บริโภคและอุตสาหกรรมกระบวนการผลิตทุกระดับไม่ควรมีการปลอมปนในอาหาร แม้ว่า

การปลอมปนน้ำตาลในน้ำผึ้งจะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ แต่ปัญหาของการฉ้อฉลน้ำผึ้งมีผลต่อการเติบโตของตลาดโดยสร้างความเสียหายให้กับผู้บริโภคในด้านคุณค่าทางสุขภาพและจิตใจ

การเลี้ยงผึ้งของประเทศไทยได้มีการเปลี่ยนแปลงทั้งในด้านเศรษฐกิจ สังคมและสภาพแวดล้อม เช่น การเข้าร่วมประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (AEC) อุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งของประเทศไทยจะต้องปรับตัวต่อผลกระทบที่อาจเกิดขึ้น จากการนำเข้าน้ำผึ้งจากต่างประเทศเนื่องจากสถานการณ์ปัจจุบันการเลี้ยงผึ้งจำเป็นต้องมีระบบการจัดการฟาร์มหรือระบบการผลิตที่ได้มาตรฐานและการตลาดโลก

น้ำผึ้งมีประวัติการบริโภคของมนุษย์มายาวนาน และถูกใช้เป็นสารให้ความหวานในอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด น้ำผึ้งยังมีบทบาทในศาสนาและสัญลักษณ์นิยม รสชาติของน้ำผึ้งแตกต่างกันตามน้ำหวานที่ผึ้งเก็บมา และมีน้ำผึ้งหลายชนิดและเกรดที่ผลิตหลากหลาย คุณภาพของน้ำผึ้งแตกต่างกันตามคุณสมบัติทางกายภาพเคมี ชีวภาพ ดังนั้นจุดประสงค์เพื่อทดสอบการชอบหรือไม่ชอบน้ำผึ้งชนิดต่างๆ

ตัวอย่าง น้ำผึ้ง 3 ชนิด

วิธีการทดสอบ

1. ใช้ช้อนตักตัวอย่างครึ่งละตัวอย่าง แล้วนำมาแตะที่ลิ้นผู้ทดสอบ
2. คอยประมาณ 10-20 วินาที แล้วทำการทดสอบการชอบหรือไม่ชอบน้ำผึ้งชนิดต่างๆ ตามลักษณะที่ระบุ (สี กลิ่น รส) โดยที่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบตัวอย่างต้องทำความสะอาดล้างช่องปากด้วยน้ำ แล้วรอประมาณ 2-5 นาที ก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไป แล้วบันทึกในแบบสอบถามความพอใจ (Hedonic)

แบบสอบถาม Hedonic scale

รหัสแบบทดสอบ.....วันที่ชื่อตัวอย่าง.....รหัสหรือชื่อผู้ทดสอบ.....

ทดสอบแต่ละตัวอย่างว่าชอบหรือไม่ชอบน้ำผึ้งชนิดต่างๆ ตามตามลักษณะที่ระบุ

ลักษณะ	ตัวอย่าง		
	รหัสตัวอย่างที่ 1	รหัสตัวอย่างที่ 2	รหัสตัวอย่างที่ 3
สี			
กลิ่น			
รส			

ระดับ: 1 = ชอบมากเป็นพิเศษ

ระดับ: 2 = ชอบมาก

ระดับ: 3 = ชอบปานกลาง

ระดับ: 4 = ชอบเล็กน้อย

ระดับ: 5 = เฉยๆ

ระดับ: 6 = ไม่ชอบเล็กน้อย

ระดับ: 7 = ไม่ชอบปานกลาง

ระดับ: 8 = ไม่ชอบมาก

ระดับ: 9 = ไม่ชอบเลย

บทปฏิบัติการที่ 2 การตรวจความสะอาดของมือ

เรียบเรียงโดย อ.ดร.ชุลีพร ตักดีสง่างษ์

หลักการ

การล้างมือ เป็นมาตรการสำคัญที่ช่วยป้องกันและลดอุบัติการณ์การปนเปื้อนของเชื้อโรคในวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งลดและกำจัดการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลและเป็นมาตรการที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายที่สุด เนื่องจากโรคหลายโรคติดต่อโดยมีมือเป็นตัวนำเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย การล้างมือเป็นวิธีการป้องกันโรคติดเชื้อ ดังนั้นการล้างมือจึงจัดเป็นสิ่งสกปรก เหงื่อ ไขมัน ที่อยู่บนมือ อาจเป็นลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนมือเพียงชั่วคราว (transient flora) สามารถล้างออกด้วยน้ำได้ง่าย เมื่อถูมือแรงพอ และเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) และเพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อและการติดเชื้อที่ถ่ายทอดโดยการสัมผัสด้วยมือ

การล้างมือแบ่งออกตามวัตถุประสงค์ ได้ 3 วิธี ได้แก่

1. การล้างมือธรรมดา (Normal handwashing) เป็นการล้างมือเพื่อขจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนมือชั่วคราวออก รวมทั้งเหงื่อ ฝุ่นละออง เป็นการล้างมือโดยใช้น้ำและสบู่ธรรมดา เหมาะกับงานทั่วไป โดยที่มีสบู่ทำหน้าที่หล่อลื่นให้สิ่งสกปรกหลุดง่าย โดยที่สบู่ไม่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ
2. การล้างมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ (Hygienic handwashing) เป็นการล้างมือ เมื่อต้องการขจัดหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ชั่วคราวบนมือออก ซึ่งวิธีนี้เหมาะกับห้องปฏิบัติการ โรงงานแปรรูปอาหาร ฟาร์มปศุสัตว์ สถานพยาบาล เชื้อจุลินทรีย์อาจเกิดจากการสัมผัสสารคัดหลั่งจากร่างกายสัตว์ ผู้ป่วยหรืออุปกรณ์เครื่องมือ อุปกรณ์เครื่องมือในโรงงานแปรรูปอาหาร ฟาร์มปศุสัตว์ เครื่องใช้ทางการแพทย์หรือสิ่งของของผู้ป่วยที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งวิธีนี้ต้องใช้น้ำยาฆ่าเชื้อปริมาณที่พอเพียง ถูมือให้ทั่วและแรงพอ นานอย่างน้อย 15 วินาที นอกจากนี้อาจถูมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อผสมแอลกอฮอล์ (antiseptic hand rub) ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ใช้น้ำ ช่วยลดปริมาณเชื้อที่มีชีวิตบนมือรวดเร็ว แต่มือจำเป็นต้องไม่สกปรกหรือเปื้อน หากมือเปื้อนต้องล้างมือด้วยน้ำและสบู่ก่อนเสมอ
3. การล้างมือก่อนทำหัตถการปลอดเชื้อ (Surgical handwashing) เป็นการล้างมือจนถึงข้อศอก เมื่อต้องการขจัดหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ชั่วคราวบนมือและลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นบนมือออกเพื่อเตรียมทำหัตถการ เป็นการล้างมือที่ต้องใช้แปรงช่วยขัด โดยเฉพาะเล็บ ซอกนิ้ว นิ้ว และอุ้งนัยอย่างน้อย 2 นาที ก่อนล้างน้ำออก วิธีนี้ถูมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ แล้วล้างมือจนถึงข้อศอก เมื่อมือแห้ง ฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์

การล้างมือควรทำเมื่อ หลังการจามหรือไอ หรือไปสัมผัสสารคัดหลั่งของผู้ป่วย ก่อนและหลังอาหาร ก่อนและหลังการเข้าห้องน้ำ ก่อนและหลังการสูบบุหรี่ ก่อนและหลังการเตรียมอาหาร เมื่อหยิบสิ่งของที่ตกลงพื้น และเมื่อก่อนและหลังการทำงานเมื่อกลับจากทำงาน

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

มือเป็นอวัยวะที่มนุษย์เราใช้สัมผัสกับสิ่งต่างๆ รอบตัวมากที่สุด สามารถเข้าไปได้ในทุกๆ ซอกของร่างกาย ถ้านับเป็นพาหะนำโรค ก็เป็นพาหะนำโรคที่ใกล้ตัวเรามากที่สุดอย่างหนึ่ง และความเหมาะสมต่อการ

เป็นพาหะนำเชื้อที่ดี ดังนั้นการล้างมืออย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพจึงช่วยลดการปนเปื้อน กำจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจุดประสงค์การทดลองเพื่อประเมินประสิทธิภาพทางจุลชีววิทยาของการล้างมือของตน และศึกษาเทคนิคการ swab ที่มือ

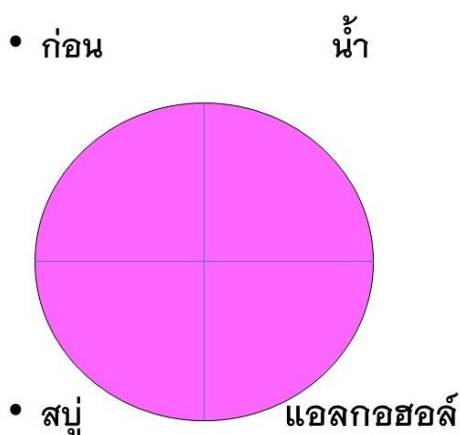
การทดลองที่ 1 ประสิทธิภาพการล้างมือ

อุปกรณ์ สารเคมี

1. มือ
2. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar)
3. สบู่ผสมสารฆ่าเชื้อ และแอลกอฮอล์ 70 %

วิธีการทดสอบ

1. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาขีดเส้นแบ่งเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน แต่ละส่วนระบุคำว่า “ก่อน” “น้ำ” “สบู่” และ “แอลกอฮอล์”
2. ก่อนการล้างมือ ให้นิ้วหัวแม่มือข้างที่ทดสอบ สัมผัสลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในส่วนที่ระบุ “ก่อน”
3. ล้างมือด้วยน้ำอย่างเดียว เมื่อล้างเสร็จ สะบัดมือให้แห้งหรือรอให้แห้ง แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือข้างที่ทดสอบเดิม สัมผัสลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในส่วนที่ระบุ “น้ำ”
4. ล้างมือด้วยสบู่ธรรมดาหรือสบู่ผสมสารฆ่าเชื้อ เมื่อล้างเสร็จ สะบัดมือให้แห้งหรือรอให้แห้ง แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือข้างที่ทดสอบเดิม สัมผัสลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในส่วนที่ระบุ “สบู่”
5. พนมมือต่อแอลกอฮอล์ รอให้แห้ง แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือข้างที่ทดสอบเดิม สัมผัสลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในส่วนที่ระบุ “แอลกอฮอล์”
6. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง
7. นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนแต่ละส่วน แล้วบันทึกผลเปรียบเทียบระหว่าง 4 ส่วนที่ทดสอบ



ภาพ 2.1 รูปแบบจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดสอบ

การทดลองที่ 2 เทคนิคการ swab มือ

อุปกรณ์ สารเคมี (เทคนิคการ swab (Wet and dry) มือ 1 ข้าง โดยเทคนิค Pour plate)

1. ปิเปตขนาด 1 ml จำนวน 6 อัน
2. สวอปฆ่าเชื้อ 2 ชิ้น ต่อชุด จำนวน 1 ชุด
3. สารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 5 ml จำนวน 1 หลอด
4. สารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml จำนวน 2 หลอด
5. จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 4 จาน

2.1 วิธีการทดสอบ เทคนิคการ swab (Wet and dry) มือ 1 ข้าง โดยเทคนิค Pour plate

วิธีการดำเนินการ

1. เตรียม swab 2 ไม้ และสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 5 ml จำนวน 1 หลอด ไปฆ่าเชื้อก่อนสำหรับ 1 ชุดการทดลอง
2. นำไม้ swab 1 ไม้ ใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 5 ml ที่เตรียมไว้ให้ทั่วบริเวณสำลีพอหมด ๆ นำไปเช็ดที่มือข้างถนัด (ให้พนักงานหยามมือขึ้น สวอปบริเวณฝ่ามือ พร้อมทั้งปลายนิ้วมือถึงข้อที่ 2 นอกจากหัวแม่มือให้สวอปถึงข้อที่ 1 และซอกนิ้วมือ) แล้วหักส่วนสำลีใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 5 ml (dilution 1:1)
3. นำไม้ swab 1 ไม้ อีกอันที่ยังไม่ได้ใช้ แล้วนำไปเช็ดซ้ำที่บริเวณเดิมของมือที่ทดสอบ แล้วหักส่วนสำลีใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 5 ml
4. ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท
5. นำหลอดทดลองมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:10
6. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1}
7. นำหลอดทดลองที่มีตัวเลขกำกับที่ข้างหลอด 10^{-1} มาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:100 ต่อ
8. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอด 10^{-2}
9. เตรียมทำ pour plate method โดยแต่ละความเจือจางควรทำ 2 ซ้ำ (Duplicate) คือ ใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อสองจานต่อการเจือจาง ต้องเขียน รหัสการเจือจางที่ตัวจานอาหารเลี้ยง

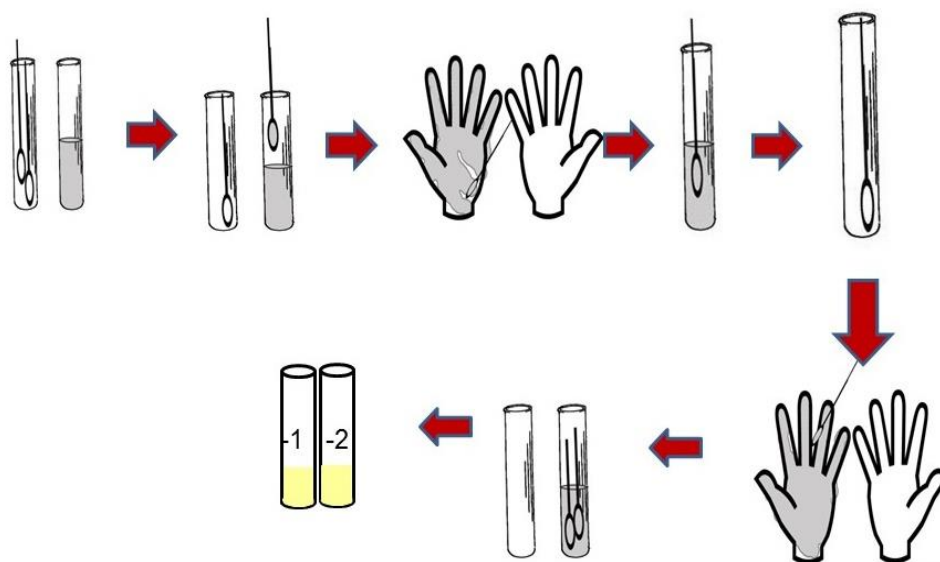
10. ดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml แต่ละความเจือจาง ใส่ในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วต่อจาน ต้องเปลี่ยนการใช้ปิเปตต่อระดับการเจือจางใหม่ทุกครั้ง คือ สามารถใช้ปิเปตซ้ำกับระดับความเจือจางเดียวกัน

11. นำอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้นซึ่งยังเหลวอยู่และมีอุณหภูมิ $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เทหกลงไปในจานเพาะเชื้อ (การที่ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิระบุ เพื่อป้องกัน Heat shocking และผสมให้เข้ากัน การผสมให้เข้ากันทำโดยหมุนจานเพาะเชื้อเป็นวงกลมไปในทางทิศตามเข็มนาฬิกา 5 รอบ ทวนเข็มนาฬิกา 5 รอบ และเคลื่อนจานเพาะเชื้อไปซ้าย-ขวา อย่างละ 5 ครั้ง จากนั้นทิ้งให้วุ้นแข็งตัว

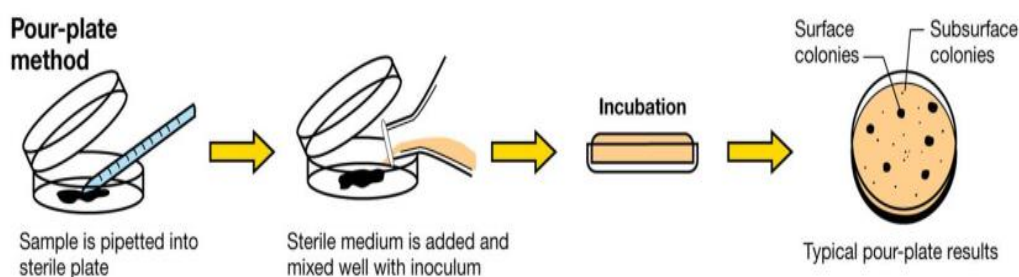
ข้อควรระวัง จะต้องไม่ทำให้วุ้นเหลวระลอกไปเกาะติดบนฝาของจานเพาะเชื้อระหว่างผสมให้เข้ากัน

12. สำหรับเทคนิค pour plate ต้องคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อแบคทีเรีย (ฝาจานอยู่ด้านล่าง ตัวจานอยู่ด้านบน) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง

13. นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนและในวุ้นของแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบันทึกผลจำนวนทั้งหมดของเชื้อจุลินทรีย์



ภาพ 2.2 เทคนิคการ swab (Wet and dry) มือ 1 ข้าง (มือที่ถนัด)



ภาพ 2.3 เทคนิค Pour plate

การคำนวณและการแปลผล

นับจำนวนโคโลนีจากความเข้มข้นที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 10-300 โคโลนี (เทคนิค Pour plate) และ 5-50 โคโลนี (เทคนิค Drop plate) แล้วนำมาคำนวณเป็นหน่วย cfu/มือ ตามสูตร

สูตรคำนวณ colony from unit (cfu)

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0.1n_2)d_1}$$

เมื่อ N = จำนวน (cfu)/มือ

V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ตรวจ (ในที่นี้คือ 1 กรัม เทคนิค Pour plate ส่วน Drop plate ใช้

0.05)

n_1 = จำนวนจานเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นแรก (ความเข้มข้นมากที่สุด)

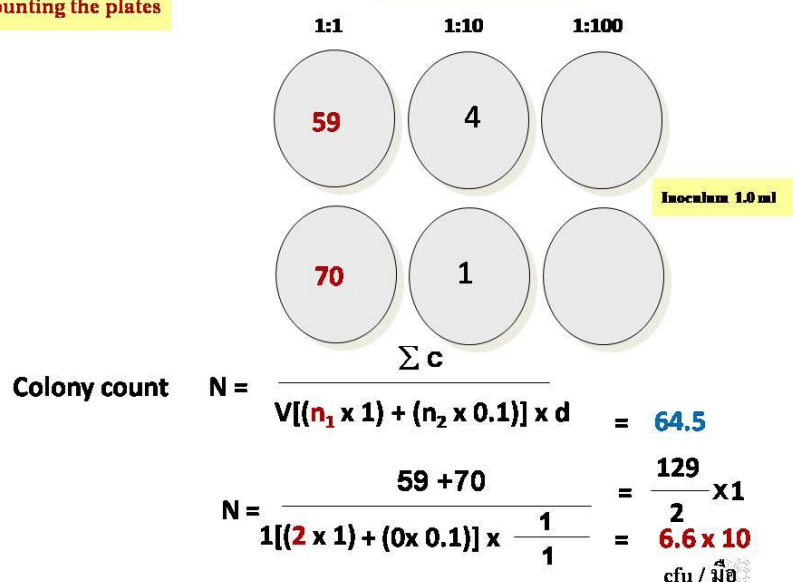
n_2 = จำนวนจานเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นที่สอง (ความเข้มข้นเจือจางถัดมา)

d_1 = ระดับความเข้มข้นแรก (ความเข้มข้นมากที่สุด)

C = จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่นับได้จากจานเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

Counting the plates

Pour plate technique



ภาพ 2.4 การคำนวณเทคนิค Pour plate

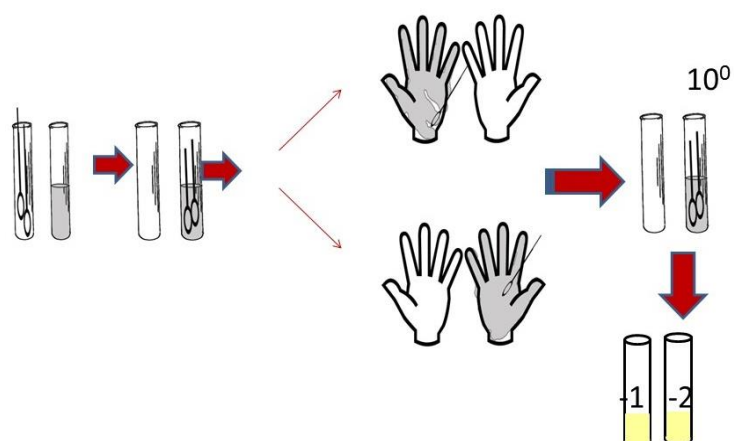
อุปกรณ์ สารเคมี (เทคนิคการ swab (Wet) มือทั้ง 2 ข้าง โดยเทคนิค Drop plate)

1. ปิเปตขนาด 1 ml จำนวน 3 อัน
2. สวอปฆ่าเชื้อ 2 ชิ้น ต่อชุด จำนวน 1 ชุด
3. สารละลาย 0.85 % NaCl+ Agar 0.075% ปริมาตร 5 ml จำนวน 1 หลอด
4. สารละลาย 0.85 % NaCl+ Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml จำนวน 2 หลอด
5. จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 2 จาน
6. ไมโครปิเปต ขนาด 10-100 μ l

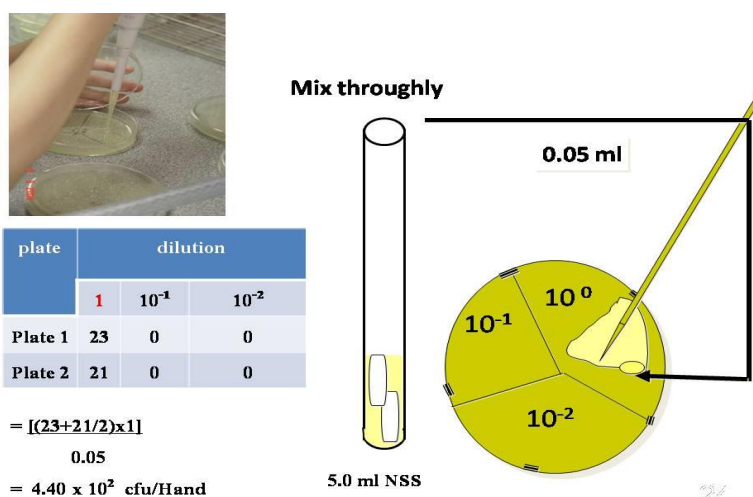
2.2 วิธีการทดสอบ เทคนิคการ swab (Wet) มือทั้ง 2 ข้าง โดยเทคนิค Drop plate

วิธีการดำเนินการ

1. เตรียม swab 2 ไม้ และสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด ไปฆ่าเชื้อก่อน สำหรับ 1 ชุดการทดลอง
2. นำไม้ swab 2 ไม้ ออกมาจากหลอดทดลอง ใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 5 ml ที่เตรียมไว้ให้ทั่วบริเวณฝ่ามือทั้งหมด ๆ นำไปเช็ดที่มือพนักงานข้างซ้าย และขวาอย่างละ swab (ให้พนักงานหงายมือขึ้น สวอปบริเวณฝ่ามือ พร้อมทั้งปลายนิ้วมือถึงข้อที่ 2 นอกจากหัวแม่มือให้สวอป ถึงข้อที่ 1 และซอกนิ้วมือ) แล้วหักส่วนสำลีใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 5 ml
3. ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท
4. นำหลอดทดลองมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:10
5. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1}
6. นำหลอดทดลองที่มีตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1} มาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:100 ต่อ
7. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-2}
8. เตรียมทำ drop plate method โดยแต่ละความเจือจางควรทำ 2 ซ้ำ (Duplicate) คือ ใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงสองจานแล้วแบ่งตามการเจือจางที่ต้องการ ต้องเขียนรหัสการเจือจางที่ตัวจานอาหารเลี้ยง
9. ใช้ ไมโคร-ปิเปต ที่ตั้งค่าไว้ที่ 50 μ l โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายอาหารเข้มข้น 10^{-2} จำนวน 50 μ l จับไมโคร-ปิเปตตั้งฉากกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยไม่ให้ปลายปิเปตสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง แล้วปล่อยสารละลายลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เขียนว่า 10^{-2} จากนั้นให้ทำเหมือนเดิมแต่ลดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเป็น 10^{-1} และ 10^0 ตามลำดับ ไม่ต้องเปลี่ยนการใช้ปิเปตระดับการเจือจางใหม่ คือสามารถใช้ปิเปตซ้ำกับระดับความเจือจางเดียวกัน และหยดจากความเจือจางมากไปน้อยตามลำดับ
10. วางอาหารเลี้ยงเชื้อไว้เพื่อให้ตัวอย่างซึมเข้าไปที่อาหารเลี้ยงเชื้อก่อนนำไปบ่ม
11. สำหรับเทคนิค drop plate ต้องคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง
12. นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบันทึกผลจำนวนทั้งหมดของเชื้อจุลินทรีย์

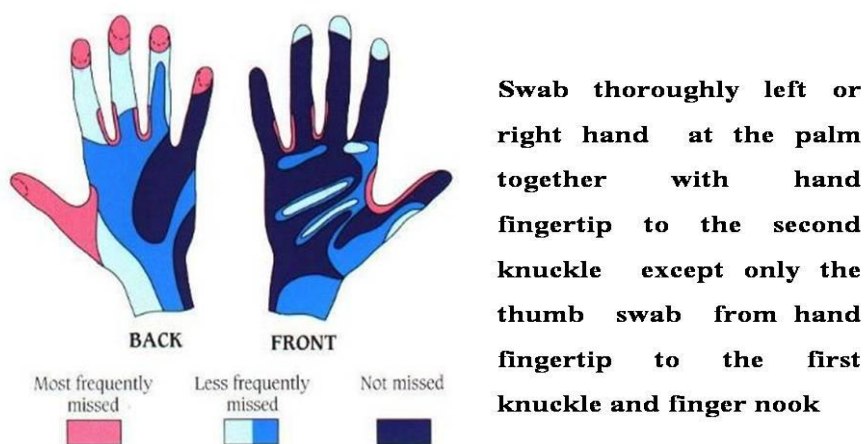


ภาพ 2.5 เทคนิคการ swab (Wet) มือทั้ง 2 ข้าง



ภาพ 2.6 เทคนิค Drop plate และการคำนวณ

Results of hand cleansing study.



ภาพ 2.7 เทคนิคการ swab มือ

2.1 วิธีการทดสอบ เทคนิคการ swab (Wet and dry) มือ 1 ช้าง โดยเทคนิค Spread plate

วิธีการดำเนินการ

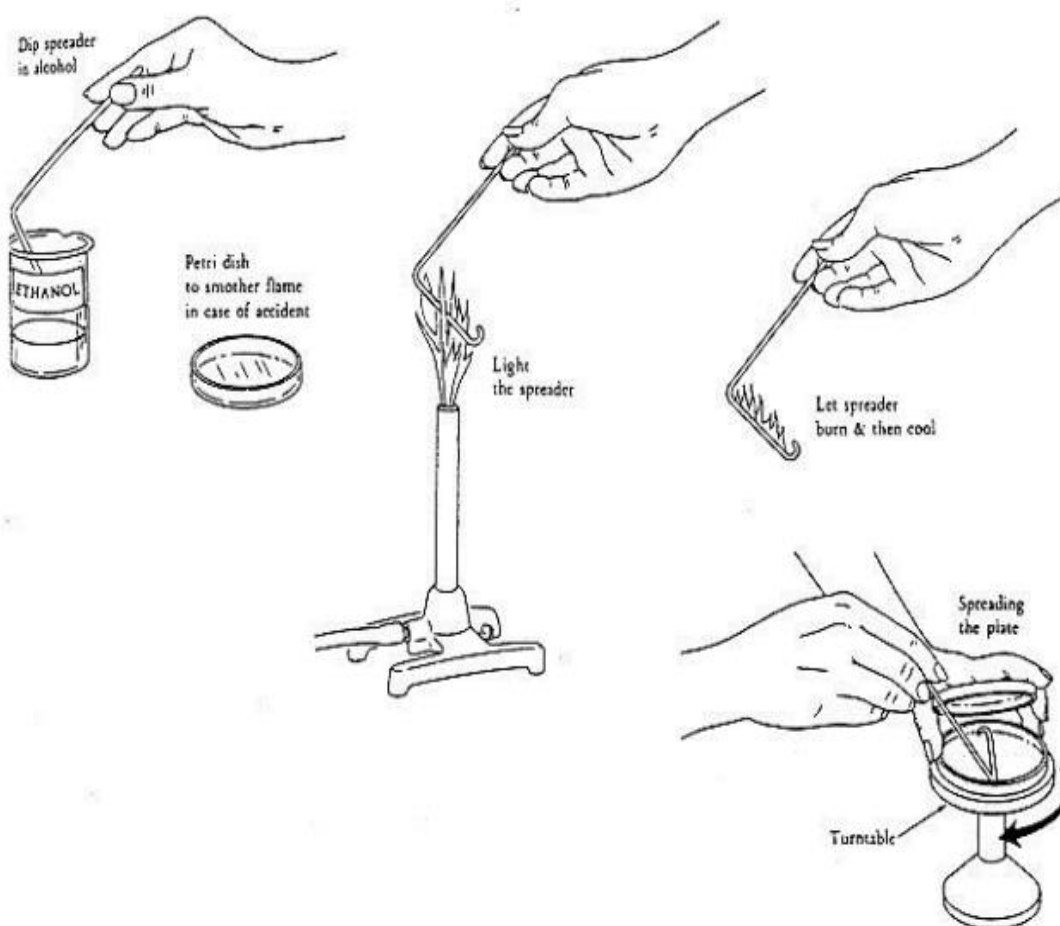
1. เตรียม swab 2 ไม้ และสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด ไปฆ่าเชื้อก่อน สำหรับ 1 ชุดการทดลอง
2. นำไม้ swab 2 ไม้ ออกมาจากหลอดทดลอง ใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 5 ml ที่เตรียมไว้ให้ทั่วบริเวณสำลีพอหมาด ๆ นำไปเช็ดที่มือพนักงานข้างซ้าย และขวาอย่างละ swab (ให้พนักงานหงายมือขึ้น สวอปบริเวณฝ่ามือ พร้อมทั้งปลายนิ้วมือถึงข้อที่ 2 นอกจากหัวแม่มือให้สวอป ถึงข้อที่ 1 และซอกนิ้วมือ) แล้วหักส่วนสำลีใส่ในสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 5 ml
3. ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท
4. นำหลอดทดลองมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:10
5. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1}
6. นำหลอดทดลองที่มีตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1} มาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที จากนั้นทำ 10-fold dilution 1:100 ต่อ
7. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-2}
8. เตรียมทำ Spread plate method โดยแต่ละความเจือจางควรทำ 2 ซ้ำ (Duplicate) คือ ใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อสองจานต่อการเจือจาง ต้องเขียน รหัสการเจือจางที่ตัวจานอาหารเลี้ยง
9. ดูดสารละลายตัวอย่างมา 0.1 ml แต่ละความเจือจาง ใส่ในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วต่อจาน ต้องเปลี่ยนการใช้ปิเปตต่อระดับการเจือจางใหม่ทุกครั้ง คือ สามารถใช้ปิเปตซ้ำกับระดับความเจือจางเดียวกัน
10. เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายจนทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วย spreader (Spreader ก่อนใช้ต้องมีการฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 % ให้ทั่วแล้วนำมาลนไฟ แล้วทิ้งให้ Spreader เย็นลง) ซึ่ง 1 spreader ใช้ได้กับ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น
11. ควรทิ้งให้ตัวอย่างดูดซึมแล้วจึงคว่ำจานเพาะเชื้อลงและนำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง
12. นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบันทึกผลจำนวนทั้งหมดของเชื้อจุลินทรีย์

คำถาม

ทำไมการเลือกตัวอย่างที่ระดับเจือจาง มาทดสอบควรพิจารณาเทคนิค และความสะอาดหรือสกปรกของมือมาทดสอบ?

ทำไมเวลาตรวจเชื้อจุลินทรีย์ ต้องปฏิบัติงานใกล้ตะเกียงเบนเซน ?

ทำไมเวลาตรวจเชื้อจุลินทรีย์ ต้องเปิดฝาเพลทจานเพาะเชื้อแบบแน่นๆ ไม่วางฝาเพลทกับโต๊ะปฏิบัติงาน ?



ภาพ 2.8 เทคนิค Spread plate

ปัญหาการรายงานผลการตรวจเชิงปริมาณหรือคุณภาพเชื้อจุลินทรีย์

1. ไม่อธิบายลักษณะตัวอย่าง เช่น ตัวอย่างมือซ้าย ผ่านการล้างมือด้วยสบู่ฆ่าเชื้อ หรือ เนื้อสุกรปราศจากไขมัน
2. ไม่อธิบายลักษณะสี รูปร่าง ลักษณะ จำนวนโคโลนี
3. การคำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ผิด
4. ไม่ระบุหน่วยให้ชัดเจน เช่น CFU/g หรือ CFU/ml หรือ CFU/มือ



ภาพ 2.9 ขั้นตอนการล้างมือ

บทปฏิบัติการที่ 3 การตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำ

เรียบเรียงโดย ผศ.ดร.ชูลีพร ศักดิ์สง่างาม

หลักการ

น้ำมีสูตรเคมี H_2O ประกอบด้วยสองอะตอมของไฮโดรเจนและหนึ่งอะตอมของออกซิเจนน้ำมีอิทธิพลต่อความเป็นอยู่ของมนุษย์ พืช สัตว์รวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับมนุษย์น้ำเป็นองค์ประกอบที่สำคัญสำหรับชีวิตรองจากออกซิเจน น้ำเป็นสิ่งจำเป็นต่อการดำรงชีพของมนุษย์เพราะต้องใช้บริโภคและอุปโภค น้ำสะอาดจึงมีความจำเป็น เพื่อสุขภาพ ขณะเดียวกันมนุษย์ก็ใช้น้ำในการประกอบกิจกรรมหลากหลาย จึงมีการกำหนดคุณภาพน้ำทั้งเพื่อบริโภคและอุปโภครวมทั้งการตรวจคุณภาพน้ำเสียหรือน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม บ้านเรือนที่พักอาศัย ฟาร์มปศุสัตว์ซึ่งมาตรฐานคุณภาพน้ำมีหลากหลาย เช่น เกณฑ์คุณภาพน้ำดื่มขององค์การอนามัยโลกปี 2536 มาตรฐานน้ำบริโภคในชนบทของคณะกรรมการบริหารโครงการจัดให้น้ำสะอาดในชนบททางราชอาณาจักร 2531 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำบริโภค มอก 322-2511 และเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาของกรมอนามัยปี 2543 เป็นต้น

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

การตรวจคุณภาพน้ำมีทั้งการตรวจทางกายภาพ ได้แก่ สิ่งเจือปนที่มีลักษณะที่สามารถรับรู้ได้ด้วยประสาทสัมผัส เช่น กลิ่น สี รส ความขุ่น และการตรวจทางด้านจุลินทรีย์และด้านเคมี

การทดลองที่ 1 การตรวจคุณภาพน้ำ

อุปกรณ์ สารเคมี

1. ภาชนะเก็บตัวอย่าง
 - 1.1 ขวดแก้วปากกว้าง ความจุ 500 ml มีฝาปิดสนิท ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อการตรวจทางด้านจุลินทรีย์
 - 1.2 ขวดพลาสติกที่สะอาดมีฝาปิดสนิท ความจุประมาณ 2 L เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและ กายภาพ
 - 1.3 ขวดพลาสติกทรงกระบอกที่สะอาดชนิด PP (Polypropylene) หรือ PE (Polyethylene) มีฝาปิดสนิท ความจุประมาณ 1 L เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางโลหะหนักตัวอย่างน้ำที่มีทองแดงและสังกะสีสูง หรือน้ำเสียที่มีโลหะหนักเป็นจำนวนมาก ให้เก็บตัวอย่างด้วยขวดที่เติม chelating agent ลงไปด้วย เพื่อลดความเป็นพิษของโลหะ (สำคัญมากสำหรับตัวอย่างที่ต้องเก็บไว้นาน 24 ชั่วโมง) โดยใช้ EDTA ในความเข้มข้น 372 mg/L คือเติม 0.3 ml ของ 15% EDTA ในขวดขนาด 120 ml หรือเติมรวมกับ $Na_2S_2O_3$ ก็ได้
2. $Na_2S_2O_3$
3. 70% alcohol
4. Sterile swabs
5. Sterile plastic bags
6. Sterile 0.85 % NaCl + Agar 0.075%
7. Sterile plate

ตัวอย่าง

น้ำจากโรงอาหาร โรงพยาบาล ห้องน้ำ หอพัก ห้องพักตามภาควิชาฯ คอกเลี้ยงสัตว์ บ้านนักศึกษา

วิธีการทดสอบทางชีวภาพ

1. การทดสอบทางแบคทีเรีย ถ้าตัวอย่างน้ำประปามีคลอรีนอิสระให้สู่มเก็บน้ำตัวอย่างใส่ขวดแก้ว ที่บรรจุสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (0.1 ml ของ 3.0% solution/ 100 ml ของตัวอย่างน้ำ สาร $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ควรเตรียมไว้ใช้ไม่เกิน 3 วัน) และเก็บรักษาคุณภาพน้ำตัวอย่างระหว่างการนำส่งห้องปฏิบัติการโดยแช่เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 °C
2. การเก็บตัวอย่างน้ำควรเก็บโดยตรงจากก๊อกน้ำ จึงต้องทำความสะอาดบริเวณปากก๊อกก่อนสู่มเก็บตัวอย่าง
3. ทำความสะอาดบริเวณปากก๊อกน้ำก่อนสู่มเก็บตัวอย่างด้วย 70% alcohol และ sterile swabs
4. กรณีที่ไม่ได้ส่งตรวจทันที ต้องส่งตัวอย่างน้ำ เพื่อตรวจภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4-8 °C
5. เปิดปล่อยให้น้ำไหลตามปกติ 2-3 นาที เพื่อล้างน้ำที่ค้างในระบบท่อ
6. ถือขวดเก็บตัวอย่างเพื่อเก็บน้ำโดยระมัดระวังอย่าสัมผัสภาชนะหรือฝาบริเวณด้านในที่สัมผัสน้ำ
7. อย่าเก็บตัวอย่างจนเต็ม ควรให้มีช่องว่างประมาณ 1 นิ้ว จากด้านบนสุดความสูงของขวดเก็บตัวอย่าง เพื่อสามารถเขย่าและสังเกตความผิดปกติได้ แล้วปิดฝาให้สนิท
8. ทำฉลากติดขวดเก็บตัวอย่างคือ ชนิดน้ำ วันที่เก็บ เวลา สถานที่ อุณหภูมิช่วงเวลาที่เก็บ
9. ทำการเจือจางตัวอย่าง 10-fold dilution ($10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$) เพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (ค่ามาตรฐานน้อยกว่า 500 cfu/ml) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำบริโภค มอก 322-2511
10. นำตัวอย่างมาตรวจหาเชื้อ *E. coli* เชื้อ *Salmonella* spp. เชื้อ *Clostridium perfringens* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ค่ามาตรฐานต้องไม่พบในตัวอย่างน้ำ 100 ml) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำบริโภค มอก 257-2549

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้ จากตัวอย่างน้ำ

ข้อ 1 (Pour plate, Spread plate)

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	100	55	100
Plate 2	120	60	50

ข้อ 2 (Pour plate, Spread plate, Drop plate)

Dilution	1 : 100	1 : 1000	1 : 10000
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

ข้อ 3 (Pour plate, Spread plate, Drop plate)

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	TNTC	TNTC	TNTC
Plate 2	TNTC	TNTC	TNTC

ข้อ 4 (Pour plate, Spread plate, Drop plate)

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

ข้อ 5 (Pour plate, Spread plate, Drop plate)

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	2	1	1
Plate 2	0	2	0

ข้อ 6 (Pour plate, Spread plate, Drop plate)

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	0	1	0
Plate 2	0	1	0

TNTC (too numerous to count) คือ มีมากกว่า 300 โคโลนีกรณี Pour plate และ Spread plate และมากกว่า 50 กรณี drop plate

คำถาม สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำประปាក่อนตรวจจุลินทรีย์ในน้ำประปาเพราะอะไร

หน่วยการตรวจจุลินทรีย์ในน้ำ คืออะไร

• แบคทีเรียทั่วไปในน้ำ เทคนิค **Pour plate**

Dilution	1 : 10		1 : 100	1 : 1,000
	สีขาว	สีเหลือง	สีขาว	สีเหลือง
Plate 1	110	15	20	0
Plate 2	100	10	15	0

$$N = \frac{\sum c}{V[(n_1 + 0.1 n_2)d]} = \frac{110+15+100+10+20+15}{1[(2+[0.1*2])10^{-1}]}$$

$$= \frac{270}{1*[2.2*0.1]}$$

$$= 1,227.272 = 1.2*10^3 \text{ cfu/ml}$$

55

ภาพ 3.1 การคำนวณเทคนิค Pour plate

• แบคทีเรียทั่วไปในน้ำ เทคนิค **Pour plate**

Dilution	1 : 10		1 : 100	1 : 1,000
	สีขาว	สีม่วง	สีขาว	สีเหลือง
Plate 1	100	10	10	2
Plate 2	100	10	0	0

$$N = \frac{\sum c}{V[(n_1 + 0.1 n_2)d]} = \frac{100+10+100+10+12}{1[(2+[0.1*1])10^{-1}]}$$

$$= \frac{232}{1*[2.1*0.1]}$$

$$= 1,104.76 = 1.1*10^3 \text{ cfu/ml}$$

ภาพ 3.2 การคำนวณเทคนิค Pour plate

วิธีการทดสอบคุณภาพน้ำ โดยเทคนิค Drop plate

วิธีการดำเนินการ

1. เชยตัวอย่างน้ำ (10^0) นาน 15 วินาที
2. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-1}
3. ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิท
4. นำหลอดทดลองมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที
5. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตร จึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-2}
6. นำหลอดทดลองที่มีตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-2} มาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Vortex mixer) นาน 15 วินาที
7. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 ml นำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.85 % NaCl + Agar 0.075% ปริมาตร 9 ml โดยจุ่มปลายปิเปตต่ำกว่าระดับสารละลายที่อยู่ในหลอดประมาณ 2 เซนติเมตรจึงปล่อยสารละลาย ยกปิเปตขึ้นเหนือระดับของสารละลาย แล้วแตะปลายของปิเปตที่ข้างหลอดเป็นเวลา 3 วินาที แล้วยกปิเปตขึ้น หลังจากนั้นทำการปิดฝาหลอด และทิ้งปิเปตในกระบะฆ่าเชื้อ พร้อมเขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดเป็น 10^{-3}
8. เตรียมทำ drop plate method โดยแต่ละความเจือจางควรทำ 2 ซ้ำ (Duplicate) คือ ใช้จานอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงสองจานแล้วแบ่งตามการเจือจางที่ต้องการ ต้องเขียนรหัสการเจือจางที่ตัวจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
9. ใช้ ไมโคร-ปิเปต ที่ตั้งค่าไว้ที่ 50 μ l โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายอาหารเข้มข้น 10^{-3} จำนวน 50 μ l จับไมโคร-ปิเปตตั้งฉากกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยไม่ให้ปลายปิเปตสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง แล้วปล่อยสารละลายลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เขียนว่า 10^{-2} จากนั้นให้ทำเหมือนเดิมแต่ลดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเป็น 10^{-1} และ 10^0 ตามลำดับ ไม่ต้องเปลี่ยนการใช้ปิเปตระดับการเจือจางใหม่ คือสามารถใช้ปิเปตซ้ำกับระดับความเจือจางเดียวกัน และหยดจากความเจือจางมากไปน้อยตามลำดับ
10. วางอาหารเลี้ยงเชื้อไว้เพื่อให้ตัวอย่างซึมเข้าไปที่อาหารเลี้ยงเชื้อก่อนนำไปบ่ม ประมาณ 15-20 นาที
11. สำหรับเทคนิค drop plate ต้องคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง
12. นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบันทึกผลจำนวนทั้งหมดของเชื้อจุลินทรีย์

คำถาม

1. ตัวอย่างน้ำ มีหน่วยในการรายงานผลคือ ?
2. ตัวอย่างน้ำฝิ่ง มีหน่วยในการรายงานผลคือ ?
3. ตัวอย่างน้ำดื่ม เกรด premium ควรพิจารณาเริ่มวางแผนทำ Dilution ไດเริ่มแรก ?

บทปฏิบัติการที่ 4 การตรวจหาเชื้อ Yeast and Mold in foods

เรียบเรียงโดย ผศ.ดร.ชูลีพร ตักดีสง่างษ์

หลักการ

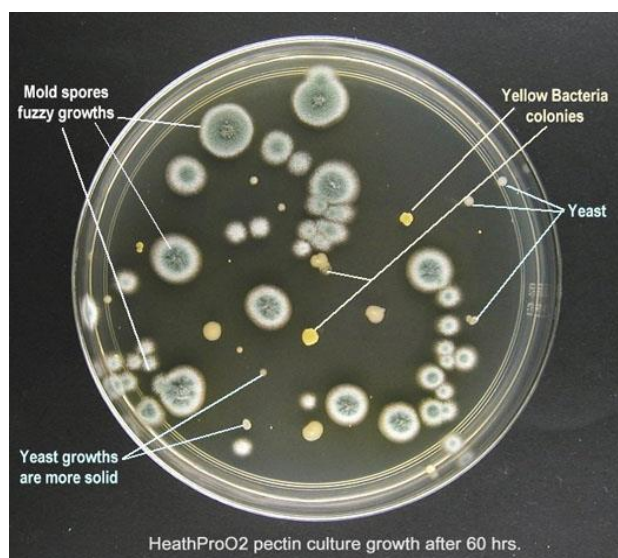
อาหารที่มีสารอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงและโปรตีนสูง เช่น แป้ง ถั่ว ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ข้าวชนิดต่างๆ วัตถุดิบอาหารสัตว์เป็นต้นที่มีความชื้นต่ำ ถ้ามีความชื้นเพิ่มขึ้นอาจเกิดการเสียได้จากราและยีสต์ รวมทั้งสปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยวัตถุดิบและอาหารดังกล่าว จะผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาจากแหล่งเพาะปลูก วิธีการเก็บเกี่ยว กระบวนการผลิต จนถึงการใช้บริโภค

ธัญพืชและผลิตภัณฑ์อาหารแห้งมักพบจุลินทรีย์ในดินและสิ่งแวดล้อมปนเปื้อน การมีสารอาหารคาร์โบไฮเดรต สูงและโปรตีนสูง แต่มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (a_w) ต่ำ ซึ่งจำกัดการเจริญถ้าการเก็บรักษาถูกต้อง แต่กรณีของแป้ง เนื่องจากการฟอกสีซึ่งมีผลยับยั้งจุลินทรีย์อาจทำให้พบจุลินทรีย์น้อย แต่ถ้าธัญพืชและผลิตภัณฑ์อาหารแห้งมีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีเหมาะสมอาจพบการเจริญจุลินทรีย์ของแบคทีเรียหรือสปอร์ในจีนัส *Bacillus* รวมทั้งแบคทีเรียจำพวกโคลิฟอร์ม *Achromobacter* *Flavobacterium* *Sarcina* *Micrococcus* *Alcaligenes* *Serratia* และราหรือยีสต์ได้

รา เป็นจุลชีพชนิดยูคาริโอท (Eukaryotic microorganism) มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ประกอบด้วยเยื่อ 2 ชั้น ภายในนิวเคลียสมี 1 nucleolus ล้อมรอบนิวเคลียส ไม่มีคลอโรพลาสต์ ราสาย (mold หรือ mould) จัดเป็นราชนิดหลายเซลล์ (multicellular fungi) เจริญให้ filamentous colony ซึ่งมีลักษณะฟูมากน้อยต่างๆ กัน ตามชนิดของเชื้อ ราเป็นผู้ย่อยอินทรีย์สารที่สำคัญมาก ราและสปอร์ส่วนใหญ่จะถูกทำลายด้วยความร้อนขึ้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 5-10 นาที แต่มีบางสปีชีส์ทนความร้อนได้ดี สปอร์ของราจะทนความร้อนแห้งได้ดี จากรายงานต่างๆ พบว่าความร้อนแห้ง 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ยังไม่สามารถทำลายสปอร์ของราที่ทนความร้อนได้เลยสปอร์สามารถทนความร้อนได้ดีกว่าไมซีเลียมเล็กน้อย จากการศึกษาเชื้อราแอสเพอจีลัสและ เพนิซิลเลียม บางสปีชีส์จะทนความร้อนได้ดีกว่าชนิดอื่น สเคอร์เทียมสามารถทนความร้อนสูงได้ บางชนิดทนได้ถึง 90-100 °C ซึ่งการทำลายสเคอร์เทียมของเพนิซิลเลียม อาจต้องใช้ความร้อนสูงถึง 82.2 °C นาน 1,000 นาที หรือ 300 นาทีที่อุณหภูมิ 85 °C

ประโยชน์ของราที่มีหลายเซลล์ ได้แก่ เพนิซิลเลียม (*Penicillium*) ใช้ในการผลิตยาปฏิชีวนะเพนิซิลลิน และแอสเพอจีลัส (*Aspergillus*) ได้แก่ รา *Aspergillus wentii* ใช้ในการผลิตเต้าเจี้ยว ส่วน *A. oryzae* ใช้ผลิตเหล้าสาเก (Sake) นอกจากประโยชน์ ราพวกนี้ยังมีโทษ เช่น *Aspergillus flavus* สร้างสารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งในตับและถ้ารับประทานมากอาจถึงตายได้ พบมากในถั่วบดและพวกธัญพืชที่ขึ้น ราแอสเพอจีลัสและ ราเพนิซิลเลียม บางชนิด ทำลายอาหารและผลผลิตทางเกษตรกรรมให้เสียหายและราหลายชนิดในกลุ่มนี้ยังทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ได้

ยีสต์ (yeast) เซลล์เป็นแบบ eukaryotic cell มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส เป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลมหรือรูปไข่ เช่น เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เชื้อ *Candida albicans* เชื้อ *Shizosaccharomyces pombe* ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยวิธีการแตกหน่อ พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน ในน้ำ ในส่วนต่างๆ ของพืช ยีสต์บางชนิดพบอยู่กับแมลง และในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แต่แหล่งที่พบยีสต์อยู่บ่อยๆ คือ แหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ที่มีรสหวาน ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ มักจะปนลงไปในอาหาร เป็นเหตุให้อาหารเน่าเสียได้ ยีสต์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย ได้แก่ นำมาทำอาหารหมักบางชนิด เช่น ข้าวหมาก ปลาเฒ่า เครื่องดองของเมาหลายชนิดเช่น สาโท และ กระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม หลายประเภท เป็นต้นว่าการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ชนิดต่างๆ เช่น เบียร์ไวน์ และ วิสกี้ การผลิตเอธิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมี และเชื้อเพลิง การผลิตเซลล์ยีสต์ เพื่อใช้เป็นยีสต์ขนมปังและเป็นโปรตีนเซลล์เดียว



ภาพ 4 เชื้อราและยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จุดประสงค์การทดลอง

การตรวจนับราและยีสต์

ตัวอย่าง

เมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดข้าวโพด ถั่วลิสง เนื้อแดดเดียว หูฉลาม เส้นก๋วยเตี๋ยว พริก น้ำผลไม้ ชา แอแคลร์ อาหารสัตว์

อุปกรณ์ และสารเคมี

1. สารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water ขำเชื้อ ปริมาตร 90 ml
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar)
3. จานเพาะเชื้อที่ขำเชื้อแล้ว
4. ปิเปตขนาด 10, 1 ml
5. กรดทาร์ทริกขำเชื้อเข้มข้น 10 %

6. ปิเปตขนาด 10 และ 1 ml
7. สารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water ฆ่าเชื้อ ปริมาตร 9 ml

วิธีการทดลอง

1. เจือจางตัวอย่างอาหาร 10 g ในบัฟเฟอร์ 90 ml ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำมา 1 ml ไปเจือจางต่อในสารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water 9 ml ทำต่อไปจนได้ความเข้มข้น 10^{-5}
2. ดูดตัวอย่างอาหารแต่ละความเจือจาง ๆ ละ 1 ml ใส่ในจานเพาะเชื้อทุกความเจือจางทำ 2 ซ้ำ
3. เติมกรดทาร์ทริก 1 ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 100 ml ที่หลอมเหลวและปลอดเชื้อแล้วปล่อยให้มันมีอุณหภูมิลดลงจนถึง 45°C
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในจานเพาะเชื้อทุกจานทันที เติมน้ำไปมาให้อาหารเลี้ยงเชื้อกับตัวอย่างอาหารเข้ากันดีเป็นเนื้อเดียวกัน ปล่อยให้อาหารแข็ง ด้วยเทคนิค Pour plate จำนวน 3 การเจือจาง
5. บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 3-5 วัน ที่ 25 องศาเซลเซียส
6. นับจำนวนโคโลนีของราและยีสต์ที่เกิดขึ้นแล้วคำนวณ พร้อมระบุรูปร่าง ลักษณะ

ตารางบันทึกผลการทดลอง

จานอาหาร เลี้ยงเชื้อ	ความเจือจาง				ปริมาณราและยีสต์ต่อกรัมของ อาหาร (Cfu/g or Cfu/ml)
	1:10	1:100	1:1000	1:10000	
1					
2					

คำถาม

1. กรดทาร์ทริกเข้มข้น 10 % ใส่ที่อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่ออะไร
2. หน่วยการตรวจจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ คืออะไร
3. หลักการพิจารณาหน่วยการตรวจจุลินทรีย์ คืออะไร
4. ราและยีสต์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างไรทางจุลชีววิทยาและเมื่อมองด้วยตาอย่างไร
5. ค่ามาตรฐานราและยีสต์ของอาหาร จากข้อมูลพิจารณาเลือกการทำเจือจางช่วงระดับใด ? กรณี pour plate

ขนมปัง < 1×10^2 cfu/g	ปลาสมร < 5×10^2 cfu/g	หนังไก่ทอดกรอบ < 1×10^2 cfu/g	พริกป่น < 1×10^2 cfu/g
เอแคลร์ < 1×10^2 cfu/g	เมล็ดข้าวโพด < 5×10^5 cfu/g	เนื้อแดดเดียว < 5×10^2 cfu/g	ปลาป่น < 1×10^5 cfu/g
ถั่วลิสง < 1×10^2 cfu/g	แผ่นแป้งห่อหมก < 5×10^2 cfu/g	ผลไม้อบแห้ง < 1×10^2 cfu/g	ชาวม < 5×10^3 cfu/ml

บทปฏิบัติการที่ 5 การนับจำนวนเชื้อโดยใช้ 3M Petrifilm

หลักการ 3M Petrifilm™ Aerobic Count Plates

3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates (U.S. AOAC®) are sample-ready to use and help determine aerobic bacteria populations in testing processes. The indicator dye and built in grid allows for fast accurate identification of colonies, within 48 hours. A survey of 274 plants who converted to 3M™ Petrifilm™ Plates from traditional agar methods found an average labor savings of 45.0% and an average increased technician efficiency of 80.0%. Our full line of easy-to-use 3M Petrifilm Plates can provide you with many benefits over traditional methods.



Figure 5.1 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates (U.S. AOAC®)

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 Serial dilution

1. ปกติในธรรมชาติ อาหารสด หรือวัตถุดิบชนิดต่างๆ หรือแม้แต่ผลิตภัณฑ์อาหาร จะมีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดต่างๆ อยู่แล้ว ดังนั้นก่อนอื่นเมื่อจะนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนมาในตัวอย่างอาหาร จะต้องทำการเจือจางเชื้อก่อนเพื่อให้สามารถตรวจนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารได้ ซึ่งการเจือจางนี้เรียกว่าการทำ serial dilution ของตัวอย่างที่นำมาตรวจ โดยใช้ 10-fold serial dilution เป็นการเจือจางอย่างมีระบบซึ่งทำได้โดยนำตัวอย่างน้ำ หรือตัดชิ้นส่วนของอาหารให้มีขนาดเล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้ จากนั้นชั่งอาหารหรือตัวอย่างน้ำมา จำนวน 10 หรือ 25 g ใส่ลงในถุง sterile stomacher bag หรือขวดแก้วซึ่งบรรจุสารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water (PW) ปริมาตร 90 หรือ 225 ml เขย่าผสมให้เข้ากันดีโดยใช้เครื่อง stomacher เขย่าผสมเป็นเวลา 2 นาที กรณีใช้มือเขย่าต้องใช้เวลา 3 นาที สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-1} ของตัวอย่างตั้งต้น

2. เมื่อผสมกันดีแล้วดูดสารผสมในข้อที่ 1 มา จำนวน 1 ml ใส่ลงใน 0.1% PW ในขวด หรือหลอดทดลองที่มีสารละลายจำนวน 9 ml สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-2} ของตัวอย่างตั้งต้น

3. ทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายสุดท้ายที่มีความเจือจางเป็น 10^{-6} หรือมากกว่านี้ ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาตรวจ

ขั้นตอนที่ 2 การนับจำนวนเชื้อ โดยมีเพียง 3 ขั้นตอน

1) การหยดตัวอย่าง (Inoculation) เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนขึ้นเพื่อหยดตัวอย่างจำนวน 1 ml ปิดทับด้วยแผ่นฟิล์มด้านบนและ spreader ตามลำดับ (ระมัดระวังค่อยๆ ปลอยแผ่นฟิล์มเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศ)

2) การบ่มตัวอย่าง (Incubation) เนื่องจากมีขนาดเล็ก ทำให้ประหยัดพื้นที่ในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) สามารถใช้ตู้บ่มขนาดเล็กได้ บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) การนับจำนวน (Enumeration) โดยนับโคโลนีทั้งหมด ภายใน 24 ชั่วโมง มีเส้นตารางสำหรับใช้นับโคโลนีบนแผ่นด้านล่าง เพื่อให้จำนวนโคโลนีได้ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว จากนั้นรายงานผลการตรวจนับจำนวนเชื้อเช่นเดียวกับที่กล่าวในบทปฏิบัติการก่อนหน้านี้

การทดลองที่ 5.2 3M Petrifilm™ Staph Express Count Plates

หลักการ

3M Petrifilm™ Staph Express Count Plates สามารถตรวจยืนยันเชื้อได้อย่างรวดเร็วเพียงโคโลนีมีสีแดงม่วงสามารถอ่านผลได้ชัดเจน ให้ผลรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ ภายใน 22 ชั่วโมง



Figure 5.2 3M Staph express disk

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 Serial dilution

1. ปกติในธรรมชาติ อาหารสด หรือวัตถุดิบชนิดต่างๆ หรือแม้แต่ผลิตภัณฑ์อาหาร จะมีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดต่างๆ อยู่แล้ว ดังนั้นก่อนอื่นเมื่อจะนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนมาในตัวอย่างอาหาร จะต้องทำการเจือจางเชื้อก่อนเพื่อให้สามารถตรวจนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารได้ ซึ่งการเจือจางนี้เรียกว่าการทำ serial dilution ของตัวอย่างที่นำมาตรวจ โดยใช้ 10-fold serial dilution เป็นการเจือจางอย่างมีระบบซึ่งทำได้โดยนำตัวอย่างน้ำ หรือตัดชิ้นส่วนของอาหารให้มีขนาดเล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้ จากนั้นชั่งอาหารหรือตัวอย่างน้ำมา จำนวน 10 หรือ 25 g ใส่ลงในถุง sterile stomacher bag หรือขวดแก้วซึ่งบรรจุสารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water (PW) ปริมาตร 90 หรือ 225 ml เขย่าผสมให้เข้ากันดีโดยใช้ **เครื่อง stomacher** เขย่าผสมเป็นเวลา 2 นาที **กรณีใช้มือเขย่าต้องใช้เวลา 3 นาที** สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-1} ของตัวอย่างตั้งต้น

2. เมื่อผสมกันดีแล้วดูดสารผสมในข้อที่ 1 มา จำนวน 1 ml ใส่ลงใน 0.1% PW ในขวด หรือหลอดทดลองที่มีสารละลายจำนวน 9 ml สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-2} ของตัวอย่างตั้งต้น

3. ทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายสุดท้ายที่มีความเจือจางเป็น 10^{-6} หรือมากกว่านี้ ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาตรวจ

ขั้นตอนที่ 2 การนับจำนวนเชื้อ โดยมีเพียง 3 ขั้นตอน

1. การหยดตัวอย่าง (Inoculation) เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนขึ้นเพื่อหยดตัวอย่างจำนวน 1 มล ปิดทับด้วยแผ่นฟิล์มด้านบนและ spreader ตามลำดับ

2. การบ่มตัวอย่าง (Incubation) เนื่องจากมีขนาดเล็ก ทำให้ประหยัดพื้นที่ในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) สามารถใช้ตู้บ่มขนาดเล็กได้ บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 22 ชั่วโมง

3. การนับจำนวน (Enumeration) โดยนับโคโลนีสีแดงม่วง ภายใน 22 ชั่วโมง มีเส้นตารางสำหรับใช้นับโคโลนีบนแผ่นด้านล่าง เพื่อให้จำนวนโคโลนีได้ถูกต้องแม่นยำ และเร็วขึ้น กรณีที่มีเชื้ออื่นๆ ปนเปื้อนอยู่ในจำนวนมาก สามารถใช้ 3M Petrifilm™ Staph Express Disk เพื่อตรวจยืนยันแยกเชื้อ *S. aureus* ออกจากเชื้ออื่นๆ ได้ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน และลดต้นทุน 3M Petrifilm™ Staph Express Count Plate เพียง 1 แผ่น ให้ผลเทียบเท่าวิธีของ the U.S. F.D.A. Bacteriological Analytical Manual (BAM) ที่ใช้เพลท Baird-Parker agar 3 เพลท บวกกับการตรวจยืนยันผลด้วยวิธี coagulase ดังนั้นจึงเป็นการช่วยให้สามารถปฏิบัติการได้สะดวกรวดเร็วและตรวจตัวอย่างได้จำนวนมากขึ้น ในระยะเวลาที่เท่าเดิมหรือน้อยลงเมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิม จากนั้นรายงานผลการตรวจนับจำนวนเชื้อ

การทดลองที่ 5.3 การนับจำนวน เชื้อโดยใช้ 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates

หลักการ

3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate สำหรับตรวจหาเชื้อ *E. coli* และ coliform อื่นๆ โดยให้ผลยืนยันภายในเพียง 24-48 ชั่วโมง ทั้งยังสามารถตรวจหา fecal coliform ได้ด้วย 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate ให้ผลยืนยันได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง ลดขั้นตอนการตรวจยืนยันผล (confirmation) เพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานและลดค่าใช้จ่ายโดยรวม ใช้งานง่าย ให้ผลรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ



รูปที่ 5.3 3M *E. coli*/fecal coliform count
วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 Serial dilution

1. ปกติในธรรมชาติ อาหารสด หรือวัตถุดิบชนิดต่างๆ หรือแม้แต่ผลิตภัณฑ์อาหาร จะมีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดต่างๆ อยู่แล้ว ดังนั้นก่อนอื่นเมื่อจะนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนมาในตัวอย่างอาหาร จะต้องทำการเจือจางเชื้อก่อนเพื่อให้สามารถตรวจนับจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารได้ ซึ่งการเจือจางนี้เรียกว่าการทำ serial dilution ของตัวอย่างที่นำมาตรวจ โดยใช้ 10-fold serial dilution เป็นการเจือจางอย่างมีระบบซึ่งทำได้โดยนำตัวอย่างน้ำ หรือตัดชิ้นส่วนของอาหารให้มีขนาดเล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้ จากนั้นชั่งอาหารหรือตัวอย่างน้ำมา จำนวน 10 หรือ 25 g ใส่ลงในถุง sterile stomacher bag หรือขวดแก้วซึ่งบรรจุสารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water (PW) ปริมาตร 90 หรือ 225 ml เขย่าผสมให้เข้ากันดีโดยใช้เครื่อง stomacher เขย่าผสมเป็นเวลา 2 นาที กรณีใช้มือเขย่าต้องใช้เวลา 3 นาที สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-1} ของตัวอย่างตั้งต้น

2. เมื่อผสมกันดีแล้วดูดสารผสมในข้อที่ 1 มา จำนวน 1 ml ใส่ลงใน 0.1% PW ในขวด หรือหลอดทดลองที่มีสารละลายจำนวน 9 ml สารละลายที่ได้จะมีความเจือจางเป็น 10^{-2} ของตัวอย่างตั้งต้น

3. ทำเช่นนี้ต่อไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายสุดท้ายที่มีความเจือจางเป็น 10^{-6} หรือมากกว่านี้ ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาตรวจ

ขั้นตอนที่ 2 การนับจำนวนเชื้อ โดยมีเพียง 3 ขั้นตอน

1) การหยดตัวอย่าง (Inoculation) – เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนขึ้นเพื่อหยดตัวอย่างสารละลายอาหารที่นำมาตรวจจำนวน 1 ml หยดลงตรงกลางของแผ่นฟิล์ม ปิดฟิล์มด้านบนลงมาและใช้ spreader กดทับเป็นเวลา 10 วินาที จึงนำ spreader ออก

2) การบ่มตัวอย่าง (Incubation) – จากนั้นนำแผ่นฟิล์มไปบ่มที่ 44°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากแผ่นมีขนาดเล็ก ทำให้ประหยัดพื้นที่ในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) สามารถใช้ตู้บ่มขนาดเล็กได้ และสามารถวางทับกันได้จำนวนไม่เกิน 20 แผ่น

3) การนับจำนวน (Enumeration) – นับโคโลนีสีแดง และน้ำเงินที่มีฟองแก๊สเป็น coliform และนับโคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊สเป็น *E. coli* ซึ่งในขณะเดียวกันก็สามารถนำไปอ่านได้ด้วยเครื่องอ่าน 3M Petrifilm™ Plate Reader ซึ่งสามารถอ่านได้ภายใน 4 วินาทีต่อแผ่น และรายงานผลการตรวจนับ โดยคูณกับส่วนกลับของ dilution factor ที่อ่านค่าได้

การทดลองที่ 5.4 การนับจำนวนเชื้อราและยีส ในอาหาร (Enumeration of yeast and mold in food and water by 3M Petri film)

หลักการ (Principle)

The large and diverse group of microscopic foodborne yeasts and molds (fungi) includes several hundred species. The ability of these organisms to attack many foods is due in large part to their relatively versatile environmental requirements. Although the majority of yeasts and molds are obligate aerobes (require free oxygen for growth), their acid/alkaline requirement for growth is quite broad, ranging from pH 2 to above pH 9. Their temperature range ($10-35^{\circ}\text{C}$) is also broad, with a few species capable of growth below or above this range. Moisture requirements of foodborne molds are relatively low; most species can grow at a water activity (a_w) of 0.85 or less, although yeasts generally require a higher water activity. Both yeasts and molds cause various degrees of deterioration and decomposition of foods. They can invade and grow on virtually any type of food at any time; they invade crops such as grains, nuts, beans, and fruits in fields before harvesting and during storage. They also grow on processed foods and food mixtures. Their detectability in or on foods depends on food

type, organisms involved, and degree of invasion; the contaminated food may be slightly blemished, severely blemished, or completely decomposed, with the actual growth manifested by rot spots of various sizes and colors, unsightly scabs, slime, white cottony mycelium, or highly colored sporulating mold. Abnormal flavors and odors may also be produced. Occasionally, a food appears mold-free but is found upon mycological examination to be contaminated. Contamination of foods by yeasts and molds can result in substantial economic losses to producer, processor, and consumer. Several foodborne molds, and possibly yeasts, may also be hazardous to human or animal health because of their ability to produce toxic metabolites known as mycotoxins. Most mycotoxins are stable compounds that are not destroyed during food processing or home cooking. Even though the generating organisms may not survive food preparation, the preformed toxin may still be present. Certain foodborne molds and yeasts may also elicit allergic reactions or may cause infections. Although most foodborne fungi are not infectious, some species can cause infection, especially in immuno-compromised populations, such as the aged and debilitated, HIV-infected individuals, and persons receiving chemotherapy or antibiotic treatment.

The dilution plating and the direct plating methods may be used to detect fungi in foods. The direct plating method is more efficient than the dilution plating method for detecting individual mold species, including most of the toxin producers, but it is less effective in detecting yeasts. It is also used to determine whether the presence of mold is due to external contamination or internal invasion.

Fungal counts (yeast and mold counts) in fresh meats must not be $> 10^2$ per cm^2 (Lowry and Gill, 1985) and also in meat products. However, deterioration caused by yeast and mold are possible in fresh meats for example, from the temperature abuse during the frozen storage and step in processing such as drying or curing of meats may cause optimum condition for yeast and mold growth. Food storages at $< -5^\circ\text{C}$ i.e. -18°C can inhibit yeast and mold growth, therefore the food are not deteriorated.

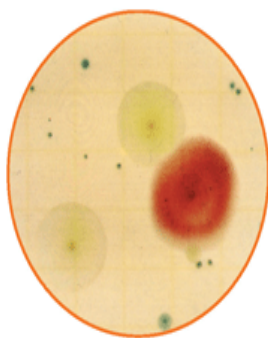
Yeast and mold determination must be conducted to evaluate the cleanliness of new products for consumption and to determine the shelf-life of the product. Processed foods, such as marinated dry squids, shredded pork, biscuit, soy sauces, powdered broths, dry shrimp, fruit drinks, chilli sauces, and yam.

Petrifilm™ aerobic yeast and mold count plates (3M)

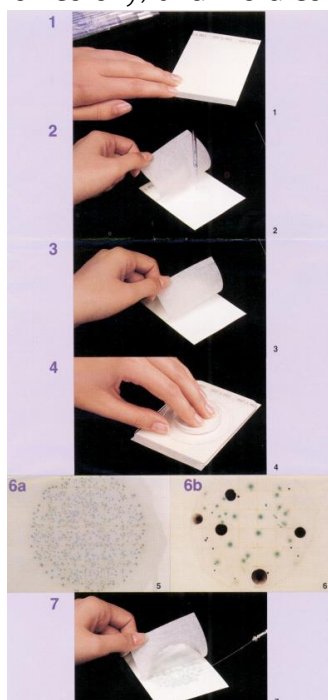
Step	Activities
1	Pipette 1 ml of appropriate food mixture i.e. 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , and put onto the Petri plates designed for yeast and mold count align the pipette erected from the film sheet
2	Let the top film cover the sheet
3	Place a spreader of which was plastic on the petrifilm by Letting the side with circle downward and food sample was in the middle
4	Press slightly at the center by a spreader to disperse the sample, Then remove the spreader (do not turn or move spreader because it will cause media film on the sheet to crack) leave at room temperature for 1 min to let the agar set
5	Take the petrifilm plates with food mixture into a plastic bag (to prevent the dispersion of mold spores)
6	Incubate at room temperature (20-25°C) for 3-5 days
7	Count all colonies (colony forming unit, CFU) by selecting the sheet with accommodate 25-250 colonies (yeast colonies are greenish blue and mold are blue or color of their spores such as black, yellow, green etc.; if the colonies are too many, count in the 1 small square then times by 30)
8	Calculate the average then report the total numbers of yeasts and molds (CFU) in 1 g food (CFU/g)



ภาพ 5.4 3M Petri film for yeasts and mold count



ภาพ 5.5 Yeast (greenish colony) and mold colonies (pink or yellow)



ภาพ 5.6 Procedure for determining the yeast and mold count by 3M Petrifilm

3M petrifilm

20pk/ctn. Aerobic Count
40pk/ctn. Coliform Count
20pk/ctn. E.coli / Coliform
20pk/ctn. Staph. Aureus
20pk/ctn. Yeast and Mold

ภาพ 5.7 Examination of sample on the 3M Petri film

บทปฏิบัติการที่ 6 การตรวจหา Histamine

หลักการและเหตุผล

โรคอาหารเป็นพิษจากสาร Scombrototoxin (Scombroid) เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีสารฮิสตามีนปริมาณมาก สารพิษดังกล่าวเป็นสาเหตุอันดับสองของอาหารทะเลเป็นพิษที่เกิดขึ้นได้ทั่วไป และพบมากในบริเวณอากาศร้อน โรคอาหารเป็นพิษจากสาร Scombrototoxin ปกติเกิดหลังจากรับประทานปลาที่ไม่ได้แช่เย็น โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาประเภทปลาหูฉลาม ปลาแมคคอเรล ปลาในตระกูล Scombridae และ Scomberosocidae เนื้อปลาในกลุ่มนี้มีปริมาณฮิสติดีน (histidine) สูง ซึ่งเมื่อไม่ได้เก็บในตู้เย็น รวมทั้งพบที่หอยเปาอีกด้วย โดยเฉพาะ

แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ histidine decarboxylase จะทำหน้าที่เปลี่ยนกรดแอมิโน ฮิสติดีนในเนื้อปลาให้กลายเป็นฮิสตามีน แม้ว่าแบคทีเรียทั่วไปจะถูกทำลายได้ด้วยความร้อนจากการประกอบอาหาร แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) คืออุณหภูมิระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส Scombrototoxin จึงพบเมื่อปลาถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง ปลาที่มีคุณภาพดีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (cold storage) 0-5 องศาเซลเซียส จะพบฮิสตามีนใน ปริมาณน้อยกว่า 10 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ในขณะที่ปลาที่เริ่มเสียจะมีปริมาณฮิสตามีน 30 ส่วนในล้านส่วน และปลาที่เริ่มเน่าจะมีปริมาณฮิสตามีน 50 ส่วนในล้านส่วน แต่ฮิสตามีนสามารถทนความร้อนได้ แต่ในเนื้อปลาและอาหารอื่นๆที่มีสารฮิสตามีนในปริมาณสูง โดยทั่วไปจะไม่มีการปนหรือรสที่ผิดแปลกไปจากปกติ ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดสารฮิสตามีนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส (decarboxylase) และอุณหภูมิหรือสภาพการเก็บรักษาเนื้อปลา การรับประทานเนื้อปลา ที่มีปริมาณฮิสตามีนในระดับที่สูงกว่า 200 ppm (20 mg/100g) อาจมีผลให้เกิดอาการป่วยได้ ประเทศในเครือสหภาพยุโรปมีมาตรฐานซึ่งกำหนดระดับของสารฮิสตามีนในปลาทะเลแช่แข็งได้ไม่เกิน 100 ppm

อาการแพ้

ฮิสตามีนเป็นสารก่อภูมิแพ้ (food allergen) ก่อให้เกิดอาการแพ้ในลักษณะต่างๆ ผู้ป่วยที่รับสารพิษ Scombrototoxin จะมีอาการผื่นคัน คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย หรือ อาการอื่นๆ ปกติแล้วอาการป่วยจะมีตั้งแต่ไม่รุนแรงและสามารถหายได้เอง โดยมีลักษณะเดียวกับปฏิกิริยาต่อสารก่อภูมิแพ้ในอาหาร ส่วนในกรณีที่อาการรุนแรง ผู้ป่วยอาจมีอาการความดันเลือดต่ำ เห็นภาพซ้อน แสบร้อนบริเวณลิ้น มีเอกสารกล่าวถึงเกี่ยวกับผู้ป่วยได้รับพิษ Scombrototoxin แต่ไม่มีเอกสารใดกล่าวถึงการได้รับพิษดังกล่าวจนถึงขั้นเสียชีวิต

ปริมาณสูงสุดที่กำหนดในมาตรฐาน

การรับประทานเนื้อปลาที่มีปริมาณฮิสตามีนในระดับที่สูงกว่า 200 ppm (20 mg/100g) อาจมีผลให้เกิดอาการป่วยได้

ปัจจุบันหลายประเทศให้ความสำคัญกับปริมาณฮิสตามีนโดยใช้เป็นข้อกำหนดบังคับี้ คุณภาพอาหารทะเลและผลิตภัณฑ์ทางทะเลแต่ละชนิด ดังนี้

1. ปลาทูน่า (tuna) ปลากลุ่ม scombridae ปลาทู ปลาหลังเขียว และปลาซาบะ (saba) ประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ และอิสราเอล กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ ไม่เกิน 200 ppm ประเทศแคนาดา ประเทศในเครือสหภาพยุโรป หรือ EU และประเทศอื่นๆ กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 100 ppm ประเทศสหรัฐอเมริกา กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 50 ppm

2. ปลาทูน่า ปลาแซลมอน (salmon) ปลาทู และปลาเฮริง (herring) ประเทศญี่ปุ่น กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 100 ppm

3. ปลากระดักตากแห้ง (dried anchovy) และปลาทูน่าตากแห้ง (dried tuna, Katsuobushi) ทุกประเทศ กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm

4. น้ำปลา ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 500 ppm ยกเว้นประเทศ แคนาดา ที่กำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm

5. ปลาทูเค็ม (salted mackerel) ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 200 ppm

6. ปลานึ่ง (steamed scombridae) ทุกประเทศกำหนดให้สามารถตรวจพบได้ไม่เกิน 100 ppm

การควบคุมการเกิด scombrototoxin

การลดอุณหภูมิปลาทันทีหลังจากการจับหรือหลังจากที่ปลาตายเป็นการป้องกันการเกิด scrombrototoxin ที่ดีที่สุด การลดอุณหภูมิอาจใช้น้ำแข็ง น้ำเกลือ หรือน้ำทะเลแช่เย็น ที่มีอุณหภูมิ 4.4 °C หลังจากปลาตายภายในเวลาไม่เกิน 12 ชั่วโมง

สำหรับปลาตัวใหญ่ เช่น ปลาทูน่าที่มีน้ำหนักมากกว่า 20 ปอนด์ ซึ่งถูกควักไส้ (eviscerating) ในเรือ ควรรีบใส่น้ำแข็ง โดยใส่น้ำแข็งให้แน่นในช่องท้อง หรือแช่ในน้ำทะเล หรือน้ำเกลือที่เย็นจัด ที่มีอุณหภูมิ 4.4 °C หลังจากปลาตายภายในเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง

ปลาทูน่าที่มีน้ำหนักมากกว่า 20 ปอนด์ ซึ่งไม่ได้ถูกควักไส้ในเรือ ควรลดอุณหภูมิให้อุณหภูมิภายในตัวปลาต่ำกว่า 10 °C หลังจากปลาตายภายในเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง

หลักการ

ชุดตรวจฮีสตามีน Reveal® เป็นชุดตรวจอย่างง่าย single-step lateral flow ชนิด Competitive immunoassay สามารถสังเกตผลการทดสอบด้วยตาเปล่า ตรวจหาฮีสตามีนในปลาตระกูล scombridae เช่น ปลาทูน่า (tuna) มีค่าความไว (sensitivity) 50 ppm ใช้เวลาเพียง 5 นาที ในการอ่านผล ไม่รวมขั้นตอนเตรียมตัวอย่าง เก็บรักษาชุดตรวจได้ที่อุณหภูมิห้อง

วัตถุประสงค์

เพื่อเรียนรู้วิธีการการตรวจวิเคราะห์การตรวจวิเคราะห์ฮีสตามีนในอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่นำมาวิเคราะห์

ปลา น้ำปลา แมลงทอด

วัสดุ อุปกรณ์

ชุดตรวจฮีสตามีน Reveal® ที่ประกอบด้วย ขวดเจือจางตัวอย่าง ถ้วยใส่ตัวอย่าง และชุดทดสอบฮีสตามีน อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างที่ทำจากพลาสติก หรือโลหะเท่านั้นเนื่องจากฮีสตามีนสามารถเกาะติดภาชนะแก้ว อุปกรณ์ชุดสกัดสาร ประกอบด้วย ขวดพลาสติกมีฝาปิด กระบอกฉีดยาพร้อมสำลีที่ใส่ในกระบอกฉีดยา (ใช้สำหรับกรอง) และหลอดพลาสติก (เก็บสารสกัด)
ไมโครปิเปต 100-1000 μl

วิธีการ

การสกัดตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 g ใส่ขวดหรือภาชนะที่มีฝาปิด
2. เติมน้ำกลั่น 190 ml ในขวด
3. ปิดฝาเขย่า นาน 15-20 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
4. ปิดฝาเขย่า นาน 15-20 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที (ครั้งที่สอง)
5. ปิดฝาเขย่า นาน 15-20 วินาที (ครั้งที่สาม) ตั้งทิ้งให้ตะกอนนอนก้น ประมาณ 30 วินาที
6. เปิดกระบอกฉีดยา แล้วนำหลอดพลาสติก มารองด้านล่าง แล้วเทน้ำส่วนใสด้านบนจากขวดพลาสติก ให้ผ่านกระบอกฉีดยา ซึ่งจะผ่านสำลีที่ไว้สำหรับกรอง
7. เก็บส่วนใสในหลอดพลาสติก ใช้เจือจางตัวอย่างต่อไป โดยใช้ 100 ไมโครลิตร ใส่ในขวดเจือจางตัวอย่างที่มีให้ผสมให้เข้ากัน (ตัวอย่างสกัด)

การทดสอบ

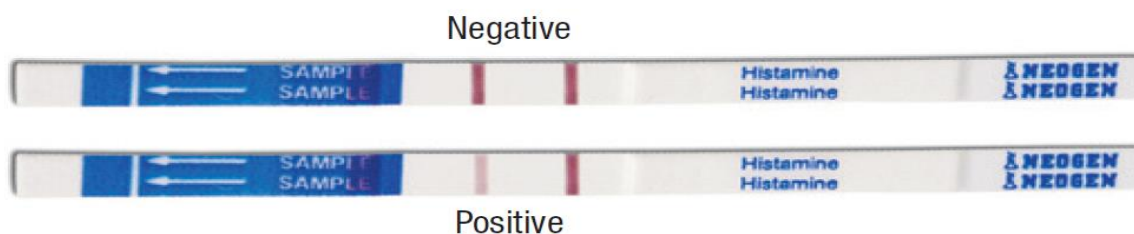
1. นำถ้วยใส่ตัวอย่างที่มีในชุดทดสอบใส่ตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร (ตัวอย่างสกัด)
2. นำแผ่นกระดาษทดสอบใส่ลงในถ้วยใส่ตัวอย่าง (ลูกศรชี้ลง)
3. ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วอ่านผล

ถ้าเส้น Control line ไม่ปรากฏ ไม่ควรใช้ชุดทดสอบ

ผลเป็นลบ เส้น Test line สีเข้มกว่าหรือเข้มเท่ากับเส้น Control line แสดงว่าตัวอย่างมีค่าน้อยกว่า 50 ppm

ผลเป็นบวก เส้น Test line สีอ่อนกว่าเส้น Control line หรือมีเส้น Control line เส้นเดียว แสดงว่าตัวอย่างมีค่าตั้งแต่กว่า 50 ppm

หมายเหตุ ห้ามอ่านผลที่ทดสอบเกิน 4 นาที



ภาพ 6 ผลการปรากฏแถบในชุดตรวจฮีสตามีน

บทปฏิบัติการที่ 7 การตรวจหาเชื้อ *Streptococcus* spp. จากอาหาร

เรียบเรียงโดย ผศ.ดร.สรพรเพญ อังกิตติตระกูล

หลักการ

Streptococcus spp. เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวก มีรูปร่างกลม ลักษณะการเรียงตัวของเซลล์เป็นแบบสายโซ่ จะสั้นหรือยาวขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ และชนิดของอาหารที่เลี้ยงโดยเฉพาะเมื่อเพาะในอาหารเหลว สายโซ่จะติดต่อกันยาว ในบางครั้งอาจพบว่ามีมากกว่า 20 เซลล์เรียงต่อกัน พวกที่มีความต้องการออกซิเจนน้อย (Microaerophilic) ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างน้ำย่อยจากการที่แบคทีเรียในตระกูลนี้มีมากมายหลายสายพันธุ์ พบได้ทั่วไปทั้งในสภาวะแวดล้อม และในตัวของคนและสัตว์

การจำแนกเชื้อ *Streptococcus* spp.

การจำแนกกลุ่มของเชื้อ *Streptococcus* spp. ตามคุณสมบัติและแหล่งอาศัยของมัน ซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มพัยโอเจนิค (Pyogenic group) พวกนี้ได้แก่ พวกสเตรปโตคอคคัสที่เป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนองหรือพวกที่เป็นตัวก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ ในบางครั้งเราอาจจำแนกย่อยออกไปอีกเป็นพวกที่ก่อโรคในคน (human pathogen) และพวกที่ก่อโรคได้ในสัตว์ (animal pathogen)
2. กลุ่มแลคติก (Lactic group) พวกนี้ได้แก่ สเตรปโตคอคคัสที่มีวงจรชีวิตอิสระ ไม่สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ หลายสายพันธุ์ที่มนุษย์สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ได้ ในอุตสาหกรรมอาหาร จากคุณสมบัติที่มันสามารถสร้างกรดแลคติกได้โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว
3. กลุ่มเอนเทอโรคอคคัส (Enterococci group) พวกนี้เป็นพวกที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ พวกนี้เช่นเดียวกันที่มันมีความสามารถในการสร้างกรดแลคติกได้ บางสายพันธุ์จะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อร่างกายของคนและสัตว์โดยที่มันทำหน้าที่ในการป้องกันการเกาะติดของตัวก่อโรค บางชนิดในระบบทางเดินอาหาร และเป็นตัวสร้างสมดุลทางสรีรวิทยาของระบบทางเดินอาหารในคนและสัตว์
4. กลุ่มวิริดันส์ (Viridans group) ส่วนใหญ่ *Streptococcus* spp. ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้เป็นพวกที่มีวงจรชีวิตอิสระ พบตามซากพืชที่เน่าเปื่อย ไม่สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ ยกเว้น *S. uberis* ที่เป็นตัวก่อโรคเต้านมอักเสบในโค

การจำแนกกลุ่มของ *Streptococcus* spp. ตามคุณสมบัติของมันที่สามารถสร้างสารพิษฮีโมไลซิน (haemolysin) โดยตรวจได้จากการเพาะเชื้อ *Streptococcus* spp. บน Blood Agar ตามวิธีนี้สามารถจำแนกกลุ่มของสเตรปโตคอคคัสได้ 4 กลุ่มดังนี้คือ

1. Alpha Hemolysis หมายถึงพวกที่สร้าง Alpha hemolysis ซึ่งสารพิษชนิดนี้จะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้เป็นบางส่วน (partial hemolysis) จึงตรวจพบว่าจะมีรอยจางๆรอบโคโลนี บางสายพันธุ์ของ

Streptococcus spp. ในกลุ่มนี้จะเกิดการตกตะกอนของฮีม (heme) หรือฮีโมโกลบิน (hemoglobin) รอบๆ โคลนจึงก่อให้เกิดลักษณะสีเขียว (greenish discoloration) รอบๆ โคลน

2. Beta hemolysis เป็นพวกที่สร้าง beta hemolysin สารพิษชนิดนี้จะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้โดยสมบูรณ์ (complete hemolysis) ดังนั้นจึงตรวจพบว่ามีรอยใสรอบๆ โคลน บางสายพันธุ์อาจพบลักษณะสีเขียวรอบๆ โคลน

3. Alfa-prime hemolysis พวกที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้อาจกล่าวได้ว่ามันมีความสามารถในการสร้างสารพิษ ฮีโมลิซินไดโนย จึงไม่สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงรอบๆ โคลนนี้จะตรวจพบได้เพียงลักษณะจางๆ บางสายพันธุ์อาจตรวจพบลักษณะสีเขียวจางๆ รอบๆ โคลน

4. Gamma hemolysis หมายถึงพวก *Streptococcus* spp. ที่ไม่สามารถสร้างสารพิษฮีโมลิซินได้ ดังนั้นโคโลนีของมันเมื่อเพาะบน Blood agar จึงตรวจไม่พบส่วนใสที่อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคลนได้

การจำแนกกลุ่มของ *Streptococcus* spp. วิธีนี้อาศัยผลจากการทดสอบปฏิกิริยาการตกตะกอน (precipitation test) ซึ่งเป็นการทดสอบทางซีรั่มวิทยา (serology)

1. Group A เป็น *Streptococcus* spp. สายพันธุ์ที่ส่วนใหญ่จะเป็นตัวก่อโรคในคนสายพันธุ์ที่สำคัญคือ *S. pyogenes*

2. Group B พวกนี้ส่วนใหญ่เป็นตัวที่ก่อโรคในสัตว์อย่างไรก็ตามพบว่ามันอาจเป็นตัวก่อโรคในคนได้สายพันธุ์ที่สำคัญคือ *S. agalactiae*

3. Group C เชื้อ *Streptococcus* spp. ในกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่เป็นตัวก่อโรคในสัตว์ส่วนใหญ่จะเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อฟหนอง สายพันธุ์ที่สำคัญคือ *S. equi*

4. Group D เป็นพวกที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์หรือพวก Enterococci สายพันธุ์ที่สำคัญคือ *S. faecium*

5. กลุ่มอื่นๆ (Viridans group) หมายถึง พวกที่มีแหล่งอาศัยอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติหรือพวกที่มีวงจรชีวิตอิสระ ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์พวกนี้ถูกจัดเรียงลำดับจาก Group E ไปจนถึง Group K ส่วนพวกสุดท้ายจัดอยู่ในกลุ่มวิรีแดนส (Viridans group) สายพันธุ์ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *S. uberis*

ในทางสัตวแพทย์อาจแบ่งกลุ่มของพวกสเตรปโตคอคคัสออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามลักษณะของโรคที่ตรวจพบได้บ่อยว่ามันเป็นสาเหตุใดแก่ พวกที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ (mastitis Streptococci) และพวกที่ก่อให้เกิดฟหนอง (pyogenic Streptococci)

ตัวอย่างอาหารที่นำมาวิเคราะห์

น้ำนมดิบ แหนม เนื้อสัตว์

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

Blood Agar

Loop

สารละลาย 0.1% (w/v) Peptone Water ฆ่าเชื้อ ปริมาตร 90 ml

วิธีแยกเชื้อ *Streptococcus* spp.

1. นำตัวอย่างที่จะตรวจหาเชื้อ *Streptococcus* spp. มาลงใน Blood Agar บ่มเชื้อที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. ลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น จะมีสีขาวขุ่นขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร เมื่อนำมาย้อมสีแกรมจะติดสีแกรมบวกรูปร่างกลม มักอยู่เป็นคู่หรือสายโซ่ มีขนาดเซลล์ 0.7x1.4 ไมโครเมตร ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างแคปซูลและสปอร์

3. ทำการแยกโคโลนีมา 1 โคโลนี ทำการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อยืนยันผล

คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Streptococcus* Group B (*S. agalactiae*)

การทดสอบคุณสมบัติ	เชื้อ <i>Streptococcus</i> Group B (<i>S. agalactiae</i>)
Gram stain	+
Catalase	-
Oxidase	-
CHAMP test	+
6.5%NaCl	-
Bile esculin	-
Inuline	-
Mannitol	-
D-Raffinose	-
Sorbitol	-
Pyruvate	+
Hippurate	-
Ribose	+
L-Arabinose	-
Lactose	-
Trehalose	-
Starch	-
Glycogene	-



บทปฏิบัติการที่ 8 การตรวจหา formaline/ Sodium hydrosulfite/ กรดเบนโซอิก

การตรวจหา formaline

หลักการ

ฟอร์มาลีนและฟอร์มาลดีไฮด์ สูตรทางเคมีคือสารตัวเดียวกัน เพียงแต่ว่าเมื่ออยู่ในรูปของสารละลายจะเรียกว่า “ฟอร์มาลีน” ส่วน “ฟอร์มาลดีไฮด์” มีสถานะเป็นก๊าซที่อุณหภูมิปกติ ฟอร์มาลีนเป็นสารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมหลากหลายเช่น อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ และการผลิตสี และทางการแพทย์เป็นสารเคมีที่ใช้มากในส่วนผสมของน้ำฆ่าเชื้อ และทำความสะอาด รวมถึงการใช้สำหรับรักษาสภาพร่างกายของสัตว์หรือศพ ฟอร์มาลีนเข้าสู่ร่างกายได้ทางการหายใจ ทางผิวหนัง และการรับประทาน องค์การอนามัยโลก กำหนดระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลีนที่ร่างกายสามารถรับได้ คือ ไม่เกิน 0.05 mg/L การได้รับฟอร์มาลีนในปริมาณ 0.5-5.25 g ทำให้เสียชีวิตได้ ฟอร์มาลีนมีคุณสมบัติในการทำให้อาหารสด คงทน จึงทำให้ผู้จำหน่ายอาหารสด ผักสดเนื้อสัตว์สด นำเอาสารนี้มาใช้ในการทำให้อาหารดูสดอยู่เสมอ แต่ฟอร์มาลีนเป็นสารที่มีอันตรายต่อสุขภาพ ไม่ควรใช้บริโภค พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 กำหนดให้ฟอร์มาลีน เป็นวัตถุห้ามใช้ในอาหาร ผู้ฝ่าฝืนต้องโทษฐานผลิตหรือจำหน่ายอาหารไม่บริสุทธิ์ อาหารปนเปื้อนฟอร์มาลีนถือว่าเป็นอาหารที่มีสิ่งที่ไม่จะเป็นอันตรายต่อสุขภาพเจือปนอยู่ ตามมาตรา 25(1) และ มาตรา 26(1) ผู้ผลิต ผู้นำเข้าเพื่อ จำหน่าย หรือผู้จำหน่ายอาหารไม่บริสุทธิ์ต้องระวางโทษ จำคุกไม่เกิน 2 ปี หรือปรับไม่เกิน 20,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

การทดสอบฟอร์มาลีน ทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธี Fluorometric method วิธี Colorimetric method วิธี Enzymatic method วิธี Spectrophotometric method วิธี chromotropic acid method วิธี High performance liquid chromatography (HPLC) แต่ละวิธีจะมีความไว ความจำเพาะ การกำจัดสารที่สามารถรบกวนการเกิดปฏิกิริยาให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) ได้แตกต่างกัน การเลือกวิธีการทดสอบขึ้นอยู่กับความเหมาะสม และความพร้อมของห้องปฏิบัติการ

การศึกษาการปนเปื้อนฟอร์มาลีนในอาหารสด จำนวน 1,436 ตัวอย่างในบางจังหวัด ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปีงบประมาณ 2557 มีการปนเปื้อนฟอร์มาลีนร้อยละ 6.1 โดยพบความชุกมากที่สุดที่ สบไธสง (ร้อยละ 24.2) ปลาหมึกกรอบ (ร้อยละ 22.7) ปลาหมึกสด (ร้อยละ 4.4) เห็ดฟาง (ร้อยละ 3.0) และ เล็บมือนาง (ร้อยละ 2.7) สถานที่จำหน่ายอาหารสดที่พบฟอร์มาลีนปนเปื้อน ได้แก่ ตลาดสดและร้านค้าแผงลอยโดยมีแหล่งที่มาของอาหาร คือ ห้องเย็น (ร้อยละ 13.8) จังหวัดแหล่งที่มาของอาหารสดที่ปนเปื้อนฟอร์มาลีนมากที่สุดคือจังหวัดระยอง (ร้อยละ 22.2) แหล่งที่มาของอาหารสดปลอดสารฟอร์มาลีน ได้แก่ ห้างสรรพสินค้า ร้านอาหาร แพลงเกษตร ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ และโรงฆ่าสัตว์ การสัมภาษณ์พนักงานเจ้าหน้าที่พบว่า สบไธสงที่ปนเปื้อนฟอร์มาลีนผลิตจากสบไธสงแห่งแ่งซึ่งจัดเก็บและซื้อขายในสถานที่ที่ไม่เปิดเผย ส่วนปลาหมึกกรอบ ปนเปื้อนฟอร์มาลีนผลิตจากปลาหมึกแ่งและส่งขายตลาดในรูปแบบปกติ

รายงานการสุ่มตรวจประเมินอาหารปลอดภัยของกรมอนามัย ในตลาดที่ จ.นครสวรรค์ 5 แห่ง โดยมีการเก็บอาหารตรวจทั้งหมด 275 ตัวอย่าง ในช่วงปลายเดือนมกราคม 2557 พบการใช้สารฟอร์มาลีนกับ

อาหารสด 102 ตัวอย่าง เกลี้ยร้อยละ 25 ซึ่งอาหารที่ตรวจพบได้แก่ กุ้ง ปลาหมึก หมึกกรอบ ชিংหั่นฝอย กระชายหั่นฝอย เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดหอมสด ถั่วฝักยาว สับปะรด (ผ่าซีก)

กรมอนามัยได้สุ่มตรวจอาหารทะเลปี 2558 ในตลาดสด ตลาดนัด ใน 4 ภาค จำนวน 39 แห่ง 273 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนฟอร์มาลิน จำนวน 35 ตัวอย่าง ร้อยละ 12.82 โดยอาหารทะเลที่พบการปนเปื้อนมากที่สุดคือ ปลาหมึกกรอบ ร้อยละ 34.62 รองลงมาคือ ปลาหมึกสด ร้อยละ 20.51

อุปกรณ์ และสารเคมี

ชุดทดสอบฟอร์มาลินในอาหาร

ตัวอย่าง

เห็ด ผักสด อาหารทะเลสด

ความไวของชุดทดสอบ : ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้ 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การตรวจคัดกรองการปนเปื้อนสารฟอร์มาลิน ใช้ชุดทดสอบการปนเปื้อนฟอร์มาลินในอาหารของกระทรวงสาธารณสุข โดยมีการควบคุมคุณภาพผลบดด้วย น้ำกลั่นและสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 0.1 ppm ขณะที่การควบคุมคุณภาพผลบดด้วยสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 0.5 และ 5.0 ppm

ขั้นตอนการทดสอบชุดทดสอบฟอร์มาลินในอาหาร

ขั้นตอนที่

การทดสอบ

- 1 เติมน้ำเข้าอาหาร ที่สงสัย ลงในขวดทดสอบ ที่ 1 ให้ได้ ความสูง 1 ใน 3 ส่วนของขวดทดสอบ (ใช้น้ำสะอาด 30 ml เข้าอาหาร หรือใช้น้ำสะอาดรินผ่านอาหารนั้นให้ น้ำขึ้นบนที่แยกตะกอน แล้วมาทดสอบเพื่อป้องกันสีที่เกิดจากเอ็นไซม์อาหาร) แล้วปิดฝาขวดเขย่าจนสารทดสอบในขวดละลายหมด
- 2 ถ่ายของเหลวจากขวด สารทดสอบที่ 1 ลงขวด สารทดสอบที่ 2 ปิดฝาขวดและเขย่าเล็กน้อย
- 3 ถ่ายของเหลวจากขวดสารทดสอบที่ 2 ลงขวดสารทดสอบที่ 3 แล้วรีบปิดฝาขวด แกว่งเบาๆ ให้ของเหลวเข้ากัน สังเกตสีที่เกิดขึ้น
- 4 ถ้ามีสีเกิดขึ้นตั้งแต่ สีชมพูจนถึงสีแดง แสดงว่าน้ำนั้นมีฟอร์มาลินผสมอยู่

ข้อควรระวัง น้ำยาทดสอบ 3 เป็นกรด หลีกเลี่ยงการสูดดมโดยเปิดฝาเท่าที่จำเป็นหากกรดถูกมือจะคันให้รีบล้างน้ำทันที



ภาพ 8.1 ชุดทดสอบฟอร์มาลินในอาหาร

การตรวจหา สารในกลุ่มซัลไฟต์

หลักการ

สารในกลุ่มซัลไฟต์ ที่นิยมใช้กันคือซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โซเดียมซัลไฟต์ โซเดียมไบซัลไฟต์ และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ มีการนำมาใช้ในอาหารเพื่อเป็นวัตถุกันหืน เพื่อพอกสีอาหาร ให้ขาวใช้ในอาหารที่เป็นผักผลไม้สด ผักผลไม้แห้ง ผักผลไม้ดอง ผักผลไม้แช่อิ่ม ผลไม้กวน แยม (jam) น้ำตาลทราย น้ำตาลปี๊บ น้ำเชื่อม และผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น วุ้นเส้น เส้นหมี่ และก๋วยเตี๋ยว ใช้ในเจลาติน ถั่วบรรจุกระป๋อง หน่อไม้กระป๋อง เห็ดกระป๋อง กะทิกระป๋อง มันฝรั่งกระป๋อง และอาหารแช่แข็ง เป็นต้นและยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ ราและแบคทีเรีย ใช้ฆ่าจุลินทรีย์ในการทำไวน์ เบียร์ ทำให้เก็บรักษาอาหารได้นาน ไม่เน่าเสียเร็ว กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้ใช้ได้ ในอาหารบางชนิดเท่านั้นแต่ก็ยังมี การนำสารกลุ่มซัลไฟต์มาใช้ในอาหารชนิดต่างๆ จำนวนมาก

ตาราง 8 ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารแต่ละชนิด

ปริมาณซัลไฟต์	อาหาร
มากกว่า 100 ppm	ผลไม้แห้ง (ยกเว้นลูกเกดและลูกพรุน) น้ำมะนาว (ทั้งชนิด lemon และ lime) บรรจุขวดที่ไม่ใช่ชนิดแช่แข็ง ไวน์ กากน้ำตาล กะหล่ำปลีดอง หัวหอมดอง
50-99.9 ppm	มันฝรั่งแห้ง น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์
10-49.9 ppm	เพคติน กุ้งสด พริกดอง ผักดอง แป้งข้าวโพด ดอกเห็ดสด ไข่กรอก ผักอบแห้ง ซีส ขนบึงข้าวโพด หอยลายบรรจุกระป๋อง น้ำส้มสายชูหมัก เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ประเภท cordial เช่น liqueur
น้อยกว่า 10 ppm	น้ำส้มสายชูที่ผลิตจากมอลต์ มันฝรั่งกระป๋อง เบียร์ น้ำอัดลม มะพร้าว

สารในกลุ่มซัลไฟต์ มีพิษและเป็นสารก่อภูมิแพ้ จากพระราชบัญญัติ อาหารของกระทรวงสาธารณสุข ได้กำหนดการใช้เกลือซัลไฟต์ เกลือไบซัลไฟต์ของโซเดียมและโพแทสเซียมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ ต้องมีคุณภาพเป็นไปตามกฎกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 (พ.ศ. 2527) เรื่องวัตถุเจือปนอาหารและได้กำหนด ปริมาณการใช้ของสารดังกล่าวในอาหารบางชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย น้ำตาลมะพร้าว วุ้นเส้น เส้นหมี่ เส้น ก๋วยเตี๋ยว แอพร็อคอต แห้ง ลูกเกด กุ้งเยือกแข็ง และเนื้อกุ้งดิบและอาหารที่มีซัลไฟต์ ปริมาณมากกว่าหรือ เท่ากับ 10 mg/kg ต้องมีฉลากระบุ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 367) พ.ศ. 2557 เรื่อง การ แสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกกำหนดค่าความปลอดภัยไว้ คือ ปริมาณ ที่ได้รับต้องไม่เกิน 0.7 มิลลิกรัม/คน/วัน (ADI : Acceptable Daily Intake)

อุปกรณ์ และสารเคมี

ชุดทดสอบซัลไฟต์ (สารฟอกขาว)

ตัวอย่าง

พริกทอง ผักทอง ไส้กรอก ขนมหั้วข้าวโพด น้ำส้มสายชูหมัก ถั่วงอก ชিংหั่นฝอย ชิงทอง ผลไม้ดอง ผักดอง หน่อไม้ดอง ทุเรียนกวน สับปะรดกวน ผลไม้อบแห้ง กะปิ

-จำนวนตัวอย่างที่ตรวจได้/ชุด ตรวจได้ 50 ตัวอย่าง อายุการใช้งานนับจากวันที่ผลิต 1 ปี

-ความไว ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของโซเดียมซัลไฟต์ (ซัลไฟต์อิสระ)

ขั้นตอนการทดสอบชุดทดสอบในอาหาร

ขั้นตอนที่	การทดสอบ
1	ถ้าอาหารเป็นของเหลวหรือมีของเหลวผสมอยู่ในอาหารให้เทของเหลวลงในถ้วยพลาสติก 10 ml แต่ถ้าอาหารเป็นของแข็งให้ตักอาหารมาครึ่งช้อนชา ใส่ในถ้วยพลาสติก แล้วเติมน้ำสะอาดประมาณ 10 ml แช่ไว้ประมาณ 1 - 2 นาที
2	หยดน้ำยาในขวดหยด จำนวน 3 - 4 หยด ลงในถ้วยเขย่าให้เข้ากัน สังเกตสีที่เกิดขึ้น
ประเมินผล	1. ถ้าสีของน้ำยาที่เติมลงไปหายไปทันที (ไม่มีสีน้ำเงิน - ม่วงเกิดขึ้น) แสดงว่ามีสารซัลไฟต์เจือปน 2. ถ้าของเหลวเป็นสีน้ำเงิน-ม่วง แสดงว่าไม่มีสารซัลไฟต์เจือปน

การปฏิบัติเมื่อใช้ชุดทดสอบสารซัลไฟต์เสร็จแล้ว

- ถ้วยพลาสติก : ให้เทน้ำในถ้วยพลาสติกทิ้ง ใส่ น้ำสะอาดประมาณครึ่งถ้วย เขย่าเททิ้งทำซ้ำ 2-3 ครั้ง แล้วคว่ำถ้วยหรือเช็ดให้แห้งก่อนที่จะนำไปเก็บในกล่องชุดทดสอบ
- ขวดน้ำยา : ปิดจุกให้แน่น แล้วเก็บในกล่องชุดทดสอบ

ข้อควรระวัง

- เอ็นไซม์ในผักสดจะมีผลต่อการทดสอบ ดังนั้นห้ามบดตัวอย่าง
- อย่าวางชุดทดสอบไว้ใกล้มือเด็ก



ภาพ 8.2 ชุดทดสอบสารในกลุ่มซัลไฟต์

ชุดทดสอบโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ (สารฟอกขาว) ในอาหาร

หลักการ

สารฟอกขาวที่เป็นอันตราย กระทรวงสาธารณสุขไม่อนุญาตให้ใช้เจือปนในอาหาร คือ สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ (Sodium hydrosulfite) หรือที่ชาวบ้านเรียกว่า ผงซักฟอก ชี้อื่นๆ ได้แก่ Dithionous acid, disodium salt; Sodium dithionite hydrate; Sodium sulfoxylate; Reductone; Sulfoxylate; Virtex L; Hydrolin; D-Ox; Vatrolite; มีสูตรโมเลกุล : $\text{Na}_2\text{O}_4\text{S}_2$ สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์เป็นสารเคมีที่เป็นพิษ ลักษณะเป็นผงผลึกสีขาว มีกลิ่นฉุนกำมะถันอ่อนๆ ละลายได้ในน้ำ ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ เป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมเกี่ยวกับการฟอกสี เช่น กระดาษ เส้นใยไหม แห อวน และเครื่องหนัง หากสัมผัสผิวหนังจะทำให้ผิวหนังอักเสบ เป็นผื่นแดง ถ้าบริโภคเข้าไปจะทำให้เกิดการอักเสบในอวัยวะที่สัมผัสอาหาร เช่น ปาก ลำคอและกระเพาะอาหาร หากกินเข้าไปมากเกินไป 30 กรัม จะทำให้เกิดอาการปวดท้อง เวียนศีรษะ อาเจียน อูจจาระร่วง ความดันโลหิตลดต่ำลง แน่นหน้าอก หายใจไม่สะดวก หอบหืด ทำให้หอบหืด ในผู้ที่ป็นโรคนี้อยู่แล้วอาจช็อก หมดสติและเสียชีวิตได้ การนำสารฟอกขาวมาใช้ในอาหาร เพื่อให้อาหารมีสีขาวดูคุณภาพดี

ตัวอย่าง

ถั่วงอก ทุเรียนกวน หน่อไม้ ขิงซอย ขนมหิน น้ำตาลทราย ผ้าขี้ริ้ว

ความไวของชุดทดสอบ ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้ ร้อยละ 0.05 มิลลิกรัม

การเก็บรักษา เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อายุการเก็บรักษา 2 ปี

วิธีทดสอบ

1. นำตัวอย่างใส่ในถ้วยตวง (ของเหลว เทตัวอย่างน้ำแช่ผักผลไม้ลงในถ้วย 5 ml หรือของแข็งใช้ครึ่งช้อนชา แล้วผสมน้ำสะอาดประมาณ 10 ml แล้วบดตัวอย่างให้แตก)

2. หยดน้ำยาไฮโดรซัลไฟต์ จำนวน 3-4 หยด เขย่าให้เข้ากัน สังเกตสีของสารละลาย

การแปลผล สารละลายเปลี่ยนสีเป็น เทา - ดำ ☐ มีสารฟอกขาว แต่ สีเขียว - ฟ้ำอ่อน ☐ ไม่มีสารฟอกขาว



ภาพ 8.3 ชุดทดสอบโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์

ชุดทดสอบวัตถุกันเสีย (กรดเบนโซอิก)

สารกันบูด (Preservatives) หรือเรียกอีกชื่อวัตถุกันเสีย คือวัตถุเจือปนอาหาร เป็นสารเคมีที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ช่วยในการถนอมอาหารได้ มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร เส้นก๋วยเตี๋ยว เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร กฎหมายอนุญาตให้ใช้วัตถุกันเสีย คือ กรดเบนโซอิก และเกลือเบนโซอิก คณะกรรมการกำหนดมาตรฐานอาหารสากล (Codex) ได้กำหนดให้ใช้กรดเบนโซอิกในเส้นก๋วยเตี๋ยวได้ไม่เกิน 1,000 mg/kg

ตัวอย่าง

ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ เส้นหมี่ กวยจั๊บเส้นใหญ่ กวยจั๊บเส้นเล็ก บะหมี่ไช้บะ

ความไวของชุดทดสอบ

ชุดทดสอบจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลเมื่อปริมาณ กรดเบนโซอิก มากกว่า 1000 mg/kg

วิธีการทดสอบ

1. ใช้กรรไกรตัดหรือใช้เขียงตัดแบ่งตัวอย่างอาหารประเภทเส้นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ให้ได้ 3 ซ่อนชา แล้วใส่ในถ้วยพลาสติก
2. จากนั้นเติมน้ำอุ่น (55-65 °C) ให้ท่วมตัวอย่าง
3. รอให้เส้นอืดน้ำ และนุ่ม ใช้เขียงบดตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน
4. รอให้ตัวอย่างตกตะกอน
5. ควบน้ำส่วนใส หยดลงในจานหลุมทดสอบ จำนวน 2 หยด
6. เติมน้ำยา PT 1 จำนวน 1 หยด
7. เติมน้ำยา PT 2 จำนวน 1 หยด
8. เขย่า เบาๆ จับเวลา 10 นาที เทียบค่าความถูกต้องกับวิธีมาตรฐาน HPLC

การแปลผล

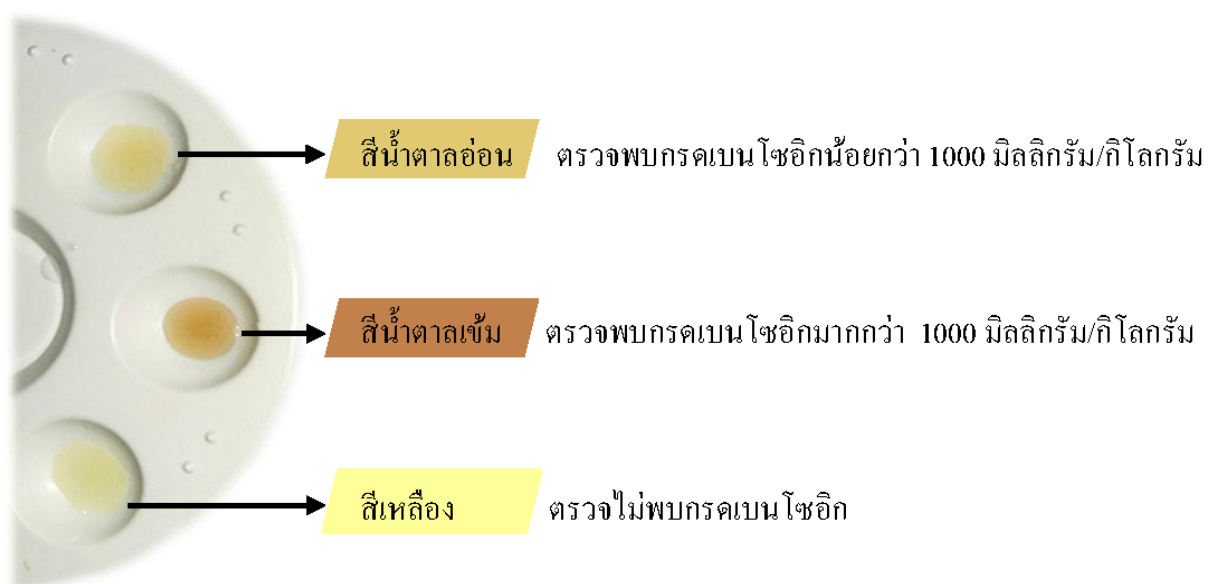
สีน้ำตาลอ่อน ตรวจพบกรดเบนโซอิกน้อยกว่า 1000 mg/kg

สีน้ำตาลเข้ม ตรวจพบกรดเบนโซอิกมากกว่า 1000 mg/kg

สีเหลือง ตรวจไม่พบกรดเบนโซอิก



ภาพ 8.4 ชุดทดสอบวัตถุกันเสีย (กรดเบนโซอิก)



ภาพ 8.5 สีที่ปรากฏจากการทดสอบ

บทปฏิบัติการที่ 9 Screening of GMO products in foods

หลักการ

การพัฒนาเทคโนโลยี มีจุดประสงค์เพื่อนำมาใช้แก้ปัญหา และเพิ่มความสะดวกสบายให้แก่มนุษย์ แต่กับเรื่องการบริโภค โดยเฉพาะผลผลิตทางการเกษตร ที่ผู้ผลิตพยายามหาวิธีเพิ่มผลผลิตอย่างในยุคก่อนที่ใช้สารเคมีเป็นตัวเร่ง และในยุคปัจจุบันนี้ ที่เน้นปรับแต่งพันธุกรรม ให้ต่างไปจากธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น พืชจีเอ็มโอ และสัตว์ที่ตัดแต่งพันธุกรรม ยังเป็นมีการถกเถียงและไม่ทราบแน่ชัดถึงพิษภัยที่จะตามมา การสร้างพืชจีเอ็มโอ คือการใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม โดยนำยีนจากสิ่งมีชีวิตอื่นเข้ามาใส่ เพื่อให้เกิดคุณสมบัติพิเศษตามที่ต้องการ เช่น ทนความแห้งแล้ง ทนต่อศัตรูพืช หรือทนทานต่อสารเคมีบางชนิด

พืชจีเอ็มโอชนิดแรกของโลกที่ได้วางขายคือ มะเขือเทศเฟลเวอร์ เซเวอร์ (Flav Savr) จากนั้นพืชจีเอ็มโอชนิดต่างๆ จึงทยอยเข้าสู่ท้องตลาด เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด คาโนลา และน้ำมันเมล็ดฝ้าย ขณะเดียวกันก็มีการทดลองในพืชอาหาร และพืชพลังงานอีกหลายชนิด สิ่งที่น่าเป็นห่วงสำหรับเทคโนโลยีการตัดต่อพันธุกรรม นั่นคือ ถ้าถ่ายสารพันธุกรรมจากจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเข้าไป ก็จะทำให้เกิดความเสี่ยงสูง อีกทั้งในขั้นตอนของการถ่ายดีเอ็นเอนั้นก็ต้องถ่ายผู้ช่วย (promotor) แม้ดีเอ็นเอเป้าหมายจะไม่ใช้ไวรัส แต่ดีเอ็นเอผู้ช่วยก็อาจก่อปัญหากับดีเอ็นเอบางตัวอีกด้วย

การเพาะปลูก จีเอ็มโอ หรือ จีเอ็มฟู้ด นั้น มีการเพาะปลูกเพิ่มมากขึ้นทั่วโลกในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา การเพิ่มการผลิตรวมกับบวกกับการจัดการขั้นตอนที่เข้มงวดของการรับรองอาหารจีเอ็ม ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบการปนเปื้อนของจีเอ็มโอในอาหาร เพื่อประโยชน์ของการค้าระหว่างประเทศ การตรวจสอบสารจีเอ็มโอจะช่วยยืนยันยืนยันความเป็นตัวตนของพืช และธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ ในทุกๆ ขั้นตอนของกระบวนการผลิต และทำให้มั่นใจได้ว่าคุณภาพผลิตภัณฑ์นั้นสอดคล้องตามข้อกำหนดของกฎหมายเกี่ยวกับอาหารจีเอ็ม (GM foods) และอาหารสัตว์จีเอ็ม (GM feeds)

การวิเคราะห์จีเอ็มโอสามารถทำได้ทั้งในพื้นที่และในห้องปฏิบัติการ และการตรวจวัดที่เหมาะสมจะขึ้นกับธรรมชาติของตัวอย่าง ต้องการความไวของการทดสอบที่แตกต่างกันไป และชุดทดสอบนั้นจะนำไปทดสอบกับตัวอย่างอะไร การวิเคราะห์สารจีเอ็มโอปนเปื้อนนั้นสามารถทำได้ทั้งเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพ การจำแนกชนิดของจีเอ็มโอ และมีข้อมูลขั้นตอนการทดสอบแต่ละวิธีด้วย ว่าวิธีใดเหมาะสมกับตัวอย่างใดมากกว่ากัน เป็นต้น

ตัวอย่างอาหารที่ต้องนำมาตรวจสอบการปนเปื้อนตกค้าง: ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ข้าวชนิดต่างๆ อาหารสัตว์ และอาหารชนิดอื่นๆ ที่สงสัย

ชุดสำเร็จรูปสำหรับตรวจสอบจีเอ็มโอ (GMO test kit)

คือ ชุดตรวจสอบขั้นต้น (D-GMOs Screening) และชุดตรวจสอบยืนยันจีเอ็มโอ (D-GMOs Identification) โดยสามารถตรวจสอบได้ทั้งตัวอย่างที่เป็นพืชวัตถุดิบและตัวอย่างที่แปรรูปแล้ว ผลที่ได้ถูกต้อง แม่นยำ

ชุดทดสอบ พืชจีเอ็มโอ แบบเร่งด่วนรวดเร็ว และใช้งานง่าย โดยทดสอบหาลักษณะโปรตีนเฉพาะในด้านเทคโนโลยีชีวภาพ biotechnology enhanced traits ในเนื้อเยื่อพืช เมล็ดพันธุ์ เมล็ดผลผลิต ลักษณะของชุดทดสอบ Kit formats เป็นแบบทดสอบทางคุณภาพ และปริมาณในไมโครเพลท QualiPlate™ และ QuantiPlate™ สำหรับห้องปฏิบัติการ แต่สำหรับภาคสนาม เป็นแบบอ่านแถบสี QuickStix™ ใช้เวลาเพียง 2-5 นาที ได้พัฒนาวิธีการสกัดสารตัวอย่างในการทดสอบ Common Extraction™ สามารถหาลักษณะทางพันธุกรรมหลายๆชนิดในการจุ่มทดสอบครั้งเดียวกัน



ภาพ 9.1 วิธีการตรวจ GMO ในอาหาร



ภาพ 9.2 GMO Test Kits ชุดตรวจพืชอาหารดัดแปรพันธุกรรม

บทนำและจุดประสงค์การทดลอง

ชุดทดสอบเบื้องต้นชนิด Lateral Flow แบบ Sandwich Assay ใช้ทดสอบเชิงคุณภาพต่อยีนจีเอ็มโอ CP4 ในเมล็ดถั่วเหลืองและเมล็ดข้าวโพด ซึ่งยีนทนทานต่อ Roundup® herbicides โดยชุดทดสอบ มีความไวตรวจพบในถั่วเหลือง 1/1000 (0.1%) และในเมล็ดข้าวโพด 1/800 (0.125%) ควรเก็บชุดตรวจสอบที่ 18-30°C

อุปกรณ์ และสารเคมี

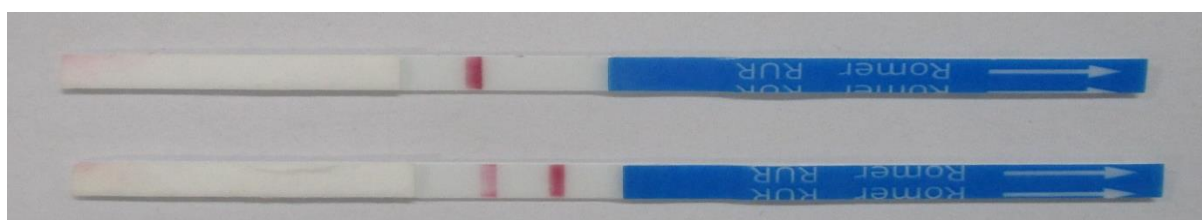
1. ชุดตรวจอาหารดัดแปลงพันธุกรรมเบื้องต้น
2. หลอดทดสอบปริมาตร 1 ml
3. ปีกเกอร์ปริมาตร 50 ml
4. หลอดหยด

ตัวอย่าง

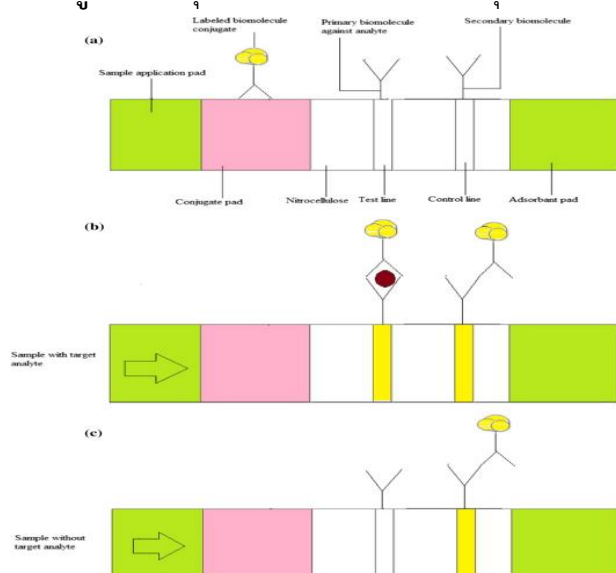
เมล็ดถั่วเหลืองและเมล็ดข้าวโพด

วิธีการทดสอบ

1. บดตัวอย่างนาน 30-45 วินาที
2. เติมน้ำ (4 เท่าของน้ำหนักตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง และ 1.6 เท่า ของน้ำหนักตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด)
3. เขย่าตัวอย่างนาน 30-45 วินาที
4. เติมตัวอย่าง 0.5 ml ในหลอดทดสอบปริมาตร 1 ml
5. หยิบ strip จุ่มในหลอดทดสอบ
6. อ่านผลใน 10 นาที



รูปที่ 9.3 ชุดตรวจอาหารดัดแปลงพันธุกรรม



ภาพ 9.3 หลักการการทดสอบ

บทปฏิบัติการที่ 10 Rapid detection method for *Salmonella* spp. from foods

หลักการ

การใส่สารที่เป็น inhibigen ซึ่งประกอบไปด้วย ส่วนประกอบ 2 อย่าง เชื่อมต่อกันทางเคมีที่เรียกว่า bonding ซึ่งการที่จะทำให้มันแตกตัวแยกออกจากกันได้ต้องใช้เอนไซม์ที่จำเพาะเท่านั้น เมื่อสารสองตัวนี้เกาะกันอยู่ สารที่เป็นสารยับยั้ง (inhibitor compound) จะไม่เป็นพิษ ดังนั้น มันจึงสามารถคงอยู่ในอาหารโดยไม่ทำอันตรายต่อจุลชีพ เมื่อเข้าไปอยู่ในเซลล์ การเกาะกันจะแยกออก ถ้ามีเอนไซม์ที่จำเพาะที่สามารถตัดการเกาะยึดกันได้ เมื่อแยกออกจากกัน โมเลกุลของสารยับยั้งจะถูกปล่อยออกมาและไปขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ (cell wall synthesis) ทำให้จุลชีพตายได้ เมื่อเซลล์ตายหรือแตก ทำให้ free inhibitor ถูกปลดปล่อยออกมา แต่เซลล์อื่นๆ ไม่สามารถดูดซึมสารนี้ได้ ทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อเป้าหมายได้ ซึ่งในที่นี้คือเชื้อ *E. coli* โดยการใส่สารปฏิชีวนะชนิด novobiocin และ cefsulodin ซึ่งผลิตมาในรูปแบบ freeze-dried supplement (SR0194, Oxoid) ใส่เข้าไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียท้องถิ่น (normal flora) ตัวอื่นๆ ที่แข่งกันเจริญเติบโต เช่น *Proteus* spp. และ *Pseudomonas* spp.

การจำแนกแยกเชื้อซัลโมเนลลาออกจากเชื้อชนิดอื่นๆ ที่เจริญเติบโตได้เช่นกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brilliance™ *Salmonella* Agar Base (CM 1092, Oxoid) เกิดขึ้นได้เมื่อมีการใส่สี 2 ชนิด (chromogens) ซึ่งมีเป้าหมายคือเอนไซม์สองชนิด caprylate esterase และ β - glucosidase โดยเอนไซม์ caprylate esterase เป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเชื้อซัลโมเนลลา ทุกสายพันธุ์ รวมทั้งสามารถพบได้ในเชื้อ *Klebsiella* เชื้อ *Enterobacter* และ *Proteus* ดังนั้นเชื้อที่มีเอนไซม์ตัวนี้อยู่จะสามารถย่อยสลาย chromogen ที่ผสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และปลดปล่อยสารสีม่วงที่ไม่ละลาย (insoluble purple chromophore) ในขณะที่เซลล์กำลังเจริญเติบโต ดังนั้นสาร chromophore นี้จึงสะสมเพิ่มจำนวนขึ้นจนทำให้เห็นโคโลนีเป็นสีม่วง เชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae บางชนิด ซึ่งรวมถึงเชื้อ *Klebsiella* เชื้อ *Enterobacter* จะมีเอนไซม์ β - glucosidase 2 แต่เชื้อซัลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์นี้ เมื่อเชื้อเจริญเติบโตพวกมันจะสร้างโคโลนีสีน้ำเงิน (blue) หรือ น้ำเงินเข้ม (dark blue colony) แม้เชื้ออื่นๆ จะมีเอนไซม์ esterase เป็นผลบวก ทำให้สามารถแยกจากโคโลนีสีม่วงของเชื้อซัลโมเนลลาได้อย่างง่ายดาย

ตัวอย่าง

ไข่ เนื้อสัตว์ อาหารสัตว์

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

สารละลาย 0.1% Peptone Water (PW)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliance™ *Salmonella* Agar

สารละลายแอลกอฮอล์ 70%

สำลีปลอดเชื้อและน้ำสะอาดปลอดเชื้อ

ปีกเกอร์ฆ่าเชื้อ

Loop

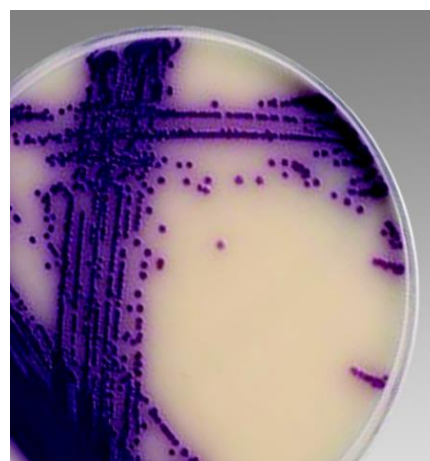
การเตรียมตัวอย่างไข่

1. ทำความสะอาดเปลือกไข่ด้วยสำลีและน้ำสะอาดปลอดเชื้อ หลังจากสะเด็ดน้ำแล้วจุ่มในสารละลายแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 10 นาที แล้วพักชั่วคราวให้เปลือกไข่แห้ง

2. ตอกไข่ด้วยขอบปีกเกอร์ฆ่าเชื้อแล้วผสมไข่แดงและไข่ขาวให้เข้ากัน

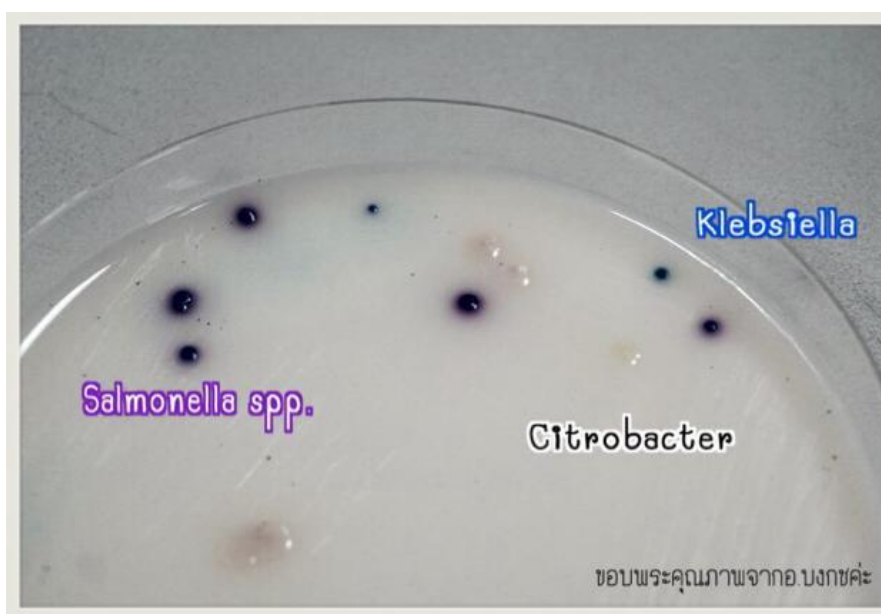
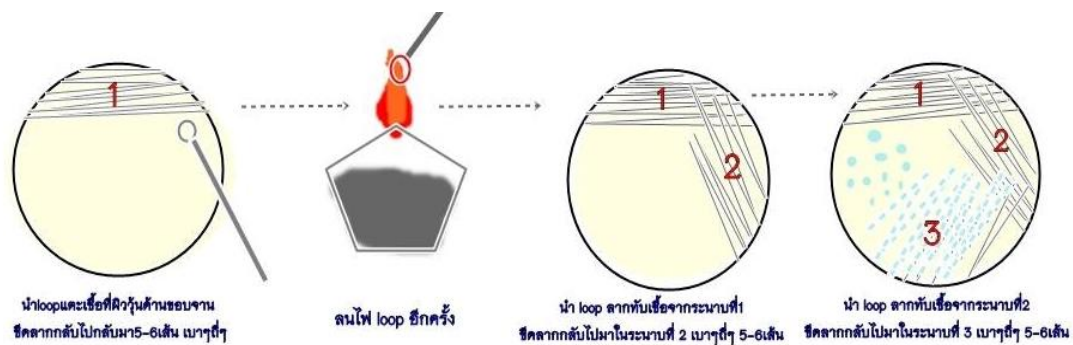
วิธีการทดลอง

1. นำอาหารชนิดต่างๆ หรืออาหารสัตว์ ที่ต้องการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลามาจำนวน 25 g
2. ผสมใน 0.1% Peptone Water (PW) หรือสารละลายอื่นๆ ที่มีในห้องปฏิบัติการ จำนวน 225 ml. (หรือ อาจจะลดสัดส่วนลงต่ำก็ได้ เช่น ตัวอย่าง 10 g ในสารละลาย PW จำนวน 90 ml เป็นต้น)
3. ผสมด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 2 นาที ที่ความเร็วรอบ 300 rpm ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
4. นำลูปเขี่ยเชื้อจุ่มลงไปในขวด หรือถุงที่เขย่าเข้ากันดีแล้ว มาจำนวน 1-2 loops นำมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliance™ *Salmonella* Agar โดย streak ไม่ให้ซ้ำรอยเดิมเพื่อให้โคโลนีแยกกันชัดเจน สามารถ streak ได้สูงสุดไม่เกิน 5 ระบาย
5. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ายังไม่เห็นโคโลนี ให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง รวมเป็นอ่านผลที่ 48 ชั่วโมง
6. รายงานผลเป็น positive presumptive *Salmonella* spp. เมื่อพบโคโลนีสีม่วง (ดังแสดงในภาพด้านล่างนี้)

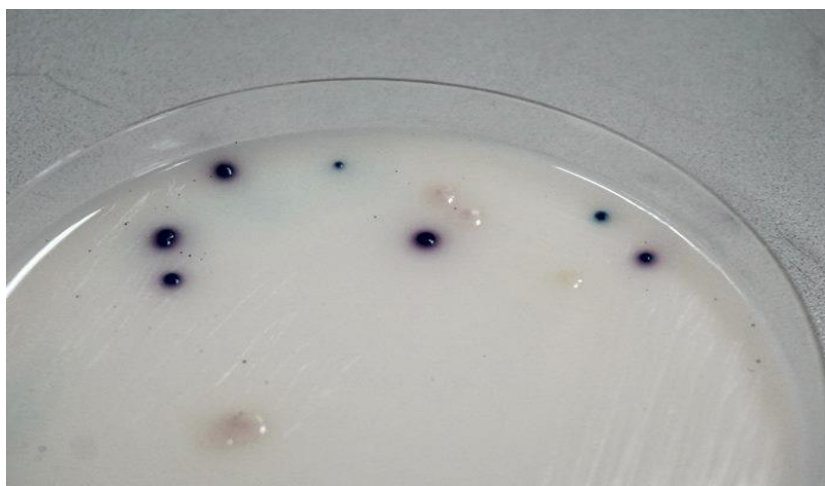


ภาพ 10.1 (a) Brilliance™ *Salmonella* Agar
Base (CM 1092)

(b) Colonies characteristics on plate



ภาพ 10.2 (a) Purple colonies for *Salmonella* spp.



(b) White colony for *Citrobacter* spp.

บทปฏิบัติการที่ 11 การตรวจหาเชื้อไวรัสในอาหารและอาหารทะเล (Detection of *Vibrio* spp. from food and seafood)

หลักการ

Vibrio parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) อยู่ในวงศ์ Vibrionaceae รูปร่างเป็นแท่ง เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เป็นอันตรายทางอาหาร ประเภทร้ายทางชีวภาพ (biological hazard)

V. parahaemolyticus พบระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น (พ.ศ. 2493) Fujino และคณะ แยกเชื้อจากอุจจาระผู้ป่วยที่เมืองโอซากา สาเหตุที่อาหารเป็นพิษเกิดจากการรับประทาน "ชิราสุ shirasu" เดิมเรียกเชื่อนี้ว่า *Pasteurella parahaemolyticus* ประเทศญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน อินเดีย และหลายๆ ประเทศทางเอเชีย รวมทั้งอเมริกามีรายงานว่า มากกว่า 50% ของอาหารเป็นพิษมีสาเหตุจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* สำหรับประเทศไทยเชื่อนี้เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเช่นกันคิดเป็นร้อยละ 56, 56, 58, 60, 61 และ 78 ของผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดในปี พ.ศ. 2540-2545 ตามลำดับ และที่เมือง Calcutta ประเทศอินเดียในปี พ.ศ. 2539 เกิดการระบาดใหญ่ (pandemic) ของสายพันธุ์ (serotype) O3:K6 และเกิดการระบาดอย่างต่อเนื่องในหลายๆ ประเทศทางทวีปเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน รวมทั้งประเทศอเมริกา จัดได้ว่า O3:K6 นี้เป็นเชื้อ pandemic strain และเป็นสายพันธุ์ที่มาจากต้นตอเดียวกัน (same clone) แต่เป็น new clone เมื่อเปรียบเทียบกับ O3:K6 ที่พบก่อนปี พ.ศ. 2539 และก่อโรคประปราย

V. parahaemolyticus จัดเป็น marine microorganism สามารถ isolated ได้จากพวกอาหารทะเล โดยเฉพาะพวก shellfish และ crustaceans เชื้อ *V. parahaemolyticus* รูปร่างอาจจะ straight หรือ curved rod เป็น facultative anaerobic motile โดยใช้เกิด single polar flagellum ไม่สร้าง spore เป็นแบคทีเรียที่มีเกิดปฏิกิริยาชีวเคมี fermentative และ oxidative metabolisms, oxidase positive, reduces nitrate to nitrite เจริญได้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นแบคทีเรียชนิด halophilic และในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะต้องเติม 1% NaCl เป็นอย่างน้อย เชื้อเจริญได้ดีใน 3-6% NaCl ในภาวะที่เป็น optimum จะมี generation time ประมาณ 10 นาที ไม่สามารถเจริญที่ pH 4.5 เชื้อจะตายเมื่ออยู่ในน้ำส้มสายชูประมาณ 1 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามผลต่อการฆ่าเชื้อนี้จะลดลงเมื่อมีโปรตีนอยู่ด้วยในน้ำส้มสายชูนั้น เช่น อาหารทะเลดิบในน้ำส้มสายชู เป็นต้น Routine enteric media เช่นพวก MacConkey Agar จะไม่สามารถส่งเสริม good growth ของเชื้อมันได้ ดังนั้นจึงทำให้ไม่พบเชื้อมันใน routine microbiological analysis ของอาหาร *V. parahaemolyticus* ทำให้เกิดโรคในคนโดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น ซึ่งผู้คนนิยมบริโภคปลาดิบกันมาก โดยพบว่า 50-70% ของการระบาด ในญี่ปุ่นเกี่ยวข้องกับเชื้อมัน และพบว่าเชื้อมันเกี่ยวข้องกับอาหารทะเลนั่นเอง ซึ่งปกติแล้วในสภาพแวดล้อมทางทะเล จะพบเชื้อมันในระดับ 10^2 หรือน้อยกว่าต่อมิลลิลิตร อาการทางระบบทางเดินอาหารจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อเชื้อจำนวนมาก (10^6) ถูกกลืนกินเข้าไป การระบาดต่างๆ จะเกิดเมื่ออาหารเหล่านี้มีการจัดการที่ไม่เหมาะสมและทำให้แบคทีเรียสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น หรือโดยเฉพาะเวลาที่อาหารนั้นถูกนำมารับประทานสดๆ ในญี่ปุ่นจะพบว่าเมื่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* 96% ของ coastal

seafish พบว่าเชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในพวกดินตะกอนชายฝั่งรวมทั้งตะกอนชายเลน ปกติจะไม่พบในปลาที่เป็น ocean seafish แต่ปลาเหล่านี้จะถูกปนเปื้อนมาภายหลังที่ถูกส่งเข้าตลาด

เชื้อ vibrio ชนิดนี้ยังถือว่าเป็นเชื้อโรคช่วยโอกาส (opportunistic pathogen) สามารถแยกได้จากบาดแผลในคนที่ทำงานเป็นจับสัตว์น้ำหรือชาวประมงได้ด้วย ในประเทศอุตสาหกรรมอื่นๆ จะพบว่าอาหารทะเลมีการปนเปื้อนของ *Vibrio* spp. อยู่เสมอ ๆ ดังนั้นจึงบ่งบอกถึงความจำเป็นที่จะต้องมีมาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับอาหารชนิดนี้ แม้ว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะไม่ค่อยพบในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แต่เชื้อ vibrio ชนิดอื่นๆ (halophilic *Vibrio* spp.) สามารถแยกได้จากอาหารพวก salt-cured meats และถูกแยกแยะว่าเป็น spoilage organism อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตขึ้นมาอย่าง เช่น Salt Polymixin Broth เพื่อใช้ประโยชน์จาก halophilic characteristic ของ *V. parahaemolyticus* โดยจัด alkaline pH ให้นั่นเอง ปกติความเข้มข้นของเกลือ 2 % เชื้อ *Vibrio* spp. จะสามารถเจริญได้ดี แม้ว่าเชื้อนี้จะชอบความเข้มข้นของเกลือ 3-6% ก็ตาม ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยยาปฏิชีวนะชนิด polymixin B จะเป็นตัวแยกหรือคัดออกเชื้อชนิด Enterobacteriaceae ไม่ให้สามารถเจริญได้ นอกจากนี้อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile Salts Sucrose Agar ค่อนข้างจะ selective ต่อ *Vibrio* species รวมทั้ง *V. parahaemolyticus* ด้วย bile salts และ oxgall inhibit แบคทีเรียพวก gram-positive และ alkaline pH ที่ 8.6 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาตัวอื่นๆ ได้ด้วย การใส่ fermentable sucrose ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อทำเพื่อแยก *V. parahaemolyticus* จาก *Vibrio* species อื่นๆ โดยใช้คุณสมบัติที่ว่า *V. parahaemolyticus* ไม่สามารถ ferment sucrose ในขณะที่ *Vibrio* species อื่นๆ สามารถทำได้ อย่างไรก็ตามพบว่าบางสายพันธุ์ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ใน Hong Kong สามารถ ferment sucrose ได้เป็นต้น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร่วมกับสำนักงานประมงอำเภอในท้องที่และเกษตรกรในพื้นที่เพาะเลี้ยงหอยสองฝา บริเวณปากแม่น้ำสำคัญของประเทศไทย 5 แห่ง ได้แก่ แม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา แม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร แม่น้ำแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม แม่น้ำเพชรบุรี และแม่น้ำบางตะบูน จังหวัดเพชรบุรี และแม่น้ำตาปี จังหวัดสุราษฎร์ธานี เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ โดยในปี พ.ศ. 2559 ได้สุ่มเก็บตัวอย่าง หอยสองฝา ได้แก่ หอยแครง หอยแมลงภู่ และหอยนางรม และทำการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อหาการปนเปื้อนโลหะหนัก 4 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท สารหนู และแคดเมียม และเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อ vibrio คอเลอเร (Vibrio cholerae) หรือ เชื้ออหิวาต์ เชื้อ vibrio พาราฮีโมไลติคัส (Vibrio parahaemolyticus) หรือเชื้ออหิวาต์เทียม และ vibrio วัลนิฟิคัส (Vibrio vulnificus)

ผลการตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนโลหะหนัก 4 ชนิด ตรวจพบเกินเกณฑ์มาตรฐานเพียงร้อยละ 1.8 ซึ่งเป็นสารแคดเมียม ซึ่งตามมาตรฐานสหภาพยุโรป กำหนดให้แคดเมียมไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนตะกั่ว ปรอท และสารหนูอนินทรีย์ ตรวจพบไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานทุกตัวอย่าง ส่วนผลการตรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ พบการปนเปื้อนเชื้อ vibrio วัลนิฟิคัส และพบเชื้อ vibrio พาราฮีโมไลติคัส ปนเปื้อนในตัวอย่างหอย แต่ไม่พบเชื้อ vibrio คอเลอเร ซีโรไทป์ O1 และ O139 ซึ่งเป็นเชื้อต้นเหตุที่สำคัญของอหิวาตกโรค

ตัวอย่างอาหาร

อาหารทะเล ส้มตำปูทะเล เต้าหู้ ก้อนเลือดไก่ ปลาแซลมอน ตัวอย่างน้ำที่สกปรกตามแหล่งชุมชนที่การสุขาภิบาลไม่ดี เป็นต้น

วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

สารละลาย 0.1% Peptone Water (PW)

อาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar

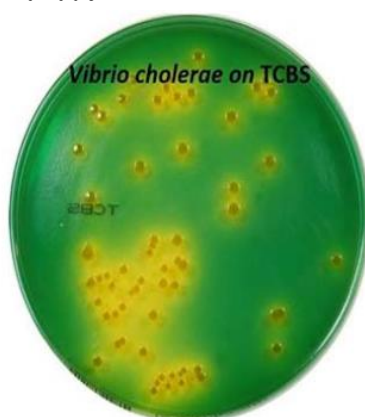
สารละลายแอลกอฮอล์ 95 %

Spreader

ปิเปต 1ml

วิธีการตรวจแยกเชื้อ *Vibrio* spp. ด้วยเทคนิค Streak plate

1. นำอาหารชนิดต่างๆ หรืออาหารสัตว์ ที่ต้องการตรวจหาเชื้อ *Vibrio* spp. มาจำนวน 25 g
2. ผสมใน 0.1% Peptone Water (PW) จำนวน 225 ml. (หรือ อาจจะลดสัดส่วนลงต่ำได้ เช่น ตัวอย่าง 10 g ในสารละลาย 0.1% PW จำนวน 90 ml เป็นต้น)
3. ผสมด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 2 นาที ที่ความเร็วรอบ 300 rpm ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นำลูปเขี่ยเชื้อจุ่มลงไปในขวด หรือถุงที่เขย่าเข้ากันดีแล้ว มาจำนวน 1-2 loops นำมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar
4. โดย streak ไม่ให้ซ้ำรอยเดิมเพื่อให้โคโลนีแยกกันชัดเจน สามารถ streak ได้สูงสุดไม่เกิน 4 ระบาย
5. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ายังไม่เห็นโคโลนี ให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง รวมเป็นอ่านผลที่ 48 ชั่วโมง
6. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะตรงตามสมบัติของ *Vibrio* spp. คือโคโลนีมีลักษณะกลม สีเขียวและสีเหลือง ตรงกลางนูนเล็กน้อย ขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร แลวนำไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมี
7. การทดสอบสมบัติทางชีวเคมี เลือกโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ โดยให้ผลการทดสอบ oxidase เป็นบวกแล้วถ่ายเชื้อลงบนอาหาร TSI และ LIA โดยเลือกเชื้อที่ให้ผล TSI เป็น K/A หรือ A/A และให้ผลบน LIA เป็น LDC+
8. รายงานผลการตรวจ



Vibrio cholerae on TCBS Agar



Vibrio parahaemolyticus on TCBS Agar

บทปฏิบัติการที่ 12 การวิเคราะห์สารตกค้างไนเตรท ไนไตรท์ บอแรกซ์ และ Hypo chlorite (Analysis of nitrate/nitrite/borax residues in processed foods)

หลักการ

Nitrate/nitrite คือสารที่เรารู้จักกันในชื่อ ดินประสิว หรือ โพแทสเซียมไนเตรต (potassium nitrate) เป็นดินที่เป็นกรดเกิดจากมูลของค้างคาว โดยการที่นำเอามูลค้างคาวมาต้มเคี่ยว แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จะมีเกล็ดสีขาวเกาะอยู่ เรียกว่า ดินประสิขาว ส่วนดินประสิตามร้านสมุนไพรทั่ว ๆ ไปนั้นจะมีจุดสีเหลือง ๆ สีดำ ๆ แสดงว่าทำยังไม่สะอาดดี การกลั่นกรองยังใช้ไม่ดี ในธุรกิจอาหารจะใช้ดินประสิเป็นสารกันบูดและสารถนอมสีเนื้อสัตว์ให้ดูสดอยู่เสมอ ความจริงแล้วผลของการถนอมอาหารนั้น สำคัญอยู่ที่อุณหภูมิในเตา

การถนอมอาหาร จึงสามารถใช้ไนเตรตในรูปแบบอื่นได้ด้วย เช่น โซเดียมไนเตรต (sodium nitrate) นอกจากไนเตรตแล้ว ยังมีสารอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้เป็นสารกันบูดก็คือไนไตรท์ (nitrite) แต่ด้วยคุณสมบัติของไนเตรต และไนไตรท์ที่สามารถรักษาสีของเนื้อสัตว์ให้ดูสดอยู่เสมอได้ โดยการทำปฏิกิริยากับสีของเม็ดเลือดแดง ทำให้สีคงทนอยู่ได้นานนี้ คณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้สารในกลุ่มนี้ได้ เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด โดยเฉพาะป้องกันการเจริญของเชื้อคลอสตริเดียมโบ툴ินัมซึ่งเชื้อนี้สามารถสร้างสารพิษโบ툴ิน ที่อันตรายร้ายแรงมาก เชื้อโรคชนิดนี้มักเจริญเติบโตในอาหารที่เก็บในภาชนะปิดสนิท อากาศผ่านเข้าออกไม่ได้ เช่น อาหารกระป๋อง ดินประสิเป็นสารก่อมะเร็ง สามารถทำปฏิกิริยากับสารเอมีน (amine) ในปลาหรือในร่างกายของมนุษย์ โดยมีน้ำย่อยในกระเพาะอาหารเป็นตัวช่วยทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิดที่มีโครงสร้างคล้ายกัน เรียกว่า nitrosamine (ไนโตรซามีน) สารเหล่านี้บางชนิดไม่มีอันตรายต่อสุขภาพ แต่บางชนิดจะร้ายแรงมากทำให้เป็นมะเร็งได้ ถ้ารับประทานไนเตรตเข้าไปจำนวนมาก อาจทำให้เกิดอาการท้องร่วงรุนแรง อาจเกิดอาการตัวเขียว หายใจไม่ออกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กเล็ก จะยิ่งไวต่อสารเคมีชนิดนี้มากกว่าผู้ใหญ่ นอกจากนี้ ยังสามารถตรวจพบสารตกค้างกลุ่มนี้ในพืช ผัก และผลไม้อีกด้วย เช่นมะเขือเทศ แอปเปิ้ลและพริกหวาน เป็นต้น

ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น แฮม (ham) หมูรมควัน (smoked pork chop) และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักจะต้องใช้สาร nitrate/nitrite ในกระบวนการผลิต ซึ่งสาร nitrate/nitrite ที่ใช้จะเป็นสารที่ทำให้เกิดรสชาติที่ต้องการ และทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีแดง ซึ่งก็คือป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีน้ำตาลที่ไม่น่ารับประทาน อย่างไรก็ตามการใช้สารสองชนิดนี้ นอกจากเติมลงไปเพื่อคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสแล้ว สารนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้อีกทางหนึ่งด้วย สารนี้จะทำปฏิกิริยากับ amino acid และก่อให้เกิดสารชนิดใหม่ คือ nitrosamines ซึ่งเป็นสารมะเร็ง ดังนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องควบคุมการใช้สารนี้ให้น้อยที่สุด และใช้อย่างถูกต้องเหมาะสมในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ ที่นำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ โดยค่ามาตรฐานที่ยอมให้มีได้ในผลิตภัณฑ์ ไม่เกิน 100 mg/kg ตามประกาศของกระทรวง

สาธารณสุข ฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547) กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้ใช้โซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์ในอาหารได้ดังนี้ โซเดียมไนเตรทให้มีได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร โซเดียมไนไตรท์ให้มีได้ไม่เกิน 125 mg/kg กรณีใช้ทั้งโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์ให้มีได้ไม่เกิน 125 mg/kg

วัตถุประสงค์การใช้งานชุดทดสอบ

เพื่อใช้ทดสอบสารไนเตรท/ไนไตรท์ตกค้างในอาหารจำพวก เนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์อัดกระป๋อง ไส้กรอก และอาหารอื่นๆ ที่มีการเติมสารไนเตรท/ไนไตรท์ลงไป

12.1 ชุดทดสอบแบบที่ 1 Detection of nitrate/nitrite in processed foods

หลักการตรวจสอบ

ไนเตรท/ไนไตรท์ในเนื้อสัตว์จะทำปฏิกิริยากับสารทดสอบกลายเป็นสีต่างๆ ความเข้มของสีขึ้นอยู่กับปริมาณของไนไตรท์ในตัวอย่างทดสอบ

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจได้: 0.025 mg/kg หรือแล้วแต่ชุดทดสอบที่ใช้

วิธีการเตรียมสารละลาย 1N sodium acetate: สารนี้จะเป็นตัวทำละลายดึงเอา nitrate/nitrite ออกมาจากตัวอย่างเพื่อนำไปทดสอบต่อไป สามารถเตรียมได้โดย

1. ชั่งสาร sodium acetate มา 13.6 g ใส่ลงไปในบีกเกอร์
2. จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 ml ลงไป
3. คนผสมให้เข้ากันดีหรือจนละลายทั้งหมด
4. เก็บไว้เพื่อใช้ในตู้เย็น และนำออกมาใช้โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนเริ่มต้นการทดสอบ

วิธีการทดสอบ

1. นำตัวอย่างส่งตรวจเช่น ผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ
2. จากนั้นนำไปใส่บีกเกอร์หรือถุงพลาสติก (ภาชนะเลือกใช้ตามความเหมาะสม) จำนวน 5 g หรือถ้าเป็นตัวอย่างน้ำเนื้อ (meat juice) ใช้ปริมาตร 5 ml
3. เติม 1 N sodium acetate ลงไป 8 ml เขย่าผสมเป็นเวลา 1 นาที
4. นำส่วนผสมในข้อ 3 ไปกรอง ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 ที่พับจีบเรียบร้อยแล้ว
5. นำสารละลายที่ผ่านการกรอง มาทดสอบต่อ โดยใช้ test strip แตะตัวอย่างอาหารที่ต้องการทดสอบ 2-3 วินาทีเพื่อให้แผ่นดูดซับน้ำหรือสารในอาหารเข้าไป
6. จากนั้นใช้ forcep นำแผ่นทดสอบออกมา และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วินาที โดยสังเกตว่ามีสีม่วงแดง (red-violet) เกิดขึ้น
7. นำไปเทียบกับ color scale ที่ติดอยู่บนกล่องเก็บ test strip

8. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบการตกค้างของไนเตรท/ไนไตรท์และปริมาณการตกค้าง (semi-quantitative method) โดยการเทียบความเข้มของสีที่เกิดขึ้น



ภาพ 12.1 Nitrate/nitrite test kits

12.2 ชุดทดสอบแบบที่ 2 Detection of nitrate/nitrite in processed foods

หลักการ

สารไนเตรทมักจะใช้เป็นปุ๋ยในการเกษตรกรรมเนื่องจากไนเตรทสามารถละลายได้ดี และย่อยสลายได้ง่ายในสิ่งแวดล้อมไนเตรทส่วนใหญ่เป็นเกลือของธาตุต่อไปนี้คือ แอมโมเนีย โซเดียม โปรแตสเซียมและแคลเซียมเป็นต้น ในแต่ละปีมีการใช้สารเหล่านี้เป็นจำนวนหลายล้านกิโลกรัมเพื่อใช้ในการเกษตรกรรม ไนเตรทผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นสารกันเสีย และไนเตรต ไนไตรท์มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อเพิ่มสีส้มและยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสัตว์แปรรูป ประกอบกับไนเตรตมีอยู่ตามธรรมชาติในดินน้ำและอาหาร ในวัฏจักรไนโตรเจนที่เป็นธรรมชาติแบคทีเรียจะเปลี่ยนไนโตรเจนเป็นไนเตรตซึ่งถูกนำมาใช้โดยพืชและรวมอยู่ในเนื้อเยื่อ สัตว์ที่กินพืชใช้ไนเตรตในการผลิตโปรตีน ไนเตรตถูกส่งกลับสู่สิ่งแวดล้อมในอุจจาระจากสัตว์เช่นเดียวกับการย่อยสลายของพืชและสัตว์หลังจากเสียชีวิต

ไนเตรตเป็นสารอาหารหลักของพืชที่ดูดมาจากดิน น้ำ ปุ๋ย เพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต ในสภาวะปกติของการเจริญเติบโตของพืช ไนเตรตจะถูกพืชดูดจากน้ำและดินเพื่อเปลี่ยนแปลงให้เป็นโปรตีนที่ใช้ในการเจริญเติบโตที่อัตราสม่ำเสมอ แต่ถ้าปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้อง ได้แก่ ฝนแล้ง น้ำค้างแข็ง ความเข้มของแสงอาทิตย์น้อยไป มีการใช้ สารเคมีกำจัดวัชพืช และพืชเป็นโรค เป็นต้น ภาวะดังกล่าวมีผลทำให้ พืชมีความเครียดเป็นสาเหตุให้มีการสะสมของไนเตรตสูง และเนื่องจากผักเป็นอาหารที่ทุกเพศทุกวัยต้องบริโภค การผลิตพืชผักนอกจากจะต้องปลอดภัยจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชแล้วจะต้องดูแลเรื่องการให้น้ำและปุ๋ย อย่างพอเหมาะบนพื้นฐานของการเกษตรที่ดี เพื่อมิให้พืชมีการสะสมของไนเตรตสูงเกินไป ซึ่งหากร่างกายเรารับประทานอาหารที่มีปริมาณไนเตรตสูงเป็นประจำ ไนเตรตจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรต์ ดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดไปรวมตัวกับฮีโมโกลบิน (hemoglobin) เกิดเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถนำ

ออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายได้ ในเด็กเล็ก การเกิดโรคของเม็ดฮีโมโกลบิน (Methemoglobinemia) ที่รู้จักกันในนามของ “blue baby disease” พบว่าในเลือดมีระดับของเม็ดฮีโมโกลบิน (Methemoglobin) และปริมาณไนเตรตสูง เด็กจะมีอาการท้องเสียแบบเฉียบพลัน โคม่า และตายได้ ดังนั้นในการดูแล ควบคุมระดับปริมาณไนเตรต ในอาหาร ไม่ว่าจะเป็นการควบคุมปริมาณ การใช้ไนเตรตในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก การเพาะปลูกพืชผัก หรือแม้แต่การใช้บริโภค จึงเป็นหน้าที่ที่ทั้งภาครัฐ เอกชน ผู้ผลิตที่เกี่ยวข้อง และผู้บริโภค จะต้องร่วมกันดูแลไม่ให้อาหารที่ทุกคนบริโภคมีปริมาณสารพิษ ทั้งสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้าง และปริมาณไนเตรตสูงเกิน ค่าความปลอดภัยเพื่อความ สุขภาพอนามัยที่ดี

อุปกรณ์ สารเคมี

1. Nitrate Test Kits (1 set/70 tests)
2. nitrate test reagent 35 tests จำนวน 2 ขวด
3. Standard A, B, C, D ชนิดละ 1 ขวด
4. ขวดหยดสำหรับใส่ตัวอย่าง 3 ชุด
5. Test tubes 7 หลอด

Nitrate test in drinking water

ค่าต่ำสุดตรวจได้ในน้ำ 2 ส่วนในล้านส่วน (ppm.)

1. Fill water sample to be tested in half of the bottle
2. Add nitrate test reagent into 2 test tubes, 20 drops each
3. Add standard D 1 drop into test tube 1 and add 1 drop of water sample into test tube 2, gently mix both tubes and stand for 10 min
4. After 10 min, gently mix both tubes and observe the development of blue color

Table 12.1

Interpretation of results

Development of color in test tube	Result
Tube with no color	No nitrate detected or less than 2 ppm
Tube with lighter blue compare to standard D	Amount of nitrate less than 10 ppm
Tube with darker blue or tube with the same blue or darker compared to standard D	Amount of nitrate equal to or more than 10 ppm (over the set standard for drinking water) confirm the result

Nitrate test in cured meat (Ham, Sausages)

1. Chop or grind the food sample to the very small pieces
2. Weigh 1 g of minced ham or sausages
3. Add 100 ml water, mix well, then divided into separated bottle about half a bottle
4. Add nitrate test reagent into 2 test tubes, 20 drops each
5. Add standard B, 1 drop into test tube 1 and add 1 drop of food sample into test tube 2, gently mix both tubes and stand for 10 min
6. After 10 min, gently mix both tubes and observe the development of blue color

Table 12.2

Interpretation of results

Development of color in test tube	Result
Tube with lighter blue compared to standard B	Amount of nitrate less than 500 mg/kg
Tube with the same blue or darker compared to standard B	Amount of nitrate equal to or more than 500 mg/kg (over the set standard for residues limit of food) confirm the residue

Nitrate test in fruits and vegetables

Note: Due to amount of nitrate residues in varieties of fruits and vegetables varied from 25- over 4,000 mg/kg. Therefore sample preparation of 1 g and the amount of water used depended on expertise of the investigator. In general it can be divided into 2 parts.

Part 1: proximate analysis of nitrate

1. Weigh 1 g of well minced /grinded sample, add water according to the suggested information below, mix well and allotted into sample bottle, half a volume
2. Add nitrate test reagent into 2 test tubes, 20 drops each

3. Add standard D, 1 drop into Test tube 1 and add 1 drop of food sample into test tube 2, gently mix both tubes and stand for 10 min
4. After 10 min, gently mix both tubes and observe the development of blue color

Table 12.3 Interpretation of results

Development of color in test tube	Result
Tube with lighter blue compared to standard D	Second examination for correct amount of nitrate residue
Tube with the dark blue or equal blue or darker compared to standard D	This shows that amount of water added was not correct, further diluted the sample to 2, 3, 4 times, then tested start from item 2 of part 1, consecutively. Until yield a lighter blue color compared to standard D, then tested the second time followed the protocol; for example minced 1 g food sample in 100 ml water, if color was darker than standard D, then take the sample from item 1 of part 1, 1 ml plus 1 ml water, become 2 ml, concentration of sample is $1 \text{ g}/100 \text{ ml} \times 2 = 200 \text{ ml}$ or test reagent 1 ml plus 2 ml water, this becomes 3 ml, therefore concentration of sample is $1 \text{ g}/100 \text{ ml water} \times 3 \text{ times} = 300 \text{ ml}$

Part 2: Nitrate analysis in sample compared to standard solution

1. Add nitrate test reagent into 5 test tubes, 20 drops each
 - Tube 1: Standard A solution
 - Tube 2: Standard B solution
 - Tube 3: Standard C solution
 - Tube 4: Standard D solution
 - Tube 5: Sample
2. Add standard A, B, C, and D, 1 drop into Test tube 1, 2, 3, 4 and add 1 drop of food sample into Tube 5, gently mix all tubes and stand for 10 min
3. After 10 min, gently mix all tubes and observe the development of blue color by comparing to color in Tubes 1-4. Then calculates the amount of nitrate residue in mg/kg from the Table below.

Table 12.4 แสดงปริมาณไนเตรตเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชนิดตัวอย่าง	1 g ของ ตัวอย่าง : ปริมาตรน้ำ เป็นml	น้ำยามาตรฐาน A mg/kg	น้ำยามาตรฐาน B mg/kg	น้ำยามาตรฐาน C mg/kg	น้ำยามาตรฐาน D mg/kg	การแปลผล
น้ำดื่ม	-	3	5	7	10	เกิดสีน้ำเงินเข้มในหลอดทดลอง ตัวอย่าง หรือสีใน หลอดตัวอย่าง เท่ากับหรือเข้มกว่าสีในหลอด น้ำยามาตรฐาน D แสดงว่า น้ำดื่มตัวอย่างนี้มีปริมาณไนเตรต เท่ากับหรือมากกว่า 10 mg/kg เกิน ค่าปริมาณสูงสุดที่องค์กรสิ่งแวดล้อม แห่งประเทศสหรัฐอเมริกา กำหนดน้ำดื่มไม่ให้เกิน 10 mg/kg
ผลิตภัณฑ์ เนื้อหมัก เช่น แยม ไส้กรอก เป็นต้น	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 100 ml	300	500	700	1,000	สีในหลอดตัวอย่าง เท่ากับหรือเข้มกว่าสีใน หลอดน้ำยามาตรฐาน B แสดงว่า ตัวอย่างนี้มี ปริมาณไนเตรต เท่ากับหรือมากกว่า 500 mg/kg เกินค่าปริมาณสูงสุดที่ สำนักงานคณะกรรมการ การอาหารและ ยา กำหนด ไม่เกิน 500 mg/kg
ผัก ผลไม้ เช่น มะเขือเทศ สับปะรด ผลไม้ หอมหัวใหญ่ มันฝรั่ง แครอท สีนฉ่าย กวางตุ้ง	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 5 ml	15	25	35	50	สำหรับตัวอย่างสับปะรดให้บด ตัวอย่าง 1g กับกับน้ำ 5 ml ภายหลังจากฟอรม์สีเปรียบเทียบกับน้ำยามาตรฐาน B แล้ว สีที่ เกิดขึ้นต้องอ่อนกว่า หลอดน้ำยามาตรฐาน B (the Thai acceptable level of nitrate in pineapple fruit should not exceed 25 mg/kg.)
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 10 ml	30	50	70	100	
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 20 ml	60	100	140	200	
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 50 ml	150	250	350	500	
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 100 ml	300	500	700	1,000	
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 200 ml	600	1,000	1,400	2,000	
ผักกินใบ: ต้นหอม ผักชี ผักกาดขาว ผักบุ้ง ผักขม ปวยเล้ง ผักกาดหอม คื่นช่าย กวางตุ้ง	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 500 ml	1,500	2,500	3,500	5,000	สีในหลอดตัวอย่าง (ผักขม ปวยเล้ง) เท่ากับหรือเข้มกว่า สีในหลอดน้ำยามาตรฐาน B แสดงว่าตัวอย่าง ผักมี ปริมาณไนเตรต เท่ากับหรือ มากกว่า 2,500 mg/kg เกินค่าปริมาณสูงสุดที่ ประเทศใน เครือสหภาพยุโรปกำหนด
	1 g ของ ตัวอย่าง : น้ำ 1,000 ml	3,000	5,000	7,000	10,000	

12.3 การตรวจหาสารบอแรกซ์ตกค้างในอาหาร (Detection of borax in processed foods)

หลักการ

บอแรกซ์เป็นสารเคมีสีขาวใสที่นิยมใช้ในอาหารที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไปในประเทศและอาจมีการปลอมปนลงในผงชูรสหรือในอาหารที่เรารับประทานเพื่อความกรอบกรอบของผลิตภัณฑ์อาหารได้ด้วยบอแรกซ์ที่ใช้มักอยู่ในรูปของ sodium borate ซึ่งมีสูตรทางเคมีดังนี้ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ สารนี้ใช้มากในอุตสาหกรรมเกษตรกรรม เครื่องสำอางและอื่นๆอีกมากมายรวมทั้งใช้เป็นส่วนผสมในยาฆ่าแมลง ยาฆ่าหญ้า ปุ๋ย ผ้กก้นไฟ เครื่องสำอางและสารดูแลอนามัยส่วนบุคคลอื่นๆนอกจากนี้ยังเป็นสารที่จำเป็นสำหรับสัตว์ชั้นสูงรวมทั้งมนุษย์ด้วยบอแรกซ์เป็นพิษต่อสัตว์ทุกชนิดที่ความเข้มข้นสูงกว่า 0.5 g/kg/day แต่ไม่เป็นสารก่อมะเร็งหรือก่อการกลายพันธุ์

บอแรกซ์หรือน้ำประสานทองมีลักษณะแตกต่างจากผงชูรสมาก คือ เป็นผงที่อาจมีลักษณะคล้ายแผ่นเศษกระจกหรืออาจเป็นก้อนเล็กๆมีสีขาว สารทั้ง 2 ชนิดเมื่อชิมรสเพื่อนไม่เหมือนผงชูรสแท้และเนื่องจากการปลอมปนผงชูรสในหลายลักษณะ เช่น ปนน้ำตาลหรือเกลือลงไปให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นยกตัวอย่างที่ใส่สารเคมี เช่น โซเดียมเมตาฟอสเฟตหรือใส่น้ำประสานทอง (บอแรกซ์) ซึ่งไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค สารโซเดียมเมตาฟอสเฟตนี้ถ้ารับประทานมากเกินไปจะทำให้เกิดอาการอูจจระร่วง สำหรับน้ำประสานทองถ้ารับประทานมากไปจะอาเจียน อูจจระร่วง ช็อคหมดสติและอาจถึงตายได้ในที่สุดนอกจากนี้พบว่าสารบอแรกซ์เป็นพิษต่อไตทำให้ทางเดินอาหารเกิดการระคายเคือง ถ้าเป็นผู้ใหญ่ได้รับสารบอแรกซ์ 15 กรัมหรือเด็กได้รับ 5 กรัมจะทำให้อาเจียนเป็นเลือดและอาจตายได้

การบริโภคอาหารที่มีสารบอแรกซ์เจือปนจะทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพกระทรวงสาธารณสุขจึงมีประกาศฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536) ห้ามนำบอแรกซ์มาเจือปนในอาหารแต่ปัจจุบันยังตรวจพบสารบอแรกซ์ในอาหารหลายชนิดดังนั้น กองอาหารจึงได้พัฒนาชุดทดสอบสารบอแรกซ์ในอาหารขึ้นเพื่อให้สามารถนำไปตรวจสอบสารบอแรกซ์ในอาหารนอกห้องปฏิบัติการได้อีกทั้งทราบผลได้รวดเร็วและมีความแม่นยำสูง ผู้ผลิตหรือจำหน่ายอาหารที่ผสมบอแรกซ์มีโทษจำคุกไม่เกิน 2 ปีหรือปรับไม่เกิน 20,000 บาทหรือทั้งจำทั้งปรับ การทดสอบต่อไปนี้จะทำให้เราสามารถตรวจสอบการปลอมปนด้วยตนเองได้ด้วยวิธีการที่ง่ายและสามารถทำได้ในระดับครัวเรือนทั่วไปทั้งนี้เพื่อเป็นการป้องกันผู้บริโภคจากอันตรายที่อาจเกิดขึ้นนั่นเอง

วิธีการทดสอบ

การตรวจสอบว่ามี sodium borate (borax) เจือปนอยู่กับผงชูรสหรือไม่ทำได้ดังนี้

1. เอาผงชูรสประมาณเท่าเม็ดถั่วเขียวละลายในน้ำสะอาดประมาณ 1 ช้อนชา
2. คนจนผงชูรสละลายหมดแล้วเอากะดาศหรือผ้าขี้มันจุ่มลงไปในน้ำยาที่ละลายไว้

การอ่านผล

1. ถ้าเป็นผงชูรสบริสุทธิ์กะดาศหรือผ้าขี้มันจะคงสีเหลืองอยู่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง
2. ถ้าผงชูรสนั้นมี sodium borate เจือปนอยู่กะดาศหรือผ้าขี้มันสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีแดงทันที

3. ถ้าหากมี sodium borate เจือปนอยู่เป็นจำนวนมากเมื่อทิ้งกระดาษหรือผ้าขี้มึนไว้ต่อไปสีแดงจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มและสีน้ำเงิน

วิธีทำกระดาษหรือผ้าขี้มึน

1. นำขี้มึนเหลืองที่บดแล้วประมาณ 1 ช้อนกาแฟแช่ในแอลกอฮอล์หรือสุราขาวประมาณ 10 ช้อนชา หรือ 3 ช้อนโต๊ะจะได้น้ำยาสีเหลือง
2. นำกระดาษสีขาวหรือเศษผ้าขาวจุ่มแล้วตากให้แห้งจะได้กระดาษหรือผ้าขี้มึนสำหรับเก็บไว้ตรวจได้ตามที่ต้องการ

หมายเหตุ: บุคคลทั่วไปสามารถทำกระดาษขี้มึนไว้ใช้เองได้ในครัวเรือนส่วนกระดาษขี้มึนในชุดทดสอบที่เหลืองเมื่อเปิดใช้แล้วต้องปิดฝาให้แน่นและไม่ให้ถูกแสง

ชนิดอาหารที่สามารถทำการตรวจสอบการปนเปื้อนบอแรกซ์

1. ลูกชิ้น
 2. ผงชูรส
 3. หมูปับปรุงรส
 4. อาหารอื่นๆ เช่น ทอดมันปลาบด หมูสด เนื้อสด ไส้กรอก ผลไม้ดอง ทับทิมกรอบ ลอดช่อง เป็นต้น
- คุณสมบัติของชุดทดสอบบอแรกซ์ในอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ชุดทดสอบ 1 ชุด ตรวจได้ 50 ตัวอย่าง ราคาชุดละ 100 บาท ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้คือ 100 มก./กก. เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 ปี น้ำยาทดสอบบอแรกซ์มีสภาพเป็นกรด หากหกเปื้อนมือหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของร่างกายให้ล้างด้วยน้ำสะอาดและฟอกสบู่ให้สะอาด

วิธีการตรวจสอบบอแรกซ์ (สารเนื้อแข็งและกรูบรอบ) ในอาหารแบบขององค์การเภสัชกรรม ทำได้ดังนี้

1. ตักอาหารมา 1 ช้อนใส่ในถ้วยที่ให้มีในกล่อง
2. เติมน้ำยาทดสอบบอแรกซ์ลงบนอาหารจนชุ่มแล้วกวนให้เข้ากัน
3. จุ่มกระดาษขี้มึนให้เปียกครึ่งแผ่น
4. นำกระดาษขี้มึนที่จุ่มในอาหารจนเปียกแล้ววางบนจานกระเบื้องหรือแผ่นกระจกแล้วนำไปวางไว้กลางแดดนาน 10 นาที

การอ่านผล

ถ้ากระดาษขี้มึนมีสีส้มจนถึงสีแดงแสดงว่าอาหารมีสารบอแรกซ์ (+ positive) ปนอยู่ไม่ควรนำมารับประทาน



ภาพ 12.2 ชุดทดสอบสารบอแรกซ์

ชุดทดสอบไฮโปคลอไรต์ (สารฟอกขาวกลุ่มคลอรีน)

หลักการ

สารไฮโปคลอไรต์หรือที่รู้จักกันทั่วไป คือ ผงปูนคลอรีนหรือคลอโรกซ์หรือสารฟอกขาวกลุ่มคลอรีน สารฟอกขาวกลุ่มคลอรีน เป็นแหล่งของคลอรีนที่สำคัญ มีฤทธิ์กัดกร่อนที่รุนแรง สามารถฟอกสีและทำลายจุลินทรีย์ได้ดี นิยมนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อทำความสะอาดและฆ่าเชื้ออุปกรณ์เครื่องมือ เครื่องใช้ รวมทั้งสุขภัณฑ์ที่ใช้ในห้องน้ำของครัวเรือน ผู้ผลิตอาหารบางรายนำไปใช้ในอาหาร เพื่อฟอกสีอาหารให้ขาวน่ารับประทานและไม่เน่าเสียเร็ว ดังนั้นจึงได้พัฒนาชุดทดสอบขึ้นเพื่อสามารถใช้ตรวจสอบได้ทราบผลรวดเร็วและแม่นยำ

จำนวนตัวอย่างชุดทดสอบ

ชุดทดสอบไฮโปคลอไรต์ (สารฟอกขาวกลุ่มคลอรีน) 50 ตัวอย่าง / ชุด

ตัวอย่าง

ลองกอง ถั่วงอก อาหารทะเลสด อาหารหมักดอง

วิธีการทดสอบ

1. กรณีสAMPLEของเหลวใช้ 5 ml ส่วนตัวอย่างไม่ใช่เนื้อผสมด้วยน้ำสะอาดพอท่วมแล้วคนให้เข้ากัน แล้วใช้ส่วนสารละลาย 5 ml เทลงถ้วยพลาสติก
2. ตักผงทดสอบเล็กน้อย (ปลายช้อน) แล้วเขย่าให้ผงทดสอบละลาย
3. คูดน้ำยาทดสอบจากขวดแก้วกลม 1 ml ลงถ้วยพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากัน
4. หยดน้ำยาทดสอบจากขวดหยดจำนวน 2 หยด ลงถ้วยพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากัน

การแปลผล ถ้าสารละลายมีสีน้ำเงินจนน้ำเงินเข้มดำ แสดงว่ามีสารไฮโปคลอไรต์ ถ้าสีไม่เปลี่ยนแปลงแสดงว่าไม่มีสารไฮโปคลอไรต์

ความไวชุดทดสอบ

ชุดทดสอบไฮโปคลอไรต์ ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้ (แคลเซียมไฮโปคลอไรต์) 1 mg/kg (1 ppm)

การเก็บรักษาชุดทดสอบ

ชุดทดสอบไฮโปคลอไรต์ (สารฟอกขาวกลุ่มคลอรีน) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อายุการเก็บรักษา 6 เดือน



ภาพ 12.3 ชุดทดสอบทดสอบไฮโปคลอไรต์

ชุดทดสอบกรดซาลิซิลิก (สารกันรา) ในอาหาร

หลักการ

การนำวัตถุกันเสียกันรา มาใส่ในน้ำดองผักผลไม้ที่วางจำหน่ายในตลาดเพื่อให้น้ำดองผัก ผลไม้ดูใส และใหม่อยู่เสมอ โดยกรดซาลิซิลิกเป็นสารเคมีตัวหนึ่งที่น่ามาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าว เนื่องจากกรดซาลิซิลิก เป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีแต่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ แต่เป็นสารที่ห้ามใช้ในอาหาร กระทรวงสาธารณสุขจึงได้กำหนดห้ามนำมาใส่เจือปนในอาหาร ปัจจุบันยังตรวจพบกรดซาลิซิลิกในอาหารหลายชนิด เช่น แหนม หมูยอ ผักผลไม้ดอง หน่อไม้อัดปิ้ง ถ้าผู้บริโภคได้รับสารกันราหรือกรดซาลิซิลิกจนมีความเข้มข้นในเลือดปริมาณ 25 ถึง 35 mg ต่อเลือด 100 ml จะมีอาการอาเจียน หูอื้อ มีไข้และอาจถึงตายได้

ตัวอย่างเป้าหมาย

น้ำดองผัก (ผักกาดดอง หน่อไม้ดอง กระเทียมดอง ชিংดอง ฯลฯ) น้ำดองผลไม้ เช่น มะม่วงดอง มะยมดอง มะกอก

จำนวนตัวอย่าง 50 ตัวอย่าง/ชุด

ความไวของชุดทดสอบ ระดับต่ำสุดที่ตรวจได้ 100 mg/kg

การเก็บรักษา เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง อายุการเก็บรักษา 2 ปี

การทดสอบ

1. เทน้ำดองผักหรือผลไม้ใส่ถ้วยเบอร์ 1 และเบอร์ 2 ถ้วยละ 5 ml (ควรกำหนดเบอร์บนถ้วยก่อนใส่ตัวอย่าง)
2. หยดน้ำยาทดสอบกรดซาลิซิลิก 1 ลงในถ้วยที่ 2 จำนวน 1 ml
3. เติมน้ำยาทดสอบกรดซาลิซิลิก 2 ลงในถ้วยทั้ง 2 ถ้วยละ 1 ml สังเกตสีที่เกิดขึ้นในถ้วยทั้ง 2 ทันที โดยไม่ต้องเขย่า

การประเมินผล

1. ถ้าถ้วยที่ 1 เกิดสีเดียวกับถ้วยที่ 2 (แต่ความเข้มของสีอาจไม่เท่ากัน) แสดงว่าอาหารนั้นมีกรดซาลิซิลิก
2. ถ้าถ้วยที่ 1 ไม่เกิดสีเดียวกันกับถ้วยที่ 2 แสดงว่าอาหารนั้นไม่มีกรดซาลิซิลิก

ข้อควรระวัง

-น้ำยาทดสอบกรดซาลิซิลิก 1 (สารละลายกรดซาลิซิลิก) และ 2 (สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)) เป็นกรดเล็กน้อยหากหกเปื้อนมือ ให้ล้างด้วยน้ำและฟอกสบู่ให้สะอาด

บทปฏิบัติการที่ 13

การตรวจสอบแคลเซียมในนมเบื้องต้น

บทนำ

แคลเซียมเป็นหนึ่งในองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดสำหรับร่างกายของเรา ในฐานะที่เป็นแร่ธาตุสำคัญของกระดูกและฟัน แม้แคลเซียมไม่ก่เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว แต่มีบทบาทสำคัญสำหรับกระบวนการภายในเซลล์หลายอย่าง เช่น การทำงานของเส้นประสาทและการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ ผลิตภัณฑ์นมและปลาที่มีแคลเซียมมาก โดยนํ้านมแพะมีแคลเซียม 134 มิลลิกรัม/ 100 กรัม นํ้านมโคมีแคลเซียม 122 มิลลิกรัม/ 100 กรัม

แคลเซียมมีอยู่สองรูปแบบหลักในนม ประมาณ 66% มีอยู่ในรูปของแคลเซียมฟอสเฟตคอลลอยด์ (CCP) ซึ่งแคลเซียมไอออนิกเกาะกับฟอสเฟต ซึ่งเชื่อมโยงกันกับเคซีน ส่วนที่เหลือเป็นแคลเซียมไอออนอิสระ ไอออนนี้มีความสมดุลกับฟอสเฟต คลอไรด์ คาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต ซัลเฟต และซิเตรต อย่างไรก็ตาม สัดส่วนของแคลเซียมฟอสเฟตคอลลอยด์ และไอออนอิสระแตกต่างกันไปในอัตราส่วน 2: 1 การแตกต่างของความเข้มข้นของแคลเซียมในนม อาจขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง คือ อุณหภูมิ ความแข็งแรงของไอออนิก ความเป็นกรด-ด่าง และต้นกำเนิดของนมจากสัตว์ เช่น อาหารสัตว์ สายพันธุ์สัตว์ ช่วงเวลาของปี รวมทั้งวิธีการแปรรูปนมที่ต่างกันเช่น การกรองของนม การผลิตโยเกิร์ตและการผลิตเนยแข็งอาจส่งผลต่อปริมาณแคลเซียมในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย

เทคนิคหาความเข้มข้นของแคลเซียมในตัวอย่างอาหารโดยทั่วไป คือ Inductively Coupled Plasma (ICP), Ion Chromatography (IC) และ Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) แต่อีกทางเลือกหนึ่งคือ การหาความเข้มข้นแคลเซียม โดยการ ionizing protein-bound calcium จากอุปกรณ์ตรวจขนาดเล็ก สามารถใช้ในการวัดปริมาณแคลเซียมทั้งหมดได้อย่างง่าย โดยการปรับสภาพตัวอย่างนํ้านมโดยเติมกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ด้วยความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4.3 ถึง 4.6 รอสารละลายนํ้านมตกตะกอนแล้วเก็บของเหลวมาทดสอบ หยดสารละลาย 250-300 ไมโครลิตร บนเซ็นเซอร์ LAQUAtwin Ca^{2+} แล้ววัดหลังจากนั้นล้างอุปกรณ์ด้วยนํ้าสุบที่เจือจางแล้วเช็ดด้วยกระดาษทิชชูนุ่มๆ

ตัวอย่าง นํ้านมดิบ นํ้านมเปรี้ยว

วิธีการทดสอบ

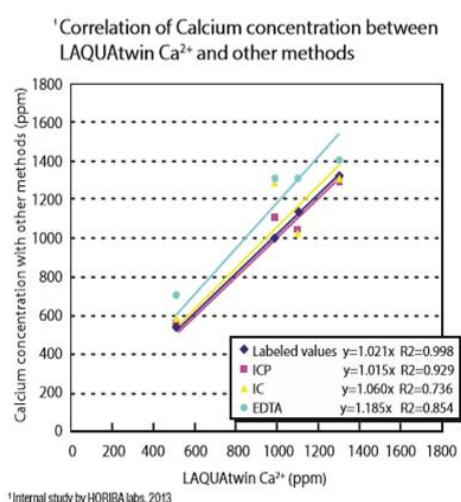
1. การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์นม 5 มล. ถูกจัดเตรียมและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($22 \sim 24^{\circ}\text{C}$) ระหว่างการตรวจวัด
2. เติมนํ้ากรด 100 ไมโครลิตร ของ 5 mol dm^{-3} HCl ไปยังตัวอย่าง

3. การเจือจางด้วยการเติมน้ำ (ion exchange water) ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร
4. เพิ่ม 0.05 g ของ Tris (hydroxymethyl) aminomethane เพื่อเจือจางตัวอย่างเพื่อควบคุม pH 4.3 ~ 4.6
5. เก็บตัวอย่างเจือจางไว้ 2-3 นาที (โปรตีนเคซีนจะตกตะกอนที่ pH 4.3 ~ 4.6 เนื่องจากจุดไอโซเลตของเคซีนเป็น 4.6)
6. เก็บ 5 มิลลิลิตรของของเหลวใส ส่วนบน (supernatant liquid)
7. เติม 0.0375 กรัมของ KCl ในสารละลาย (supernatant liquid) ในข้อที่ 6
8. ความเข้มข้นของแคลเซียม (Ca^{2+}) ในตัวอย่างจากเครื่องวัด ต้องนำมาคูณด้วย 10 เนื่องจากการเจือจางสิบเท่าของตัวอย่างผ่านการปรับสภาพก่อน

เหตุผล การควบคุมค่า pH ในตัวอย่าง ประการแรกการแทรกแซงของไฮโดรเจนไอออนทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการวัด และประการที่สองแคลเซียมไอออนอิสระที่แยกตัวออกมาจากสารประกอบแคลเซียมอาจรวมโปรตีนเคซีนและกรดแลคติก เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างสูงกว่า 4.6

การสอบเทียบเครื่องมือ ควรใช้สองสารละลายมาตรฐานก่อนการวัด สารละลายมาตรฐานแคลเซียม 150 ppm และ 2000 ppm ($3.74 \text{ mmol dm}^{-3}$ และ $49.9 \text{ mmol dm}^{-3}$ ที่ CaCl_2) ใช้สำหรับการสอบเทียบสองจุด และใช้สารละลาย 0.1 mol dm^{-3} KCl เพิ่มลงในสารละลายมาตรฐานเป็นอิเล็กโทรไลต์

ตัวอย่างผลการศึกษา ความเข้มข้นของแคลเซียม โดยการ ionizing protein-bound calcium จากอุปกรณ์ตรวจขนาดเล็ก จากการศึกษา correlation coefficient ได้ค่า R^2 คือ 0.952 เมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นๆ ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13.1 การศึกษา correlation coefficient ในการตรวจสอบแคลเซียมในนม เมื่อเทียบกับเทคนิคต่าง ๆ

คุณลักษณะเฉพาะของเครื่องมือวัดค่าแคลเซียมไอออน

1. ช่วงในการวัด 4 ถึง 9900 ppm (mg/L)
2. ค่าความละเอียด 0 ถึง 99 ppm :1 ppm 100 ถึง 990 ppm :10 ppm 1000 ถึง 9900 ppm :100 ppm
3. ค่าความถูกต้อง $\pm 20\%$ ของมาตรเต็ม
4. ช่วงการวัดอุณหภูมิ 0 ถึง 50 °C
5. ค่าความละเอียด 0.1 °C
6. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการใช้งานอยู่ระหว่าง 5 ถึง 40 °C



ภาพที่ 13.2 อุปกรณ์ตรวจสอบแคลเซียมในนม

บทปฏิบัติการที่ 14 การตรวจสอบเบื้องต้นของโลหะหนักตกค้างในผลิตภัณฑ์อาหาร

การตรวจสอบเบื้องต้นของโลหะหนักตกค้างในผลิตภัณฑ์อาหาร

(Screening of heavy metal in processed foods)

หลักการ

โลหะหนักมีความหมายได้หลายนิยามเนื่องจากแนวคิดที่แตกต่างกันของนักวิทยาศาสตร์ ซึ่งอาจพิจารณาจากค่าความถ่วงจำเพาะ ความหนาแน่น น้ำหนักอะตอม หมายเลขอะตอม หรือตำแหน่งในตารางธาตุ เช่น โลหะหนัก คือ กลุ่มธาตุที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่า 4 ขึ้นไป หรือ ความหนาแน่นตั้งแต่ 3.5 g/cm^3 ถึงมากกว่า 7 g/cm^3 หรือ น้ำหนักอะตอมมากกว่า 22.98 ถึงมากกว่า 40 หมายเลขอะตอมตั้งแต่ 20 ขึ้นไป หรือโลหะในกลุ่มที่ 3 ถึง 16 ของ period ที่ 4 หรือมากกว่าในตารางธาตุ เป็นต้น (Duffus, 2002; Hawkes, 1997) ตัวอย่างของโลหะหนัก ได้แก่ ทองแดง เงิน ทองคำ ทองคำขาว สังกะสี ตะกั่ว ดีบุก โครเมียม ทังสแตน แคดเมียม พรอท บิสมัท พลวง ไททาเนียม แทนทาลัม โคบอลต์ ยูเรเนียม นิเกิล แมงกานีส โมลิบดีนัม และเบอรั่มสเนียม ในปัจจุบันโลหะหนัก 4 ชนิด คือ สารหนู (arsenic, As) ตะกั่ว (lead, Pb) พรอท (mercury; Hg) และแคดเมียม (cadmium, Cd) เป็นเป้าหมายหลักของเกือบทุกประเทศในการศึกษาและป้องกันควบคุม เนื่องจากมีปริมาณการใช้และมีความเป็นพิษสูง ปัญหาการสะสมของโลหะหนักส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของมนุษย์ เช่น โรงงานอุตสาหกรรม น้ำเสีย ปุ๋ยเคมี การทำเหมือง เป็นต้น ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทำให้มีการใช้แบตเตอรี่จำนวนมาก โดยพบว่าในแบตเตอรี่มีโลหะหนักประกอบหลายชนิด เช่น นิเกิล ลิเทียม ทองแดง ตะกั่ว และ แคดเมียม ซึ่งหากไม่มีวิธีการกำจัดที่ถูกต้องโลหะหนักเหล่านี้ก็จะสะสมอยู่ในดินและแหล่งน้ำ ถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารทั้งพืชและสัตว์มาสู่มนุษย์หรือมนุษย์ได้รับโดยตรงจากการหายใจหรือผ่านทางผิวหนัง แล้วเกิดอันตรายต่อสุขภาพมนุษย์ โดยกลไกการเกิดพิษที่สำคัญของโลหะหนัก คือ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โลหะหนักเข้าแทนที่เอนไซม์สำคัญทำให้เอนไซม์ทำงานผิดปกติหรือไม่ทำงาน และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชีวโมเลกุล การเกิดพิษจากการได้รับโลหะหนักมีตั้งแต่การเกิดพิษทั่วไปจนถึงการเกิดมะเร็ง หน่วยงานต่างๆที่เกี่ยวข้องจึงต้องกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนเพื่อป้องกันอันตรายต่อสุขภาพมนุษย์ เช่น สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของตะกั่วในเนื้อสัตว์ปีกและเนื้อสุกร ไม่เกิน 0.1 mg/kg เครื่องในสัตว์ ปกและสุกร ไม่เกิน 0.5 mg/kg กุ้งแช่เย็น ไม่เกิน 0.5 mg/kg และปลาทูนในภาชนะบรรจุปิดสนิท ไม่เกิน 0.4 mg/kg เป็นต้น นอกจากนี้กรมควบคุมมลพิษยังกำหนดค่ามาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม ต้องมีปริมาณตะกั่วไม่เกิน 400 mg/kg มาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอื่นนอกเหนือจากการอยู่อาศัยและเกษตรกรรมต้องไม่เกิน 750 mg/kg เป็นต้น การวิเคราะห์โลหะหนักใช้วิธี

วิเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry หรือ Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry หรือ Atomic Absorption Spectrometry หรือวิธีอื่นที่หน่วยงานผู้รับผิดชอบตามกฎหมายเป็นผู้กำหนด แต่เนื่องด้วยวิธีการทดสอบดังกล่าวข้างต้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและต้องใช้งบประมาณในการตรวจวิเคราะห์จำนวนมาก จึงมีการพัฒนาชุดตรวจสำเร็จรูปขึ้นมาใช้เพื่อความสะดวกรวดเร็วและเป็นการคัดกรองเบื้องต้น ซึ่งในบทปฏิบัติการนี้ก็จะใช้ชุดตรวจสำเร็จรูปในการเรียนการสอน คือ MQuant™ Lead Test Strips (Blei-Test), 20-500 ppm (Merck™, Germany)

หลักการของชุดทดสอบ

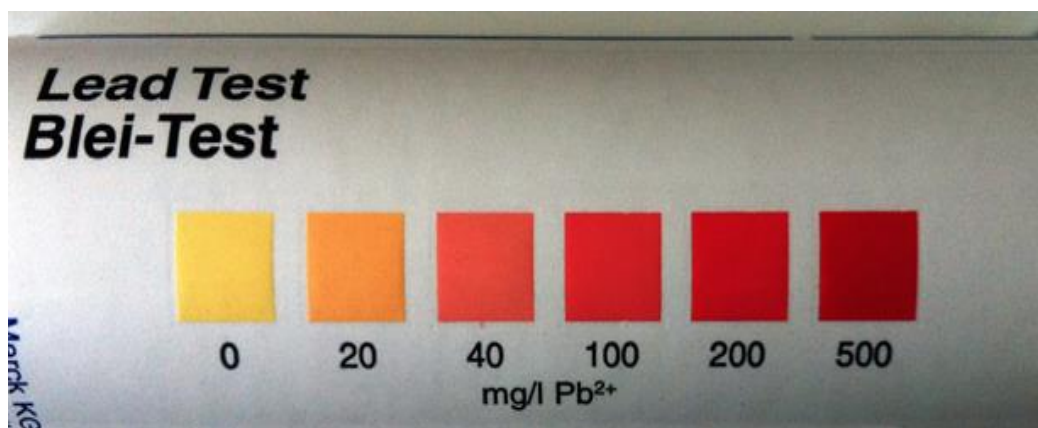
สารละลายในสภาวะกรดของตะกั่วทำปฏิกิริยาทางเคมีกับกรดโรดิโซนิก (rhodizonic acid) ได้สารประกอบสีแดง การวัดปริมาณตะกั่วโดยการเทียบเคียงกับโซนสีที่เกิดขึ้น (6 สี) ซึ่งแต่ละสเกลของโซนสีเทียบได้กับปริมาณ 0, 20, 40, 100, 200 และ 500 ppm



ภาพ 14.1 ชุดทดสอบ MQuant™ Lead Test Strips (Blei-Test) (Merck™, Germany)

วิธีการทดสอบ

1. นำตัวอย่างน้ำหรือสารละลายที่ได้จากตัวอย่างปริมาตร 5 มล. ใส่ในหลอดแก้ว วัดค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่า pH ระหว่าง 2 – 5
2. หากค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่า pH มากกว่า 5 ให้เติม Reagent Pb-1 จำนวน 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่า pH ระหว่าง 2 – 5 อีกครั้ง
3. หากตัวอย่างยังมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่อยู่ในช่วง pH ระหว่าง 2 – 5 ให้เติมด้วยกรดไนตริก จนกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะได้ตามกำหนด
4. นำ test strips ด้านที่มีสัญลักษณ์สีส้ม (reaction zone) จุ่มลงในสารละลายตัวอย่างโดยใช้เวลาเพียง 1 วินาที
5. แกว่ง test strips ในแนวเฉียงขึ้นเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปเปรียบเทียบกับสเกลของโซนสีที่เกิดขึ้นโดยทันที บันทึกผลการทดลอง (หน่วยเป็น mg/l Pb^{2+})
6. กรณีที่ค่าที่อ่านได้มากกว่า 500 ppm (มีสีเข้มมากกว่าโซนสีที่กำหนด) ให้เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ตัวอย่างชนิดเดียวกับขั้นตอนแรกและทำตามขั้นตอนต่างๆ แต่ในการคำนวณปริมาณตะกั่วที่ตรวจพบให้คำนวณจากปริมาณที่วัดได้คูณด้วยค่า dilution factor



ภาพ 14.2 สเกลของโซนสีและปริมาณตะกั่ว

- 1) สมมติว่าปริมาณตะกั่วในตัวอย่างที่นักศึกษาใช้ทดสอบ คือ เนื้อไก่ (และมีหน่วยเป็น mg/kg) ซึ่งเป็นเนื้อไก่ที่ต้องการส่งออกไปยังประเทศในสหภาพยุโรป นักศึกษาจะสรุปผลอย่างไร

บทปฏิบัติการที่ 15 การวิเคราะห์เมลามีนตกค้างในอาหาร

หลักการ

เมลามีน เป็นสาร organic base และเป็น trimer ของ cyanamide โดยมีส่วนประกอบเป็น 1, 3, 5-triazine เช่นเดียวกับกับ cyanamide เมลามีนจะประกอบไปด้วยไนโตรเจนถึง 67% โดยน้ำหนักและเมื่อนำไปผสมกับ resins จะมีคุณสมบัติในการเป็นสารดับเพลิง (fire retardant properties) เนื่องจากมันสามารถปลดปล่อยแก๊สไนโตรเจนได้เมื่อถูกเผาไหม้และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อีกหลากหลายในอุตสาหกรรมต่างๆ เมลามีนเป็น metabolite ของ cyromazine ซึ่งเป็น pesticide มันสามารถนำไปใช้สร้างโครงสร้างกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammals) ที่ย่อย cyromazine ได้ มีรายงานว่า cyromazine สามารถเปลี่ยนเป็น melamine ได้ในพืชชนิดต่างๆ เมลามีน เมื่อรวมกับ cyanuric acid และสารประกอบอื่นๆ จะสร้างสารประกอบใหม่คือ melamine cyanurate และ ทำให้เกิดผลึกของสารประกอบต่างๆ ได้ ซึ่งสารนี้ถือว่าเป็น contaminants หรือ biomarkers ในกระบวนการ Chinese protein adulterations ในประเทศจีน บางครั้งสารเมลามีนจะถูกจงใจใส่เข้าไปในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน เมลามีนใช้เป็น non-protein nitrogen (NPN) สำหรับปศุสัตว์เช่นที่เคยอธิบายไว้ลิขสิทธิ์ เมื่อปี ค.ศ. 1958 patent ในปี ค.ศ. 1978 ในการศึกษาที่สรุปว่า melamine อาจจะเป็นแหล่งโปรตีนที่ไม่สามารถยอมรับได้สำหรับ ruminants เนื่องจากมันสามารถ hydrolysis ในตัวโคค่อนข้างช้า และเทียบไม่ได้กับไนโตรเจนที่ได้มาจากพืชจำพวก cottonseed meal และสาร urea

การทดสอบมาตรฐานต่างๆ เช่น Kjeldahl และ Dimas tests เพื่อประมาณการระดับของโปรตีนโดยการวัด nitrogen content ดังนั้นจึงมีผู้พยายามใช้สารที่มีส่วนประกอบเป็นไนโตรเจนจำนวนมาก เช่น เมลามีน เป็นสารทดแทนแบบไม่ถูกกฎหมาย

ความไวชุดทดสอบ ทดสอบความเข้มข้นเมลามีนต่ำสุด 1 ppm

อายุการเก็บรักษา เก็บที่อุณหภูมิห้อง อายุการเก็บรักษา 3 ปี

ชุดทดสอบเมลามีน เป็นวิธีทดสอบอย่างง่ายใช้หลักการ Chemical Test ด้วยการเทียบสี จึงสามารถทดสอบเบื้องต้นและรู้ผลได้ทันที

ตัวอย่าง

ปลาป่น โปรตีนจากพืช เช่น corn gluten , soy bean meal, soy protein , rice bran, rice protein concentrate นมผง

ตัวอย่างอาหารที่ต้องนำมาตรวจสอบการปนเปื้อนตกค้างของเมลามีน: สามารถตรวจสอบได้ทุกชนิดอาหาร ในกรณีที่อาหารเป็นผง ให้ชั่งมา 8 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มล และเติม distilled water ใน

สัดส่วน 1:10 คนให้เข้ากัน และปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ถ้ามีเมลามีนจะเห็นเป็นผลึกตะกอนสีขาวให้กรองตะกอนด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 4 (Whatman no. 4) และใช้ทดสอบกับชุดทดสอบ C

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ

1. Dropper
2. Spot plate
3. Distilled water
4. Test kit solution C (negative control)
5. Standard melamine 0.1% (positive control)

วิธีการทดสอบเมลามีนตกค้างในอาหาร

ขั้นตอน รายละเอียด

1. ถาดหลุม porcelain สีขาว หรือถาดสี หรือแผ่นกระจก หรือจานเพาะเชื้อ จุดหรือหลุมที่ 1 ใส่น้ำกลั่นลงไป 10 หยด (negative control)
2. จุด หรือหลุมที่ 2 ใส 0.1% standard melamine จำนวน 10 หยด (positive control)
3. จุด หรือหลุมที่ 3 ใส ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบลงไป 10 หยด
4. นำสารละลายชุดทดสอบ C มาหยดลงไป 1-2 หยดในทุกๆ จุดที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ทั้ง 3 จุด
5. เปรียบเทียบผลกับทั้ง two standards ทั้ง negative และ positive control
Negative = yellow
Positive = heavy red cherry color
6. ถ้ามีสีแดงสดแบบ red cherry color คือผล positive ตรวจสอบซ้ำอีกครั้งโดย เติมน้ำกลั่น 10 เหยด้วยน้ำกลั่น (1 หยดของตัวอย่างต่อ 9 หยดของน้ำกลั่น) และหยดสารละลาย ลงไป 1-2 หยด
7. เมื่อยังให้ผลเป็น cherry red color แสดงว่าสารละลายตัวอย่างอาหารที่นำมาตรวจมีการปนเปื้อนตกค้างของ melamine สูงกว่าที่จะยอมรับได้ (limit of tolerable daily intake, TDI)
8. รายงานผลการทดสอบ



ภาพ 14.1 ชุดทดสอบเมลามีนและ ผลการทดสอบ

บรรณานุกรม

กรมควบคุมมลพิษ (<http://www.pcd.go.th/>)

กระทรวงสาธารณสุข. 2554. พระราชบัญญัติ อาหาร พ.ศ.2522 พร้อมกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับ ปรับปรุงปี 2554). นนทบุรี: สำนักอาหาร สำนักงาน คณะกรรมการอาหารและยา.

นิธิยา รัตนานนท์. 2557. พิมพ์ครั้งที่ 5. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, สุดสาย ตริวานิช, วราภา มหากาญจนกุล. 2558. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี 2561. การประเมินทางประสาทสัมผัส. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ วีรานุช หลาง. 2552. คู่มือตรวจวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศุภชัย เนื่อนสวัสดิ์. 2552. ความปลอดภัยของอาหาร (FOOD SAFETY). กรุงเทพฯ : ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (<http://www.acfs.go.th/>)

สำนักงานอาหารและสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2562. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎหมายและประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2562). http://www.fda.moph.go.th/sites/food/law1/food_law.pdf

Abdullah, B., Mutlu, S., Hasan, G. and Civelek, T. 2000. Effect of borax on serum lipid profile in dogs. Online Journal of Veterinary Research 4Z6X: 153-156.

Duffus J.H. 2002 "Heavy Metals"—A Meaningless Term?' Pure and Applied Chemistry, 74(5): 793–807.

EURL for heavy metals in feed and food. (<https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/heavy-metals>).

Codex Current Official Standards. (<http://sfpa.acp.int/en/content/codex-current-offical-standards>).

Hawkes, S.J. 1997. 'What is a "Heavy Metal"?'. Journal of Chemical Education, 74(11) 1374.

The Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (<http://www.atsdr.cdc.gov/>).

Lowry, P.D. and Bates, M.L. 1989. Identification of *Salmonella* in the meat industry: biochemical and serological procedures. Meat. Ind. Res. Inst. N.Z. Publ. No. 860.

Reid, C.M. 1991. Evaluation of rapid method for detection of *Salmonellae* from meat and meat products. Meat Ind. Res. Inst. N.Z. Publ. No. 864.

ภาคผนวก

น้ำบริสุทธิ์ (Purified Water) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์

ความบริสุทธิ์ของน้ำมีความสำคัญอย่างมากต่องานในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ เนื่องจาก Trace impurity ที่พบได้บ่อยในน้ำกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บางสายพันธุ์ได้ จากน้ำในธรรมชาติย่อมมีสิ่งต่างๆ ละลายหรือปะปนอยู่มากมาย ทั้งนี้สามารถมองเห็นและมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ซึ่งต้องหาวิธีทางที่จะกำจัดมันออกไปจากน้ำ ความจำเป็นในการทำน้ำให้บริสุทธิ์จะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ในการใช้น้ำและคุณสมบัติของน้ำดิบที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำบริสุทธิ์ แต่ก็ไม่มีวิธีการทำน้ำให้บริสุทธิ์วิธีใดเลยในขณะนี้ที่จะทำให้ น้ำบริสุทธิ์จนใช้งานได้เพียงขั้นตอนเดียว ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากน้ำดิบได้ทั้งหมด แต่อย่างไรการใช้วิธีการทำน้ำให้บริสุทธิ์มากกว่า 1 วิธี ร่วมกันจะทำให้เราสามารถผลิตน้ำบริสุทธิ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานได้

สิ่งปนเปื้อนในน้ำบริสุทธิ์มี 4 ประเภท คือ

- สาร Inorganic
- สาร Organic
- Bacteria
- Particles

สาร Inorganic ที่ละลายอยู่ในน้ำมักประกอบด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี เหล็ก และเกลืออื่นๆ รวมทั้งโลหะหนัก (heavy metals) ซึ่งจะ form ion อยู่ในน้ำ ส่วนสาร Organic ที่ปนเปื้อนมักจะมีมาจากฝนและน้ำที่ไหลผ่านผิวดินซึ่งประกอบไปด้วย Lignin สาร Tannins สาร Detergents (เช่น ผงซักฟอก) Humic acid และ By-products ของการเน่าสลายของพืชผักต่างๆ (Vegetable decay) แต่ก็มีบางส่วนที่อาจมาจากยาฆ่าแมลง หรือยาปราบวัชพืชที่กระจายอยู่ในไร่นา ขึ้นอยู่กับว่าน้ำดิบมาจากไหน และมีอะไรปนเปื้อนในน้ำดิบ

แบคทีเรียและ By-products ของแบคทีเรียที่เราเรียก Endotoxins หรือ Pyrogens แบคทีเรียสามารถที่จะสร้างและปล่อย Proteases ที่สามารถที่จะ degrade เอ็มไซม์ในปฏิกิริยาที่เราต้องการจะให้มันเกิดขึ้น หรือในกรณีที่มันสร้าง Pyrogens ซึ่งเป็น Lipopoly – saccharides จาก cell wall ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ แม้ว่า Pyrogens จะมีปริมาณเล็กน้อยแต่ก็สามารถขัดขวางการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันร่างกายอันเป็นสาเหตุให้เกิดอาการไข้

Particles ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำอาจทำให้เกิดปัญหาสองทาง คือ อาจไปอุดตันใน precision moving parts ของเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ และไปบังจุลชีพจาก Disinfection ต่าง ๆ ทำให้ยังมีจุลชีพหลงเหลืออยู่ในระบบได้

ระบบการผลิตน้ำ แบ่งได้ 4 ขั้นตอน ได้แก่

1. Pretreatment
2. Treatment System

3. Water Holding System

4. Distribution System

1. Pretreatment เป็นขั้นปรับปรุงคุณภาพน้ำเบื้องต้น อาจใช้ทุกวิธีหรือเพียงบางวิธีขึ้นกับคุณภาพน้ำดิบ จุดประสงค์กำจัดสารแขวนลอยในน้ำดิบ ตามลำดับ

- Prefilter เป็นขั้นตอนเอาฝุ่นผงขนาดใหญ่ ประมาณ 10 ไมครอน ที่แขวนลอยในน้ำดิบออก ลดความขุ่น โดยปกติใช้ทราย หรือใช้วิธีการตกตะกอนจับตัวสารแขวนลอยด้วยวิธี Coagulation / Flocculation
- การฆ่าเชื้อ โดยเติม Free Chlorine 0.2 mg/L (วิธีเอา Chlorine ออกใช้วิธี Heat หรือ flushing เป็นระยะ ๆ หรือเติม Ozone (วิธีเอา Ozone ออกโดยการให้สัมผัสแสง UV)
- Carbon filter กรองน้ำด้วย Activated carbon (ถ่านกัมมันต์) จะจับเอาสารอินทรีย์ กลิ่น สี และคลอรีนออก
- ขจัดความขุ่น ใช้ถังพัก ตกตะกอน หรือกรองด้วยกรวด ทราย ถ่าน หรือกรองผ่านสารกรองแอนทราไซด์
- การขจัดเหล็ก แมงกานีส โดยใช้ผ่านสารกรองแมงกานีสกรีนแซนด์
- * ปัญหาผงถ่านเป็นแหล่งสะสมแบคทีเรีย

2. Treatment System ปรับคุณภาพให้มีคุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ ตามข้อกำหนดมาตรฐานต่าง ๆ เช่น มาตรฐานน้ำดื่มตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

2.1 ระบบ Softener เป็นระบบปรับปรุงคุณภาพน้ำให้เป็นน้ำอ่อน ใช้ดีม ซัลเฟตแลกเปลี่ยนประจุลบ ปรับคุณภาพน้ำก่อนเข้าระบบ Deionization โดยใช้สารกรองโซเดียมเรซิน เป็น Copolymer ระหว่าง Styrene กับ Divinyl-Benzene (DVB) จากสารกรองมีจำนวนจำกัด เมื่อใช้งานนาน ประจุอิสระลดลง ประสิทธิภาพการจับประจุบวกลดลง จนหมดประสิทธิภาพ จึงสามารถตรวจสอบเบื้องต้นได้ว่ามี Chloride จะ Leak ออกมาก่อน ด้วยวิธีทดสอบหยดน้ำยา AgNO_3 ลงในน้ำที่จะทดสอบปรากฏว่าความขุ่นสีขาว เทียบเป็นค่าตัวนำไฟฟ้าได้ ประมาณ 3-5 microohms แต่สามารถใช้เรซินได้อีก โดยเติมสารละลายเกลือแกง 10%

2.2 ระบบ Deionization [Ion Exchange] เป็นระบบปรับน้ำชนิด Purified water ใช้ในการผสมและผลิตยา ชีววัตถุ ชีวภัณฑ์ ด้วยการขจัดสารละลายที่มีประจุบวก ประจุลบออกจากน้ำ ประกอบด้วยสารกรองประจุบวก สารกรองประจุลบ

- สารกรองประจุบวกเป็น Copolymer ระหว่าง Styrene กับ Divinyl Benzen เติม Sulphoric Group ให้เกาะกับเม็ดเรซิน มีคุณสมบัติชอบน้ำ ยอมให้น้ำผ่าน [Hydrophilic & Water Permeable] โดยจะแสดงประจุลบขณะเดียวกัน H^+ จะสามารถแตกตัวเคลื่อนไหวได้อิสระ พร้อมจะแลกเปลี่ยนประจุบวกที่มีอยู่ในน้ำ

เมื่อเรซินถูกใช้ไปจะต้องมีการ Regenerate ด้วยกรดเกลือ HCl 5-7%

- สารประจุลบ เป็น Copolymer ระหว่าง Styrene & Divinyl-Benzene Active group เป็น Quaternary Ammonium group โดยตัวเองจะแสดงประจุบวกและ Choline สามารถแตกตัวออก แลกเปลี่ยน ประจุลบของสารละลายในน้ำ ดังสมการ

ข้อจำกัดระบบ Deionization (Ion Exchange)

- ก. ไม่สามารถกำจัด สารประกอบที่เป็น Trivalent Cation / Anion และตัวสารประกอบประเภทนี้จะไปเคลือบผิวของเรซิน ทำให้เรซินลดประสิทธิภาพลง
- ข. แร่ธาตุ Barium, Strontium จะไปรวมกันกับอนุมูล Sulphate (SO_4^-) เป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ

วิธีการไล่ก๊าซที่ละลายในน้ำ (Degasifier) มี 2 วิธี คือ

1. Forced Draft Decarbonator

เริ่มต้นให้น้ำที่ต้องการ Degasify ถูกปล่อยจากด้านบนตกลงเป็นฝอย และมีพัดลมติดอยู่ด้านล่าง ดูดอากาศให้วิ่งสวนทางกับทิศทางของน้ำ จะพาเอา CO_2 ออกจากน้ำไปด้วย สามารถลด CO_2 เหลือต่ำกว่า 100 ppm. แต่มีข้อเสีย คือ ก๊าซออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen gas) เพิ่มขึ้น

2. Vacuum Degasifier เริ่มต้นน้ำจะถูกปล่อยจากด้านบนตกลงเป็นฝอย ติด Vacuum Pump

ดูดอากาศ ภายในออกซึ่งวิธีนี้ลดปริมาณ CO_2 เหลือต่ำกว่า 100 ppm. ก๊าซออกซิเจน และก๊าซระเหยอื่นจะถูกกำจัดออกไปพร้อมกัน

สารละลายประจุบวก ประจุลบ อาจพบเหลืออยู่หลังจากผ่านสารกรองประจุบวกและประจุลบ จึงต้องกำจัดออกให้หมด หรือเหลือน้อยที่สุดตามมาตรฐานกำหนดโดยผ่านคอลัมน์ Mixed Bed ซึ่งมีสารประจุบวก ประจุลบ บรรจุในคอลัมน์

การออกแบบเครื่องสำหรับปรับคุณภาพน้ำ ต้องคำนึงถึงคุณภาพน้ำดิบ ราคา ค่าใช้จ่าย การบำรุงรักษา โดยพิจารณา Total Solid และความกระด้างของน้ำ pH เกิน 7 เล็กน้อย มีรายละเอียด ดังนี้

1. Total Solid น้อยกว่า 500 ppm (mg/L) และความกระด้างคิดเป็นค่า CaCO_3 น้อยกว่า ppm (mg/L) ให้เลือกวิธี Softener (กรณีน้ำบริโภคน้ำ)
2. Total Solid มากกว่า 500 ppm (mg/L) และความกระด้างคิดเป็นค่า CaCO_3 มากกว่า ppm (mg/L) ให้เลือกวิธี Deionization (กรณีผลิตน้ำบริโภคใช้เป็น Partial Deionization)

2.3 ระบบ Reverse Osmosis เป็นระบบปรับคุณภาพน้ำชนิดหนึ่ง ใช้แรงดันที่มากกว่าความดันออสโมติกไปยังสารละลายที่มีความเข้มข้นมาก ให้โมเลกุลน้ำซึมผ่าน Semipermeable membrane (Solid Polymer film) ไปยังความเข้มข้นน้อย จึงเป็นวิธีที่สามารถแยกสิ่งปนเปื้อนในน้ำออกได้

ระบบ Reverse Osmosis เป็นระบบประหยัดที่สุดในการกำจัด Particles Pyrogens Microorganisms Colloids และ Dissolved inorganic ออกได้ 90-99% ของสิ่งปนเปื้อน

ดังนั้นวิธี Reverse osmosis (R.O.) นั้น R.O. membranes มีความสามารถกรอง Particles , Bacteria และ Organic ที่มีขนาดใหญ่กว่า 200 daltons ซึ่งรวมทั้ง Pyrogens ด้วยหลักการของ molecular sieving

2.4 วิธีการกรองที่มีความละเอียดสูง (Ultrafiltration or U.F.)

ตัว membrane ของวิธี U.F. จะทำหน้าที่คล้ายกับ molecular sieve ที่จะแยก Dissolved molecules ตามขนาดของมันโดยผ่าน infinite similarly fine filter โดย U.F. จะเป็น membrane บางๆ และเป็น selectively permeable membrane จะกรอง macromolecules ทั้งหมดตามขนาดที่ระบุรวมถึง Colloids, larger molecular weight organic Microorganisms และ Pyrogens ส่วนโมเลกุลที่เล็กกว่า เช่น Solvent และ Ionized contaminants จะผ่านการกรองวิธีนี้ได้

2.5 วิธีการกรอง (Microporous membrane filtration) มีอยู่ 3 วิธี คือ

- Depth Microporous Filtration
- Surface Microporous Filtration
- Screen Microporous Filtration

Depth Microporous Filtration จะประกอบไปด้วย matted fibers หรือ materials ที่ถูกบีบอัดให้เกิด matrix ซึ่งจะกรองโดยอาศัยหลักการของ random adsorption หรือ entrapment

Surface Microporous Filtration จะประกอบไปด้วย multiples levels of media เมื่อน้ำดิบผ่านระบบนี้ Particles จะใหญ่กว่า spaces ภายใน filter matrix จะถูกกรองได้และสะสมอยู่ที่พื้นผิว

Screen Microporous Filtration จะเป็นการกรองผ่าน uniform structure ซึ่งคล้ายกับ window screen หรือ sieve ซึ่งจะกรอง Particles ที่ใหญ่กว่า pore size ที่ระบุไว้

จากความแตกต่างที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำให้เรามักจะเลือกใช้ Depth Microporous filters สำหรับเป็น Prefilter เพราะเป็นวิธีที่มีราคาถูกที่สามารถเอา suspended solids ได้ไม่น้อยกว่า 98% ออกจากน้ำดิบ เพื่อจะป้องกันน้ำที่ผ่านออกไปไม่ให้เกิดการอุดตันหรือขัดขวางในวิธีที่เราเลือกใช้ต่อไปจากนี้

Surface Microporous filtration จะสามารถเอา suspended solids ออกได้ 99.99% และมักจะถูกเลือกใช้ทั้งเป็น Prefilters หรือ Clarifying filters ส่วน Screen Microporous filtration จะถูกนำไปใช้ในขั้นตอนสุดท้ายของระบบเพื่อกรองเอาส่วนที่เหลือ เช่น traces of resin fragments, carbon fines , colloidal particles และ microorganism ตัวอย่างของ Screen Microporous filtration ที่ใช้กันก็

คือ 0.22 ไมครอน Membrane or Cartridge filter ที่ใช้ในการกรองเพื่อ Sterilization น้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา ส่วนข้อเสียของวิธีการทั้ง 3 ดังกล่าว ก็คือ จะไม่สามารถเอา Dissolved Inorganic Pyrogens และ Colloids ออกมาได้ จึงจำเป็นต้องเป็นส่วนประกอบที่ใช้ร่วมกับวิธีอื่นในระบบการผลิตน้ำบริสุทธิ์

2.6 วิธีการกลั่น (Distillation)

วิธีการกลั่นอาจเป็นวิธีเก่าแก่ที่สุดที่ทำให้น้ำบริสุทธิ์ น้ำจะถูกทำให้ร้อนด้วยการต้ม ไอน้ำจะลอยขึ้นไปแล้วไปควบแน่นในบริเวณที่มีน้ำเย็นไหลผ่าน เพื่อลดอุณหภูมิของไอน้ำเอง ไอน้ำจะควบแน่นเป็นหยดน้ำได้เป็นน้ำกลั่นที่เราต้องการ สิ่งปนเปื้อนเกือบทั้งหมดจะอยู่ใน Vessel ที่เราต้มน้ำ แต่ Organic ที่มีจุดเดือดต่ำกว่า 100 °C จะไม่สามารถถูกแยกจากน้ำกลั่นได้

Systems	Potable Water	Purified Water	Water for infection
Softner	Yes	No	No
Deionization	Partial	Yes	No
Reverse Osmosis	Partial	Yes	Yes
Distillation	No	Yes	Yes

3. Water Holding System ระบบกักเก็บน้ำไว้ใช้ ได้แก่

- Bottling (บรรจุขวดทั้งชนิดใช้ครั้งเดียว หรือใช้หมุนเวียน)
- Batch Storage มีถึงมากกว่า 1 ใบ
- Dynamic Storage (Continuous Storage) เก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C ประกอบด้วย Steam Heated Jacket หรือ External heat Exchanger

ถังเก็บน้ำควรทำด้วย วัสดุ Stainless Steel ติดตั้งเครื่องกรองอากาศ แผ่นกรองที่ใช้ในช่อง Air vent ควรมี Pore size 0.45 ไมครอน หรือเล็กกว่า เป็น Hydrophobic

4. Distribution System

ในส่วนของการจ่ายน้ำไปใช้นั้น Pharmaceutical purified water แนะนำไว้ว่า Recirculating water systems จะเหมาะสมกว่า ONE-WAY system ซึ่งส่งเสริมให้เกิดการเจริญเติบโตของ Bacteria ภายในระบบการผลิตน้ำบริสุทธิ์ น้ำที่หมุนวนในท่อด้วยความเร็ว 5-6 feet/second range และที่อุณหภูมิ 80°C จะลดศักยภาพของ Microbial retention



ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร
ฉบับที่ ๓

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงเกี่ยวกับเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร เพื่อประโยชน์สาธารณะในการคุ้มครองผู้บริโภคและยกระดับกระบวนการผลิตอาหารให้ครอบคลุมและทันสมัยขึ้น ทั้งนี้พิจารณาจากข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และหน่วยงานอื่น การรับฟังความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ นักวิชาการ รวมทั้งการสืบค้นจากสื่ออิเล็กทรอนิกส์และเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๘ ณ แห่งพระราชบัญญัติระเบียบบริหารราชการแผ่นดิน พ.ศ. ๒๕๓๔ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยระเบียบบริหารราชการแผ่นดิน (ฉบับที่ ๔) พ.ศ. ๒๕๔๓ ประกอบกฎกระทรวงแบ่งส่วนราชการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. ๒๕๕๒ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงมีประกาศดังนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ ๒ ลงวันที่ ๒๘ กันยายน ๒๕๕๓

ข้อ ๒ ให้ใช้ เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ ๓ ตามเอกสารแนบท้ายประกาศ นี้

ข้อ ๓ เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับนี้ ใช้สำหรับอาหาร น้ำ เครื่องดื่ม ภาชนะและมือผู้สัมผัสอาหาร ซึ่งไม่อยู่ภายใต้การควบคุมของพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒

ข้อ ๔ ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์นี้ มีผลนับตั้งแต่วันที่ลงนามในประกาศ เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๖ มิ.ค. ๒๕๖๐

(นายสุภูมิ กาญจนพิมาย)

อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

เอกสารแนบท้ายประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
เรื่อง เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร
ฉบับที่ ๓

1. อาหารดิบ หมายถึงอาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการปรุงสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค

1.1 เนื้อสดของสัตว์หรือสัตว์ปีก รวมถึงเนื้อสดแช่เย็นหรือแช่แข็ง เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ และเครื่องใน เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 5×10^6
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Campylobacter jejuni</i> หรือ <i>C. coli</i> /25 กรัม	ไม่พบ

1.2 เนื้อสดของสัตว์น้ำแช่เย็นหรือแช่แข็ง เช่น กุ้ง ปลา และปู เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio cholera</i> /25 กรัม	ไม่พบ

1.3 เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งที่มีปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w) น้อยกว่า 0.86

จำนวนยีสต์และรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

1.4 ไข่สด เช่น ไข่ไก่ ไข่เป็ด และไข่นกกระทา เป็นต้น

<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
---------------------------------	-------

1.5 อาหารดิบอื่นๆ นอกเหนือจากข้อ 1.1-1.4 อาหารที่มีอาหารดิบเป็นส่วนประกอบหรือส่วนผสม และอาหารพร้อมปรุง⁽¹⁾ เช่น เครื่องแกง ไส้กรอกอีสาน และหน่อไม้ เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ ⁽²⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio cholerae</i> /25 กรัม	ไม่พบ

! อาหารพร้อมบริโภค

2.1 อาหารดิบหรืออาหารที่มีอาหารดิบเป็นส่วนประกอบซึ่งเตรียมหรือปรุงในสภาพบริโภคได้ทันที

2.1.1 ผักและผลไม้สดแต่ง สลัดผัก เช่น ผักและผลไม้สดแต่งที่บรรจุในภาชนะโฟมหรือถุงพลาสติก เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
จำนวนยีสต์ ⁽³⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
จำนวนรา ⁽³⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 กรัม	ไม่พบ

2.1.2 อาหารทะเลที่บริโภคดิบ เช่น ปลา กุ้ง ปลาหมึก หอย และซาซิมิ เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^5
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio cholerae</i> /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 กรัม	ไม่พบ

2.2 อาหารปรุงสุกหรืออาหารผ่านกรรมวิธี

2.2.1 ขนมหวานหรือขนมไทย เช่น ขนมหม้อแกง ทองหยอด ขนมน้ำชุบ ขนมน้ำตาล และกล้วยบวชชี เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
จำนวนยีสต์และรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

2.2.2 ผักและผลไม้ที่ดอง แช่อิ่ม เชื่อม กวน หรือทำให้แห้ง

จำนวนจุลินทรีย์ ⁽²⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^5
จำนวนยีสต์และรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

2.2.3 ขนมอบที่มีไส้หรือไม่มีไส้

- ขนมอบที่ไม่มีไส้หรือเติมไส้หรือส่วนผสมอื่นก่อนอบ⁽⁴⁾ เช่น คุกกี้ บิสกิต แครกเกอร์ เวเฟอร์ ขนมเปียะ ขนมโมจิ ขนมไหว้พระจันทร์ ขนมปัง และพาย เป็นต้น
- ขนมอบที่เติมไส้หรือส่วนผสมอื่นหลังอบ⁽⁵⁾ เช่น แอแคลร์ แยมโรล ขนมเค้กหน้าต่างๆ และบิสกิตหรือแครกเกอร์หรือเวเฟอร์ไส้ต่างๆ เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ ⁽⁴⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^4
จำนวนจุลินทรีย์ ⁽⁵⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^5
จำนวนยีสต์และรา ⁽⁴⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
จำนวนยีสต์และรา ⁽⁵⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

2.2.4 อาหารที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งที่มีปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w) น้อยกว่า 0.86 เช่น อาหาร
อบกรอบ อาหารทอดกรอบ น้ำพริก หมูหยอง และหมูแผ่น เป็นต้น

จำนวนยีสต์และรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

2.2.5 อาหารพร้อมบริโภคทั่วไป

- อาหารประเภทข้าวแกง ก๋วยเตี๋ยว ขนมจีน ไข่กรอก ปูอัด ปลาหมึกปรุงรส ซูชิ แซนดิวิช
และอื่นๆ⁽⁶⁾
- ส้มตำ สลัดมีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ขนมจีนและแซนดิวิชที่มีผักสดเป็นส่วนประกอบ อาหาร
ประเภทยำ น้ำตก และลาบ⁽⁷⁾

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁶⁾ MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁷⁾ MPN/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> ⁽⁸⁾ CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio cholerae</i> /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ⁽⁹⁾ /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 กรัม	ไม่พบ

2.3 อาหารปรุงสุกแล้วแช่เย็นหรือแช่แข็ง และต้องอุ่นก่อนบริโภค เช่น พืชชำ ขนมหีบ ซาลาเปา ลูกชิ้น และหมูยอ เป็นต้น

2.3.1 แช่เย็น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^5
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ⁽⁹⁾ /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 กรัม	ไม่พบ

2.3.2 แช่แข็ง

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 1×10^5
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 50
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 50
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ⁽⁹⁾ /25 กรัม	ไม่พบ
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 กรัม	ไม่พบ

3. อาหารหมักพื้นเมือง⁽¹⁰⁾ เช่น แหนม กะปิ ปลาร้า ปลาจ่อม ส้มโอฟีหรือปลาส้ม บูด และข้าวหมาก เป็นต้น

<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 3
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

4. อาหารประเภทเส้นสด ยกเว้นเส้นขนมจีน เช่น เส้นก๋วยเตี๋ยว บะหมี่ เกี๊ยมอี๋ อูด้ง และแผ่นเกี๊ยว เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/กรัม	น้อยกว่า 5×10^5
จำนวนยีสต์และรา CFU/กรัม	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> MPN/กรัม	น้อยกว่า 10
<i>Staphylococcus aureus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/กรัม	น้อยกว่า 1,000
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

5. น้ำดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เช่น น้ำผ่านเครื่องกรอง เป็นต้น

Coliforms MPN/100 มิลลิลิตร	น้อยกว่า 10
<i>Escherichia coli</i> /100 มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> /100 มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp. /100 มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Clostridium perfringens</i> /100 มิลลิลิตร	ไม่พบ

6. เครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เช่น น้ำผลไม้ น้ำหวาน ชา และกาแฟ เป็นต้น

จำนวนยีสต์ CFU/มิลลิลิตร	น้อยกว่า 5,000
จำนวนรา CFU/มิลลิลิตร	น้อยกว่า 100
<i>Escherichia coli</i> /มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> /0.1 มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp. /25 มิลลิลิตร	ไม่พบ
<i>Clostridium perfringens</i> CFU/มิลลิลิตร	น้อยกว่า 100
<i>Bacillus cereus</i> CFU/มิลลิลิตร	น้อยกว่า 100

7. ภาชนะสัมผัสอาหาร⁽¹¹⁾ เช่น จาน ชาม ถ้วย แก้วน้ำ และตะเกียบ เป็นต้น

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/ชิ้นภาชนะหรือต่อคู่	น้อยกว่า 1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> /ชิ้นภาชนะหรือต่อคู่	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp. /ชิ้นภาชนะหรือต่อคู่	ไม่พบ

8. พื้นผิวสัมผัสอาหาร⁽¹²⁾ เช่น พื้นผิวโต๊ะประกอบอาหาร เป็นต้น

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

9. มือผู้สัมผัสอาหาร⁽¹³⁾

จำนวนจุลินทรีย์ CFU/มือ	น้อยกว่า 500
<i>Escherichia coli</i> หรือ Fecal coliforms /มือ	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> /มือ	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp. /มือ	ไม่พบ

หมายเหตุ คำอธิบายเพิ่มเติม

- (1) อาหารพร้อมปรุง หมายถึง อาหารที่ได้จัดเตรียมส่วนประกอบต่างๆ บรรจุไว้ในหน่วยภาชนะที่พร้อมจำหน่ายโดยตรงต่อผู้บริโภค เพื่อนำไปปรุงเป็นอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ
- (2) รายการทดสอบนี้ยกเว้นการตรวจในอาหารหมักหรือดองที่ทำให้มีรสเปรี้ยวเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก
- (3) รายการทดสอบนี้ตรวจเฉพาะผลไม้หรืออาหารที่มีผลไม้เป็นส่วนประกอบ
- (4) ขนมอบที่ไม่มีไส้หรือเติมไส้หรือส่วนผสมอื่นก่อนอบ เช่น คุกกี้ บิสกิต แครกเกอร์ เวเฟอร์ ขนมเปียะ ขนมโมจิ ขนมไหว้พระจันทร์ ขนมปัง และพาย เป็นต้น
- (5) ขนมอบที่เติมไส้หรือส่วนผสมอื่นหลังอบ เช่น แอแคลร์ แยมโรล ขนมเค้กหน้าต่างๆ และบิสกิตหรือแครกเกอร์หรือเวเฟอร์ไส้ต่างๆ เป็นต้น
- (6) อาหารประเภทข้าวแกง ก๋วยเตี๋ยว ขนมจีน ไส้กรอก ปูอัด ปลาหมึกปรุงรส ซูชิ แซนดวิช และอื่นๆ
- (7) ส้มตำ สลัดมีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ขนมจีนและแซนดวิชที่มีผักสดเป็นส่วนประกอบ อาหารประเภทยำ น้ำตก และลาบ
- (8) รายการทดสอบนี้ตรวจเฉพาะอาหารที่มีข้าวหรือแป้งหรือธัญพืชเป็นส่วนประกอบ
- (9) รายการทดสอบนี้ตรวจเฉพาะอาหารทะเลหรืออาหารที่มีอาหารทะเลเป็นส่วนประกอบ
- (10) อาหารหมักพื้นเมือง หมายถึง อาหารที่ผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ประเภท ยีสต์ รา แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ฯลฯ ในการหมัก
- (11) ก. จำนวนชิ้นภาชนะ/ตัวอย่าง
 - 1) สุ่มตัวอย่างชนิดเดียวกัน 4 ชิ้นภาชนะ/ตัวอย่าง
 - 2) ภาชนะที่ใช้เป็นคู่ ได้แก่ ตะเกียบหรือช้อน-ส้อม ให้สุ่มดังนี้
 - ตะเกียบสุ่ม 4 คู่/ตัวอย่าง
 - ช้อน-ส้อม ถ้าตรวจแยก สุ่มอย่างละ 4 ชิ้น/ตัวอย่าง ถ้าตรวจเป็นคู่ช้อน-ส้อม ให้สุ่ม 4 คู่/ตัวอย่าง
 - 3) ภาชนะที่ใช้เพียงชิ้นเดียว เช่น เขียง มีด ให้สุ่ม 1 ชิ้นภาชนะ

หมายเหตุ คำอธิบายเพิ่มเติม (ต่อ)

(11) ข. วิธีสุมเชื้อ (swab) ภาชนะ

ใช้ไม้ swab 1 ไม้ต่อ 1 ตัวอย่าง สุมเชื้อ (swab) ภาชนะดังนี้

- แก้วน้ำ ถ้วยกาแฟ เช็ดส่วนที่สัมผัสของเหลวด้านในภาชนะ
- จาน ชาม ถ้วย หม้อ เช็ดส่วนที่สัมผัสอาหารด้านในภาชนะ
- ตะเกียบ เช็ดโดยรอบจากปลายขึ้นมา 1 ½ นิ้ว ซ้อน-ส้อม
- ซ้อน-ส้อม เช็ดส่วนที่สัมผัสอาหารทั้ง 2 ด้าน
- มีด เช็ดส่วนที่ใช้ตัดอาหารทั้งสองด้าน
- เขียง ถาด เช็ดตรงกลางภาชนะ พื้นที่ 50 ตารางเซนติเมตร

(12) พื้นที่ที่ใช้ swab ตัวอย่าง: เช็ดพื้นที่ 50 ตารางเซนติเมตร เช่น 2 x 25 ตารางเซนติเมตร หรือ 5 x 10 ตารางเซนติเมตร เป็นต้น

(13) ก. วิธี swab มือ: เช็ดมือที่สัมผัสอาหารข้างที่ถนัดมือเดียว โดยหงายฝ่ามือขึ้น ใช้ไม้ swab เช็ดฝ่ามือ และรอบนิ้วทุกนิ้ว หรือเช็ดส่วนของมือที่ใช้หยิบจับอาหารหรือสัมผัสอาหาร

ข. กรณีตรวจสอบทุกรายการตามเกณฑ์ ในการทดสอบแต่ละครั้งจะได้ผลทดสอบแต่ละรายการ เป็นผลของส่วนหนึ่งของมือ ไม่ใช่มือทั้งหมดที่ swab ยกเว้นจำนวนจุลินทรีย์ซึ่งสามารถคำนวณเป็น ผลทดสอบต่อมือได้ เช่น ใช้ไม้ swab เช็ดตัวอย่างมือ 1 มือใส่ในหลอดหรือขวดฝาเกลียวที่บรรจุ สารละลายบัฟเฟอร์หรือสารละลายเจือจาง 10 มิลลิลิตร หักปลายไม้ส่วนที่ใช้มือจับทิ้งไป ปิดฝาให้ แน่น เขย่าหลอด(หรือขวด) แล้วดูดสารละลาย 1 มิลลิลิตรใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวันแข็ง นำไป บ่มเพาะเชื้อแล้วนับจำนวนโคโลนี

ตัวอย่าง: นับจำนวนโคโลนีได้ 10 โคโลนี จะได้ผลทดสอบเท่ากับ $10 \times 10 = 100$ CFU/มือ

ค. ควรทดสอบหลังการล้างทำความสะอาดมือแล้ว

เอกสารอ้างอิง

1. คณะกรรมการบริหารโครงการจัดให้น้ำสะอาดในชนบทที่วราชอาณาจักร กระทรวงมหาดไทย. เกณฑ์ คุณภาพน้ำบริโภคในชนบท ปี 2531.
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 กฎกระทรวง ประกาศกระทรวงสาธารณสุข และอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องที่มีผล ใช้บังคับ. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2557.
3. Department of Health, Food and Drug Administration, Republic of the Philippines. Revised Guidelines for the Assessment of Microbiological Quality of Processed Foods. [online] 2013 [cited 2016 Oct 10]; [11 screens]. Available from: URL: www.fda.gov.ph/attachments/article/17218/FC2013-010.pdf

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ ๔๑๖) พ.ศ. ๒๕๖๓

ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒

เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์
ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงข้อกำหนดเกี่ยวกับเกณฑ์มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์
ที่ทำให้เกิดโรค

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่ง และมาตรา ๖ (๒) (๓) และ (๔)
แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๖๔) พ.ศ. ๒๕๕๖ เรื่อง มาตรฐานอาหาร
ด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ลงวันที่ ๒๕ กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๖

ข้อ ๒ อาหารตามบัญชีหมายเลข ๑ ห้ามประกาศนี้ที่ผลิตเพื่อจำหน่าย นำเข้าเพื่อจำหน่าย
หรือที่จำหน่าย ต้องไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เว้นแต่จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามชนิดและปริมาณ
ที่ระบุไว้ในบัญชีหมายเลข ๒ ห้ามประกาศนี้

ข้อ ๓ วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการ ให้เป็นไปตามบัญชีหมายเลข ๓ ห้ามประกาศนี้

ข้อ ๔ ประกาศนี้ไม่ใช้บังคับกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และวัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ ๕ ประกาศนี้ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดเก้าสิบวันนับแต่วันประกาศในราชกิจจานุเบกษา
เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒ กันยายน พ.ศ. ๒๕๖๓

อนุทิน ชาญวีรกูล

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

32. ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ^(๕) ได้แก่ ลูกชิ้น ไส้กรอก หมูยอ และ ผลิตภัณฑ์ที่มีกระบวนการผลิตทำนอง เดียวกันนี้ที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย		
(32.1) ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์พร้อมบริโภค เช่น ลูกชิ้นทอด และหมูยอทอด เป็นต้น	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
(32.2) ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ แช่เย็น	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
(32.3) ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ แช่แข็ง	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
33. พริกแห้งและลูกอม	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
34. อาหารพร้อมบริโภค ^(๕)		
(34.1) ขนมหวาน หรือขนมไทย เช่น ขนม หม้อแกง ทองหยอด ขนมหัน ขนมหี่หนู และ กล้วยบวชชี เป็นต้น	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
(34.2) ผัก ผลไม้ ดอง แช่อิ่ม เชื่อม กวน หรือแห้ง	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)

ผลิตภัณฑ์	ชนิดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค	ปริมาณที่กำหนด
(34.3) ผลิตภัณฑ์นมอบที่มีไขมันและไม่มีไขมันที่มีปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w) ≥ 0.85 ⁽⁶⁾	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 10 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
(34.4) อาหารประเภทข้าวแกง ก๋วยเตี๋ยว ปูอัด หมึกปรุงรส ซูชิ แซนด์วิช ส้มตำ สลัด อาหารประเภทยำ น้ำตก ลาบ และอาหารทำนองเดียวกัน ⁽⁶⁾		
1) พร้อมบริโภค หรือแช่เย็น	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 500 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
2) แช่แข็ง	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
(34.5) อาหารปรุงสุกแล้วแช่เย็นหรือแช่แข็ง และต้องอุ่นก่อนบริโภค เช่น พิซซ่า ขนมจีบ ซาลาเปา เป็นต้น ⁽⁶⁾		
1) แช่เย็น	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 500 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
2) แช่แข็ง	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 50 ใน 1 กรัม (CFU/g)

ผลิตภัณฑ์	ชนิดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค	ปริมาณที่กำหนด
(34.6) อาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w) < 0.85 เช่น อาหารอบกรอบ อาหารทอดกรอบ น้ำพริก หมูหยอง หมูแผ่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบกรอบ ลูกก๊วยบิสกิต แครกเกอร์ ขนมปังกรอบ เป็นต้น ⁽⁶⁾	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 10 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g) เว้นแต่อาหารที่มีเครื่องเทศหรือยีสต์หรือถั่วเป็นส่วนประกอบ ไม่เกิน 1,000 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g) เว้นแต่อาหารที่มีเครื่องเทศหรือยีสต์หรือถั่วเป็นส่วนประกอบ ไม่เกิน 1,000 ใน 1 กรัม (CFU/g)
(34.7) ผัก ผลไม้ ตัดแต่งที่บริโภคในลักษณะสดหรือดิบที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 500 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
(34.8) อาหารทะเล ที่บริโภคในลักษณะสดหรือดิบที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย เช่น ปลา กุ้ง หมึก หอย ซาซิมิ เป็นต้น ⁽⁶⁾	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
35. อาหารหมักที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากสัตว์ในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย (อาหารที่ผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ประเภท ยีสต์ รา แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ฯลฯ ในการหมัก) เช่น กะปิ ปลาร้า ปลาจ่อม ส้มปึก หรือปลาส้ม บูดแหมม เป็นต้น รวมถึงผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีการดองด้วยน้ำส้ม เกลือ เป็นต้น ⁽⁷⁾	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 1,000 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 1,000 ใน 1 กรัม (CFU/g)
36. อาหารประเภทเส้นสด		
(36.1) เส้นขนมจีน	1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.)	ไม่พบใน 25 กรัม (g)
	2. สแตฟีโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	3. แบซิลลัส ซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)
	4. คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>)	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g)

บัญชีหมายเลข 3

วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการ

แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522

เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์

ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการ สำหรับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ต้องเป็นวิธีใดวิธีหนึ่งดังต่อไปนี้

1. วิธีวิเคราะห์สำหรับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแต่ละชนิด ดังต่อไปนี้

ชนิดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค	วิธีการตรวจวิเคราะห์
1. <i>Bacillus cereus</i>	Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online, Chapter 14. U. S. Food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
2. <i>Clostridium perfringens</i>	Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online, Chapter 16. U. S. Food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
3. <i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> and of <i>Listeria</i> spp.–Part 1 Detection method ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
4. <i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579-1: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of <i>Salmonella</i> –Part 1 Detection of <i>Salmonella</i> spp. ที่เป็นปัจจุบัน (updated version) เว้นแต่การตรวจวิเคราะห์น้ำและน้ำแข็ง ให้ใช้วิธี ISO 19250: Water Quality-Detection of <i>Salmonella</i> species ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
5. <i>Staphylococcus aureus</i>	Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online, Chapter 12. U. S. Food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบัน (updated version) เว้นแต่การตรวจวิเคราะห์น้ำและน้ำแข็ง ให้ใช้วิธี Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: American Public Health Association (APHA) ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
6. <i>Cronobacter</i> spp.	ISO 22964: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection of <i>Cronobacter</i> spp. ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
7. <i>Vibrio cholerae</i>	ISO 21872-1: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the determination of <i>Vibrio</i> spp.–Part1: Detection of potentially enteropathogenic <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> and <i>Vibrio vulnificus</i> ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
8. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ISO 21872-1: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the determination of <i>Vibrio</i> spp.–Part1: Detection of potentially enteropathogenic <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> and <i>Vibrio vulnificus</i> ที่เป็นปัจจุบัน (updated version) Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online, Chapter 9. U. S. Food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)
9. <i>Clostridium botulinum</i>	Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online, Chapter 21 A. U. S. Food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบัน (updated version)

2. วิธีที่ประกาศโดยองค์กรแห่งชาติหรือองค์กรระหว่างประเทศด้านมาตรฐาน หรือตีพิมพ์ในเอกสารคู่มือหรือสิ่งตีพิมพ์ ที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

3. วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการสำหรับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ที่มีความถูกต้องและเหมาะสม (Performance characteristic) มีผลการประเมินความใช้ได้ (Validation) ของผลการทดสอบว่ามีความถูกต้องและเหมาะสม โดยห้องปฏิบัติการที่มีการร่วมศึกษากับเครือข่าย (collaborative study) ตามหลักเกณฑ์ที่สอดคล้องกับองค์การนานาชาติซึ่งเป็นที่ยอมรับทั่วไป หรือโดยห้องปฏิบัติการที่มีระบบคุณภาพเพียงแห่งเดียว (Single laboratory validation) ตามหลักเกณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากล และผลการประเมินดังกล่าวนี้ต้องเป็นเอกสารหลักฐานที่สามารถตรวจสอบ ได้ตามระบบคุณภาพมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ฉบับล่าสุด

ตารางที่ 1 คุณภาพน้ำบริโภคของกระทรวงสาธารณสุขและกระทรวงอุตสาหกรรม (ต่อ)

พารามิเตอร์	กรมอนามัย ⁽¹⁾	อย. ⁽²⁾	สมอ. ⁽³⁾
คุณภาพน้ำทางแบคทีเรีย/จุลินทรีย์			
- โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria)	ไม่พบในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์ เซนติเมตร	น้อยกว่า 2.2 ต่อ น้ำบริโภค 100 มิลลิลิตร โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น	น้อยกว่า 1.1 ต่อน้ำบริโภค 100 มิลลิลิตร โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น
- ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Faecal Coliform bacteria)	ไม่พบในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์ เซนติเมตร	ไม่พบแบคทีเรียชนิด อี.โคไล	อี.โคไลต้องไม่พบใน ตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์ เซนติเมตร
- จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค	ไม่กำหนด	ต้องไม่มี	สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>) ซาลโมเนลลา (<i>Salmonella</i>) คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (<i>Clostridium perfringens</i>) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

หมายเหตุ

- (1) คือประกาศกรมอนามัยเรื่องเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้
- (2) คือประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ.2534) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท (ฉบับที่ 2) และประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ 6)
- (3) คือมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำบริโภค มาตรฐานเลขที่ มอก.257-2549

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 257-2521 เรื่อง น้ำบริโภค ได้กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาไว้ ดังนี้

สแตนด์การ์ดเพลตเคานต์	โคโลนี/ซม. ³	ต้องไม่เกิน 500
โคลิฟอร์ม	เอ็มพีเอ็น/100 ซม. ³	ต้องน้อยกว่า 2.2
อี.โคไล		ต้องไม่พบ

อาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ หรือเกณฑ์มาตรฐานของลักษณะอาหารที่ไม่พึงประสงค์
ตามหลักการปฏิบัติที่ดีสำหรับอาหารสัตว์เลี้ยง มีลักษณะดังต่อไปนี้

1. อาหารแห้ง/กึ่งแห้งกึ่งเปียก

รายการ	ค่ามาตรฐาน	วิธีทดสอบ หรือวิธีมาตรฐานสากล
<i>Salmonella</i> spp. ²	พบ/ปริมาณอาหาร 25 กรัม	ISO 6579:2002
<i>Escherichia Coli</i> ¹	มากกว่า 10 cfu/g หรือ มากกว่า 3 MPN	3M Petrifilm™ E. coli/, coliform, Count plate
Coliform ¹	มากกว่า 10 cfu/g หรือ มากกว่า 3	3M Petrifilm™ E. coli/, coliform
Enterobacteriaceae ²	MPNมากกว่า 300 cfu/g	Count plate ISO 21528-2: 2004
Total Plate Count ¹	มากกว่า 1×10 ⁴ cfu/g	ISO 4833:2003
Yeast & Mold Count ¹	มากกว่า 1×10 ² cfu/g	ISO 21527-2:2008

¹ แนวปฏิบัติสำหรับอาหารสัตว์เลี้ยงในประเทศไทย

² The European parliament and of the council, Regulation (EC)No 1774/2002 of The European Parliament and of The Council of 3 October 2002 laying down health rules concerning animal by-products not intended for human consumption.

* Maximum content in mg/kg (ppm) relative to a feedingstuff with a moisture content of 12 %

2. ลักษณะอาหารที่ไม่พึงประสงค์ด้านสารพิษจากเชื้อรา

รายการ	ค่ามาตรฐาน	วิธีทดสอบ หรือวิธีมาตรฐานสากล
Aflatoxins ¹	มากกว่า 20 µg/1 kg	Immuno affinity Column/HPLC(In house VICAM Aflatest Instruction Manual, 1999, p.72)

¹ แนวปฏิบัติสำหรับอาหารสัตว์เลี้ยงในประเทศไทย

* Maximum content in mg/kg (ppm) relative to a feedingstuff with a moisture content of 12 %

3. ลักษณะอาหารสัตว์ไม่พึงประสงค์ด้านโลหะหนัก*

รายการ	ค่ามาตรฐาน	วิธีทดสอบหรือวิธีมาตรฐานสากล
Cadmium (Cd) ¹	มากกว่า 2 ppm	In house method based on AOAC 999.11 (2005)/ICP-OES
Lead (Pb) ¹	มากกว่า 5 ppm	In house method based on AOAC 935.13 (2005)/ICP-OES
Mercury (Hg) ²	มากกว่า 0.33 ppm	DMA-80 Direct Mercury Analyzer
Arsenic (As) ¹	มากกว่า 2 ppm	In house method based on AOAC 986.15 (2005)
Fluorine (F) ¹	มากกว่า 150 ppm	BS EN 16279:2012

¹ The European Union (EU). 2002. DIRECTIVE 2002/32/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed.

² The European Union (EU). 2010. Amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards mercury, free gossypol, nitrites and Mowrah, Bassia, Madhuca.

* Maximum content in mg/kg (ppm) relative to a feedingstuff with a moisture content of 12 %

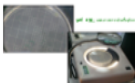
4. สำหรับอาหารเปียก

จุลินทรีย์	Canned pet food & pouch Incubation Temp. (°C)		
	37	Room Temp	55
Aerobic Plate Count at 35°C/48h at 55/48h (cfu/g)	Aerobe = N	Aerobe = N	Aerobe = N
	Anaerobe = N	Anaerobe = N	Anaerobe = N
Coliform	N	N	N
<i>Escherichia coli</i>	N	N	N
Flat Sour Bacteria	N	N	N
<i>Clostridium perfringens</i>	N	N	N
<i>Clostridium botulinum</i>	N	N	N
<i>Staphylococcus aureus</i>	N	N	N
<i>Salmonella</i> spp. (in 25 g)	N	N	N
Yeast/Molds (cfu/g)	N	N	N

ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่องเกณฑ์ด้านจุลินทรีย์ของสินค้าปศุสัตว์เพื่อการส่งออก

ขั้นตอนการตรวจตัวอย่างอาหารเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์

- คือปฏิบัติการ
- การ calibrate อุปกรณ์และเครื่องมือ
- ความรู้พื้นฐานและความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน
- เครื่องมือต่างๆ
- การวางแผนทำ Dilution ตามค่ามาตรฐาน
- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ อุปกรณ์และสารเคมี
- การควบคุมคุณภาพการปฏิบัติงาน
- การทำ Dilution
- เทคนิคการปฏิบัติงาน Pour, Spread, Drop plate
- การประเมินผล
- การคำนวณปริมาณเชื้อ
- การแปลผล



ตัวอย่างการคำนวณ

- แบคทีเรียทั่วไป ตรวจ spread plate

Dilution	1 : 1		1 : 10		1 : 100	
	สีขาว	สีเหลือง	สีขาว	สีเหลือง	สีขาว	สีเหลือง
Plate 1	110	15	0	0	0	0
Plate 2	110	10	18	0	0	0

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0.1 n_2)d} = \frac{110+15+100+10+0+18}{0.1(2+[0.1*1])1}$$

$$= \frac{253}{0.21}$$

$$= 1204.76 = 1.2 \times 10^3 \text{ cfu/g}$$

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•1. Pour plate

Dilution	1 : 10	1 : 100	1 : 1,000
Plate 1	295	55	10
Plate 2	280	60	5

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•2. Spread plate

Dilution	1 : 10	1 : 100	1 : 1,000
Plate 1	295	55	10
Plate 2	280	60	5

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•3. Pour plate

Dilution	1 : 100	1 : 1000	1 : 10,000
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•4. Spread plate

Dilution	1 : 100	1 : 1000	1 : 10,000
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•5. Drop plate

Dilution	1 : 100	1 : 1000	1 : 10,000
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•6. Pour plate

Dilution	1 : 10	1 : 100	1 : 1000
Plate 1	TNTC	TNTC	285
Plate 2	TNTC	390	270

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•7. Spread plate

Dilution	1 : 10	1 : 100	1 : 1000
Plate 1	TNTC	TNTC	285
Plate 2	TNTC	390	270

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•8. Pour plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	TNTC	TNTC	TNTC
Plate 2	TNTC	TNTC	TNTC

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•9. Spread plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	TNTC	TNTC	TNTC
Plate 2	TNTC	TNTC	TNTC

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•10. Drop plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	TNTC	TNTC	TNTC
Plate 2	TNTC	TNTC	TNTC

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•11.Pour plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•12.Spread plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•13.Drop plate

Dilution	1 : 1	1 : 10	1 : 100
Plate 1	0	0	0
Plate 2	0	0	0

จงคำนวณโจทย์ ดังต่อไปนี้

•14.Pour plate

Dilution	1 : 100	1 : 1000	1 : 10,000
Plate 1	380	50	100
Plate 2	10	2	2

ปัญหาที่พบจากการส่งรายงาน

- การคำนวณผิด
- จากการทำงานแยกส่วนของนักศึกษาบางกลุ่ม เมื่อสังเกต ผล สรุป วิเคราะห์ ไม่สอดคล้องกัน ควรมีการมาประชุม เข้าเล่มให้สมบูรณ์
- การเลือก dilution ไม่เหมาะสมกับค่ามาตรฐานตัวอย่าง จึงได้ผล และสรุปผลไม่ได้
- วิธีการทดลอง ต้องเขียนตามที่แท้จริงและที่สำคัญต้องระบุชนิดตัวอย่างว่าคืออะไร ผลพบกี่ colony และที่ dilution ไດ

การทำงาน lab ต้องระมัดระวังอย่าให้ปนเปื้อนจากสาเหตุผู้ปฏิบัติงาน ถือว่าทำงานล้มเหลว

- การวิจารณ์ ควรเขียน เราผิดพลาด ไม่ตามหลักการเพราะอะไร เช่นสลับหลอดทดลอง หรือเทคนิคการปฏิบัติที่ทำให้ปนเปื้อน การเทียบงานวิจัยอื่นที่ค้นคว้าเพิ่มเติม ไม่ใช่แค่เนาเอกสารค่ามาตรฐานมาประกอบ มาเขียนเท่านั้น หรือวิธีที่นักศึกษาทำต่างจากที่งานอื่นทำอย่างไร เช่น ผลการศึกษา ด้านเชื้อ ปริมาณ และกรณีที่สรุปไม่ผ่านมาตรฐาน หรือผ่านมาตรฐานควรเพิ่มเติมข้อปนเปื้อนมาจากสาเหตุใด เช่น.....
- ไม่พิจารณาผลการศึกษาค้นคว้าให้ชัดเจน เช่น ค่าเป็นช่วง
- ไม่มีระบุหน่วยให้ชัดเจน

คำถาม

1. ทำไมหน่วยตัวอย่างของการตรวจจุลินทรีย์ในอาหารจึงต่างกัน (cfu/ml และ cfu/g)
2. เทคนิคที่ใช้ตรวจเชื้อจุลินทรีย์ Pour/Spread/Drop plate แต่ละตัวอย่างควรมีกี่ plate
3. เทคนิคที่ใช้ตรวจเชื้อจุลินทรีย์ มีหลักเลือก ช่วง dilution ที่นำมาทดสอบอย่างไร
4. กรณีอาหารกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ควรเลือกใช้เทคนิคตรวจเชื้อจุลินทรีย์ใด และเริ่มทำ dilution ไດ
5. TNTC คืออะไร ของแต่ละเทคนิคที่ใช้ตรวจเชื้อจุลินทรีย์
6. กรณีน้ำเกลือที่ฉีดเข้าร่างกายสัตว์ ควรเลือกใช้เทคนิคตรวจเชื้อจุลินทรีย์ใด และเริ่มทำ dilution ไດ
7. ปัญหาการทำ Streak plate ที่พบเชื้อไม่ขึ้น เชื้อไม่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว มีเชื้ออื่นปนเปื้อนเนื่องจาก

หลักการตรวจจุลินทรีย์ในอาหาร

1. ทราบชนิดของอาหาร/ตัวอย่าง ลักษณะของอาหาร เช่น กุ้งแช่แข็ง หมูยอปรุงสุก อาหารสัตว์เป็นเม็ด อาหารสัตว์เป็นผง เช่น ปลาป่น พื้นผิวสัมผัสเชิงพื้นอาหารปรุงสุก พื้นผิวสัมผัสมือผู้ปฏิบัติงานหลังล้างมือ น้ำทิ้ง น้ำประปาสำหรับล้างอุปกรณ์ขามอาหารสัตว์
2. ทราบชนิดของจุลินทรีย์ที่จะตรวจ เช่น Total bacterial count (TBC) เชื้อ *E. coli*/coliform count
3. ทราบค่ามาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์ที่จะตรวจ เช่น เนื้อสด ตรวจเชื้อ *Clostridium perfringen* ค่ามาตรฐานน้อยกว่า 1×10^4 cfu/g
4. ทราบเทคนิคที่ใช้ตรวจเชื้อจุลินทรีย์ เช่น Pour/Spread/Drop plate
5. เตรียมอุปกรณ์ เช่น tube/plate/tip/pipette/vortex mixer/ bottle
6. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลายเจือจางที่ต้องชั่ง ตวง ชำเชื้อ
7. เตรียมสถานที่ให้สะอาด ตรวจสอบคุณภาพห้อง โดยตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่เรีนน้อยกว่า 15 cfu ใน 15 นาที และเชื้อราน้อยกว่า 10 cfu ใน 15 นาที
8. ทดสอบ
9. อ่านผลจากตาราง พร้อมระบุหน่วย

Spread plate

Dilution	1 : 10	1 : 100	1 : 1000
Plate 1	TNTC	TNTC	285
Plate 2	TNTC	390	270

กรณีตัวอย่างที่ต้องชั่ง เช่น เนื้อไก่ น้ำผึ้ง มีหน่วยคือ cfu/g

กรณีตัวอย่างที่สามารถใช้ pipette ดูดตัวอย่าง เช่น น้ำ น้ำหวาน นม มีหน่วยคือ cfu/ml

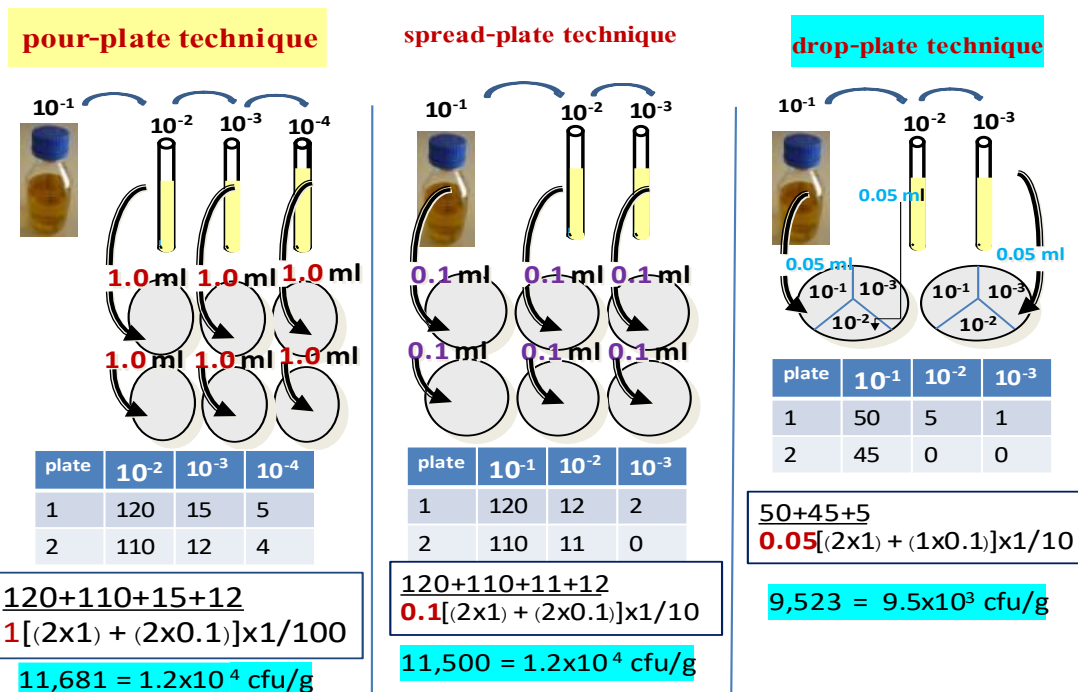
10. คำนวณ (+/-/x/÷)

11.แปลผล คือ ผ่าน/ไม่ผ่านมาตรฐาน

12. วิเคราะห์ผล

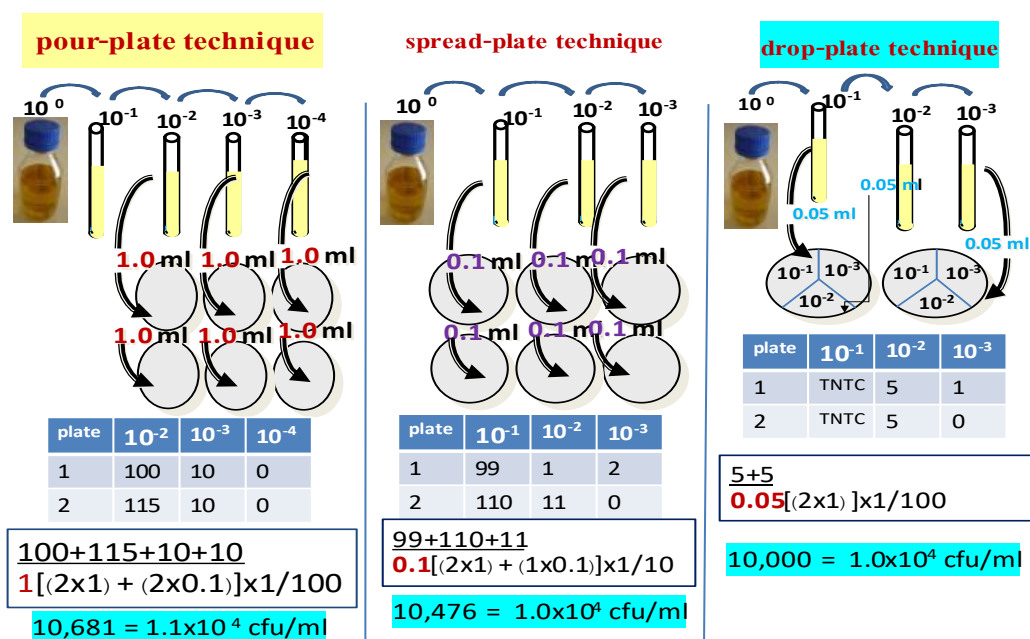
ตัวอย่าง หมูหยองในขวด (bottle) 10 g ในสารละลายเจือจาง 90 ml

ค่ามาตรฐานเชื้อ *Bacillus cereus* น้อยกว่า 1×10^3 cfu/g



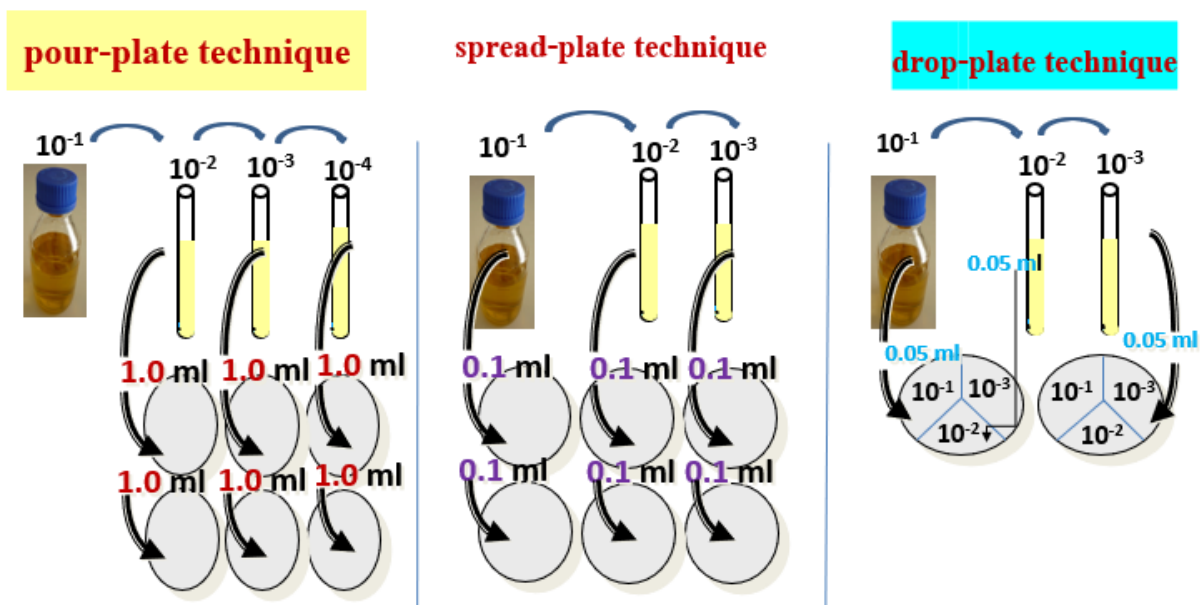
ตัวอย่าง น้ำผลไม้ในขวด (bottle) 50 ml

ค่ามาตรฐานเชื้อ Total bacteria น้อยกว่า 5×10^3 cfu/ml



แบบทดสอบ แต่ละกลุ่มเขียนอธิบายพร้อมภาพประกอบเพื่อสร้างความเข้าใจในการตรวจจุลินทรีย์ในอาหาร ทั้ง 3 เทคนิค และวิเคราะห์ว่าแต่ละข้อควรใช้เทคนิคใดจึงเหมาะสม

ตัวอย่าง เนื้อสด ค่ามาตรฐานเชื้อ *Clostridium perfringens* น้อยกว่า 1×10^3 cfu/g



สามารถทำได้ทั้งสามเทคนิค และสรุปว่าควรใช้เทคนิคใด

1. ปลาดิบที่บริโภคดิบ ค่ามาตรฐานเชื้อ Total bacteria น้อยกว่า 1×10^5 cfu/g
2. กุ้งแช่เย็น ค่ามาตรฐานเชื้อ *Staphylococcus aureus* น้อยกว่า 1×10^2 cfu/g
3. เนื้อสุกรตากแห้งแดดเดียว ค่ามาตรฐานเชื้อ ยีสต์และรา น้อยกว่า 5×10^2 cfu/g
4. ขนมนมจิ ค่ามาตรฐานเชื้อ Total bacteria น้อยกว่า 1×10^4 cfu/g
5. น้ำผลไม้ ค่ามาตรฐานเชื้อ ยีสต์ น้อยกว่า 5×10^3 cfu/ml
6. น้ำหวาน ค่ามาตรฐานเชื้อ รา น้อยกว่า 1×10^2 cfu/ml
7. น้ำผึ้ง ค่ามาตรฐานเชื้อ ยีสต์และรา น้อยกว่า 1×10 cfu/g
8. น้ำ ค่ามาตรฐานเชื้อ Total bacteria น้อยกว่า 5×10^2 cfu/ml
9. เนื้อไก่สด ค่ามาตรฐานเชื้อ Total bacteria น้อยกว่า 5×10^6 cfu/g
10. ขนมนมจิ ค่ามาตรฐานเชื้อ *Bacillus cereus* น้อยกว่า 5×10 cfu/g

การจัดการด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยโรคและตรวจสอบมาตรฐาน สิ่งส่งตรวจทั้งที่มาจากมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะปัจจุบันมีปัญหาสาธารณสุขจากโรคติดต่อต่างๆ ประกอบกับการดื้อยาต้านจุลชีพ เพื่อการวินิจฉัย การเฝ้าระวัง การควบคุม และลดภัยอันจะมีต่อระบบสุขภาพของทั้งมนุษย์และสัตว์ และปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงเสนอการจัดการด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ ที่ครอบคลุมกฎหมายและมาตรฐานที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ ระดับห้องปฏิบัติการ หลักการความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ โครงสร้างพื้นฐานของห้องปฏิบัติการ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ การจำแนกจุลชีพก่อโรคตามกลุ่มเสี่ยง การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจ พร้อมมีรายละเอียดเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการอาหาร และโครงการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัยในประเทศไทย Enhancement of Safety Practice in Research Laboratory in Thailand (ESPreL) เนื่องจากระบบบริหารจัดการความมั่นคงและความปลอดภัยห้องปฏิบัติการควรประกอบด้วย 4 องค์ประกอบ คือ นโยบายความปลอดภัย แผนบริหารจัดการความปลอดภัย การมอบหมายหน้าที่ความรับผิดชอบ การฝึกอบรม ดังนั้นการมีองค์ความรู้ย่อมสร้างความเข้าใจเกี่ยวกับมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติ ต่อไป

1. กฎหมายและมาตรฐานที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ

1.1 กฎหมายควบคุมอาคาร ทั้งของระดับท้องถิ่นและประเทศ เช่น ประกาศกระทรวงมหาดไทย เรื่อง กำหนดบริเวณห้ามก่อสร้าง ดัดแปลง หรือเปลี่ยนการใช้อาคารบางชนิดหรือบางประเภท ในพื้นที่บางส่วนของท้องที่จังหวัดขอนแก่น ประกาศ ณ วันที่ 15 กันยายน พ.ศ. 2560 หรือ กฎกระทรวง ฉบับที่ 68 (พ.ศ. 2563) ออกตามความในพระราชบัญญัติควบคุมอาคาร พ.ศ. 2522 หรือพระราชบัญญัติ ควบคุมอาคาร (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2558 เป็นต้น

1.2 กฎหมายที่เกี่ยวข้องกับการทำงานในห้องปฏิบัติการ

1.2.1 กฎหมายเกี่ยวกับด้านชีวอนามัยและความปลอดภัย เช่น พระราชบัญญัติความปลอดภัย อาชีวอนามัยและสภาพแวดล้อมในการทำงาน พ.ศ. 2554 เนื่องจากในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีเครื่องมือเครื่องจักร อุปกรณ์ สารเคมี และสารเคมีอันตรายมาใช้ในการกระบวนการผลิต การก่อสร้าง และบริการ แต่ขาดการพัฒนาความรู้ความเข้าใจควบคู่กันไป ทำให้ส่งผลกระทบต่อผู้ใช้แรงงานในด้านความปลอดภัยอาชีวอนามัย สภาพแวดล้อมในการทำงาน และก่อให้เกิดอันตรายจากการทำงาน จนถึงแก่บาดเจ็บ พิการ ทูพพลภาพ เสียชีวิต หรือเกิดโรคอันเนื่องมาจากการทำงานซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้นและทวีความรุนแรงขึ้นด้วย ประกอบกับพระราชบัญญัติคุ้มครองแรงงาน พ.ศ. 2541 มีหลักการส่วนใหญ่เป็นเรื่องการคุ้มครองแรงงานทั่วไปและมีขอบเขตจำกัดไม่สามารถกำหนดกลไกและมาตรการบริหารงานความปลอดภัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเพื่อประโยชน์ในการวางมาตรการควบคุม กำกับ ดูแล และบริหารจัดการด้านความปลอดภัย อาชีวอนามัยและ

สภาพแวดล้อมในการทำงานอย่างเหมาะสม สำหรับป้องกัน สงวนรักษาทรัพยากรบุคคลอันเป็นกำลังสำคัญของชาติ สมควรมีกฎหมายว่าด้วยความปลอดภัย อาชีวอนามัย และสภาพแวดล้อมในการทำงานเป็นการเฉพาะ

1.2.2 กฎหมายที่เกี่ยวกับความปลอดภัยด้านสารเคมี เช่น กฎกระทรวง (พ.ศ. 2537) ที่ออกตามความในพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2562 และพระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ (พ.ศ. 2551)

1.2.3 กฎหมายที่เกี่ยวกับความปลอดภัยด้านสารชีวภาพ เช่น พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กระบวนการตรวจวินิจฉัยโรค หรือกระบวนการชันสูตรพลิกศพเกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2560 ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 พ.ศ. 2560 และประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง พิษจากสัตว์ที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 19 พ.ศ. 2560

1.2.4 กฎหมายที่เกี่ยวกับความปลอดภัยของสภาพแวดล้อม เช่น พระราชบัญญัติ ส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2561 หรือ พระราชบัญญัติ การสาธารณสุข (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2560

1.3 มาตรฐานข้อแนะนำและแนวปฏิบัติที่เกี่ยวข้องกับห้องปฏิบัติการของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เกี่ยวข้องกับ แนวปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ และคู่มือการประเมินความปลอดภัยห้องปฏิบัติการ

1.4 คู่มือมาตรฐานห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ทางแพทย์และสาธารณสุข

1.5 กฎหมายและมาตรฐาน ข้อแนะนำที่เกี่ยวข้องกับแนวปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการและที่เกี่ยวข้องของหน่วยงานในต่างประเทศ

1.5.1 The world Health Organization (WHO) องค์การอนามัยโลก เป็นทบวงการชำนานพิเศษของสหประชาชาติ ซึ่งรับผิดชอบการประสานงานด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ ก่อตั้งเมื่อ 7 เมษายน ค.ศ. 1948 มีสำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ที่กรุงเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ และมีสำนักงานส่วนภูมิภาคตั้งอยู่อีกใน 6 เมือง ได้แก่เมืองบราซิล เมืองวอชิงตัน ดี.ซี. เมืองโคโร เมืองโคเปนเฮเกน เมืองนิวเดลี และเมืองมะนิลา

องค์การอนามัยโลก เพิ่งประกาศให้การระบาดของไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 (novel coronavirus 2019, 2019-nCoV) เป็น “ภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ” (Public Health Emergency of International Concern หรือ PHEIC) หลังจากประชุมพิจารณาสถานการณ์ในวันที่ 30 มกราคม 2563 ณ สำนักงานใหญ่ขององค์การอนามัยโลก กรุงเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

ภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ (Public Health Emergency of International Concern หรือ PHEIC) หมายถึงเหตุการณ์ฉุกเฉินด้านสาธารณสุขที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อประเทศอื่น ๆ จากการแพร่ระบาดระหว่างประเทศและต้องอาศัยความร่วมมือจากนานาประเทศในการรับมือกับเหตุการณ์นั้น

การพิจารณาว่าเหตุการณ์ใดเป็น “ภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ” ต้องเป็นเหตุการณ์ที่เข้ากับเงื่อนไขอย่างน้อย 2 ใน 4 ข้อต่อไปนี้

1. เป็นเหตุการณ์ที่มีผลกระทบด้านสาธารณสุขที่รุนแรง
2. เป็นเหตุการณ์ที่ผิดปกติหรือไม่คาดคิดมาก่อน
3. มีความเสี่ยงสูงที่จะแพร่ระบาดข้ามประเทศได้
4. มีความเสี่ยงสูงที่จะต้องจำกัดการเดินทางหรือการค้าระหว่างประเทศ

เพื่อป้องกันควบคุมโรคและภัยสุขภาพที่ก่อให้เกิดหรืออาจก่อให้เกิด “ภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ” (PHEIC) อย่างมีประสิทธิภาพ องค์การอนามัยโลกได้ออก “กฎอนามัยระหว่างประเทศ” (International Health Regulations หรือ IHR) ซึ่งมีสถานะเป็นกฎหมายระหว่างประเทศ (Treaty) ที่ประเทศสมาชิกขององค์การอนามัยโลกทุกประเทศต้องปฏิบัติตาม เพื่อร่วมมือกันจัดการกับเหตุการณ์ที่มีศักยภาพในการแพร่ระบาดข้ามประเทศไปยังส่วนต่าง ๆ ของโลก โดยใช้วิธีการจัดการให้มีผลกระทบต่อการเดินทางและการค้าขายระหว่างประเทศน้อยที่สุด

1.5.2 องค์การเพื่อความร่วมมือและการพัฒนาทางเศรษฐกิจ หรือ OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) เป็นองค์กรระหว่างประเทศของกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว และยอมรับระบอบประชาธิปไตยและเศรษฐกิจการค้าเสรีในการร่วมกันและพัฒนาเศรษฐกิจของภูมิภาคยุโรปและโลก โดยมีประเทศที่พัฒนาแล้วที่ไม่ได้อยู่ในทวีปยุโรปเข้าเป็นสมาชิกด้วย ได้แก่ ออสเตรเลีย แคนาดา นิวซีแลนด์ สหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น

OECD ดำเนินกิจกรรมเพื่อความร่วมมือทางวิชาการด้านวิทยาศาสตร์เป็นส่วนใหญ่ โดยแลกเปลี่ยนความคิดเห็นของเหล่าบรรดาประเทศสมาชิกเกี่ยวกับเรื่องของปัญหา และการจัดการต่างในโลกยุคสมัยใหม่ ซึ่งเน้นไปทางด้านของเรื่องที่เกี่ยวข้องกับวิชาการรวมไปถึงปัญหาของสารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และนอกจากนี้ยังเล็งเห็นเรื่องของความเสี่ยงเกี่ยวกับความไม่มั่นคงทางเศรษฐกิจและสังคมที่เกิดจากโลกสมัยใหม่

1.5.3 ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ (Centers for Disease Control and Prevention) ของสหรัฐอเมริกาทำงานอย่างใกล้ชิดกับกระทรวงสาธารณสุขของไทยมากกว่า 35 ปี ในการเสริมสร้างสมรรถภาพของหน่วยงานในไทยในการป้องกันและควบคุมโรคและลดพฤติกรรมที่เสี่ยงต่อการติดโรค งานหลักของศูนย์ฯ ในประเทศไทยและในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คือ เอชไอวี/เอดส์ วัณโรคและโรคติดต่อชนิดใหม่ๆ เช่น ไข้หวัดสัตว์ปีก นอกจากนี้ ศูนย์ฯ ยังช่วยพัฒนาทักษะบุคลากรสาธารณสุขในด้านต่างๆ เช่น งานห้องปฏิบัติการ วิทยาการระบาดและวิทยาการจัดการ องค์การเพื่อการพัฒนาระหว่างประเทศของสหรัฐฯ เป็นคู่ความร่วมมือที่สำคัญในการทำงานด้านการควบคุมเอชไอวี/เอดส์ ศูนย์ฯ ทำงานร่วมกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารเพื่อเพิ่มความเข้าใจและป้องกันการระบาดของโรคติดต่อใหม่ๆ และยังทำงานกับหน่วยงานความร่วมมืออื่นๆ เช่น องค์การระหว่างประเทศเพื่อการโยกย้ายถิ่นฐานในการตรวจสอบสุขภาพของผู้อพยพที่จะเดินทางไปอยู่สหรัฐอเมริกา

2. ระดับห้องปฏิบัติการ

การแบ่งระดับห้องปฏิบัติการตามบทบาทหน้าที่และขีดความสามารถในการตรวจวิเคราะห์

2.1 ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทั่วไป สำหรับการเรียนการสอน

2.2 ห้องปฏิบัติการทางคลินิก (Clinical laboratory) ต้องได้รับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐาน เช่น ห้องปฏิบัติการที่ตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรง หรือห้องปฏิบัติการที่ตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรงและการเพาะเชื้อ

2.3 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อการรักษา (Referral laboratory) ต้องได้รับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐาน เช่น ห้องปฏิบัติการระดับตติยภูมิ หรือห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อ หรือห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัย

2.4 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงตรวจยืนยันเพื่อสอบสวนโรค (Referral laboratory or Subnational laboratory) ต้องได้รับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐาน เช่น ห้องปฏิบัติการวิจัย หรือห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัย ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

2.5 ห้องปฏิบัติการแห่งชาติ (National laboratory) ต้องได้รับรองระบบคุณภาพมาตรฐานต่างๆ และมีการปฏิบัติงานสอดคล้องตามคู่มือมาตรฐาน เช่น สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

2.6 ห้องปฏิบัติการอ้างอิงระดับนานาชาติ (International referral laboratory) ได้แก่ ห้องปฏิบัติการเครือข่ายองค์การอนามัยโลก เป็นต้น

3. หลักการความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

หลักความปลอดภัยสำหรับห้องปฏิบัติการ คือ ผู้ปฏิบัติงานมีความปลอดภัย ในการทำงานกับสารเคมี สารชีวภาพอันตราย โดยการควบคุมกักกันสารอันตราย (containment) ไม่ให้แพร่กระจายสู่ผู้ปฏิบัติงานและหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมนอกห้องปฏิบัติการ

ระบบการปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ มีประเด็นต่างๆ ดังนี้

1. การปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยจากเครื่องมือและสภาพทำงาน ควรจัดสภาพงานเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยหรือการบาดเจ็บจากงาน ควรลดปัจจัยที่ทำให้เกิดความเมื่อยล้าหรือการบาดเจ็บ ควรใช้อุปกรณ์และเครื่องมืออย่างถูกต้อง

2. การปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยจากสารเคมีและสารกัมมันตรังสี การประเมินอันตรายจากสารเคมี การควบคุมอันตรายจากสารเคมีโดยมีมาตรการดูแลและจัดเก็บตามข้อแนะนำของผู้ผลิตอย่างเข้มงวด ติดสัญลักษณ์ความเป็นอันตรายบนภาชนะบรรจุให้ชัดเจน จัดทำระเบียบในการใช้และปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด เตรียมสารเคมีให้ถูกตามข้อแนะนำของผู้ผลิต จัดทำระเบียบปฏิบัติการในการป้องกันตัว และการใช้อุปกรณ์ป้องกันตัว สำรวจหาสาเหตุที่ทำให้เกิดความเสี่ยงให้ครอบคลุมทุกการปฏิบัติงาน

3. การปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ จัดสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการให้ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน แบ่งกลุ่มความเสี่ยงของเชื้อจุลินทรีย์ตามระดับความปลอดภัยทางชีวภาพ ปฏิบัติตามวิธีควบคุมความปลอดภัยปฐมภูมิและทุติยภูมิของแต่ละระดับความปลอดภัย ปฏิบัติตามหลักของ Microbiological practices

4. การกำจัดขยะอันตราย ต้องลดแหล่งต้นตอขยะ คัดแยกขยะ การทำ recycle การบำบัดขยะ

5. ข้อควรปฏิบัติสำหรับผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ปฏิบัติตามหลักของ Microbiological practices ดังนี้ ใช้ Aseptic Techniques : ต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดการฟุ้งกระจาย โดยทำงานภายใต้บรรยากาศที่ปลอดเชื้อ หรือทำภายในตู้เชื้อเชื้อ พื้นที่ที่ใช้ปฏิบัติงานต้องสะอาดและแห้ง ต้องมีการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม มีประจำไว้ในพื้นที่ทำงาน และมีการติดฉลากชัดเจน การปฏิบัติงานต้องทำอย่างรวดเร็วและทำในพื้นที่เดียวกันจนเสร็จงาน ตัวอย่างที่นำเข้ามาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต้องไม่ส่งคืนสู่แหล่งผลิต การทำงานกับเชื้อโรคหรือสารที่เป็นพิษต้องมีความระมัดระวังมากเป็นพิเศษ ดังนั้นการที่ห้องปฏิบัติการ ได้วางระบบมาตรการป้องกัน และควบคุมความปลอดภัย โดยการให้ความรู้ถูกต้อง แก่ผู้ปฏิบัติงาน ทำให้เกิดความปลอดภัยทั้งต่อตนเอง ผู้เกี่ยวข้องและสิ่งแวดล้อมเพื่อลดอันตรายต่างๆที่อาจเกิดขึ้นได้ ตลอดเวลา

วิธีการในการบริหารความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ นั้นมีข้อต้องคำนึงถึงดังนี้

3.1 วัตถุประสงค์ของการใช้ห้องปฏิบัติการ จะดำเนินการเรื่องความปลอดภัยตามระดับและประเภทการจัดแบ่งเชื้อจุลินทรีย์ตามกลุ่มเสี่ยง เช่น ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทั่วไป หรือห้องปฏิบัติการอ้างอิง ห้องปฏิบัติการวิจัยซึ่งลักษณะห้องและการจัดแบบแปลนภายในจะแตกต่างกันไป

3.2 พื้นที่ในห้องปฏิบัติการแบ่งการปฏิบัติงานได้ 3 ส่วน

3.2.1 พื้นที่ส่วนปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ส่วนห้องที่ใช้ทำงานเกี่ยวกับการปฏิบัติการต่าง ๆ ซึ่งพื้นที่ในขนาดที่พอเหมาะ ควรคิดตามจำนวนผู้ปฏิบัติงานด้วย โดยพื้นที่เหมาะสม คือ 15-20 ตารางเมตรต่อผู้ปฏิบัติงาน 1 คน

3.2.2 พื้นที่ส่วนบริหาร ได้แก่พื้นที่ใช้งานด้านธุรการ เก็บเอกสาร ข้อมูลสถิติ ห้องพักเจ้าหน้าที่

3.2.3 พื้นที่ส่วนสนับสนุน ได้แก่ พื้นที่ใช้เจาะเลือด บริเวณที่พักคอยของผู้ใช้บริการ ห้องเก็บพัสดุและเคมีภัณฑ์

3.3 การควบคุมด้านวิศวกรรม (Engineering control) ได้แก่การจัดโครงสร้างทางวิศวกรรมและกายภาพของห้องปฏิบัติการให้เหมาะสมกับระดับความรุนแรงของสารเคมี และจุลชีพก่อโรค ถือเป็นการป้องกันการติดเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เช่น การแยกห้องปฏิบัติการตามระดับความเสี่ยงของจุลชีพก่อโรค ระบบควบคุมการเข้าออกห้องปฏิบัติการ ระบบไหลเวียนอากาศ ระบบน้ำประปา ระบบไฟฟ้า รวมถึงการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ความปลอดภัย เช่น ตู้ชีวนิรภัย เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง เป็นต้น

ทางเข้าออก หากมีผู้ปฏิบัติงานค่อนข้างมากควรกำหนดและจัดระเบียบการเข้าออก ควรแยกกันระหว่างประตูเข้าและประตูออก อาจจัดพื้นที่สำหรับผู้มาติดต่อที่ไม่มีส่วนเกี่ยวข้อง โดยประตูควรปิดตลอดเวลา ในขณะที่ปฏิบัติงาน อาจจัดหน่วยรักษาความปลอดภัยเพื่อดูแลการเข้าออก หรืออาจใช้ระบบการเข้าออกโดยระบบคีย์การ์ด

3.4 การควบคุมด้านการบริหาร (Administrative control) ได้แก่ การบริหารจัดการ ในเรื่องนโยบาย การกำหนดแผนการดำเนินการ การจัดหาจัดเตรียม การดำเนินการ เพื่อสนับสนุนให้เกิดความปลอดภัยและความมั่นคงทางชีวภาพ

3.5 มาตรฐานการปฏิบัติงาน (Work place practices หรือ Standard operating procedure) ได้แก่ การจัดทำวิธีการปฏิบัติงานเป็นลำดับ ขั้นตอนเพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานและผู้ที่เกี่ยวข้องถือปฏิบัติและได้ผลลัพธ์เป็นมาตรฐานเดียวกัน ได้ผลน่าเชื่อถือ (reliably) และมีความสม่ำเสมอ (consistency) เช่น ขั้นตอนการใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล ขั้นตอน การปฏิบัติในการเข้าและออกห้องปฏิบัติการวิธีปฏิบัติเมื่อเกิดกรณีฉุกเฉิน เป็นต้น โดยวิธีปฏิบัติ มาตรฐานที่เขียนต้องเหมาะสมกับการปฏิบัติงาน คำนึงถึงความปลอดภัยและลดความเสี่ยงจาก การติดเชื้อเมื่อปฏิบัติงาน

การควบคุมคุณภาพ (Quality Control) เป็นกระบวนการที่ใช้ในการตรวจสอบและเฝ้าระวังขั้นตอนการทดสอบตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ เพื่อให้เกิดการพัฒนาและรักษาไว้ซึ่งคุณภาพผลการทดสอบ และเพื่อปรับปรุงการปฏิบัติงานแต่ละขั้นตอนในห้องปฏิบัติการให้ได้มาซึ่งผลการทดสอบที่ถูกต้อง (Accuracy) แม่นยำ(Precision) และน่าเชื่อถือ (Reliability) ดังนั้นการควบคุมคุณภาพถือเป็นหัวใจสำคัญของการทดสอบของห้องปฏิบัติการทางจุลินทรีย์ เนื่องจากผลการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ เป็นตัวบ่งชี้ความปลอดภัยของตัวอย่างสินค้าที่ผ่านการตรวจ เพื่อให้มั่นใจว่าจะไม่เกิดความผิดพลาดทั้งแบบเชิงระบบและแบบสุ่ม การควบคุมคุณภาพการทดสอบของห้องปฏิบัติการทางจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีการทำงานอย่างเป็นระบบห้องปฏิบัติการควรจัดทำโปรแกรมการควบคุมคุณภาพภายใน ความละเอียดและความเหมาะสมของการนำไปใช้อาจแตกต่างกันแต่ละห้องปฏิบัติการ โดยพิจารณาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความไม่แน่นอนของการทดสอบ

3.6 อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal protective equipment; PPE) การเลือก อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมจะช่วยป้องกันผู้ปฏิบัติงานจากการติดเชื้อการสัมผัสจุลชีพ หรือสารชีวภาพอันตรายโดยต้องคำนึงถึง ชนิดวัสดุของอุปกรณ์ป้องกัน ช่องทางการสัมผัส หรือ การเข้าสู่ร่างกายของจุลชีพ ระยะเวลาและความถี่ในการปฏิบัติงาน เพื่อให้เกิดความปลอดภัย กับผู้สวมใส่และต้องมีขนาดเหมาะสมกับรูปร่างของผู้สวมใส่ เพื่อความสะดวกสบายในการสวมใส่ และ ไม่ขัดขวางการปฏิบัติงาน

4. โครงสร้างพื้นฐานของห้องปฏิบัติการ

สถานที่และสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัย มีผลต่อคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการและความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน

4.1 การกำหนดขนาดพื้นที่ห้องปฏิบัติการ

กรณีสถานพยาบาลที่มีห้องปฏิบัติการ ควรมีขนาดพื้นที่ต่อคน 20 ตารางเมตรต่อคน และสถานศึกษาที่มีห้องปฏิบัติการควรมีขนาดพื้นที่ต่อคน 5 ตารางเมตรต่อคน (ข้อกำหนดขนาดพื้นที่ต่อคนตามมาตรฐานการป้องกัน

อัศศิภย วสท. 3002-51) แต่ตามพื้นที่ใช้สอยขั้นต่ำ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุขขนาดเล็ก ระบุบริเวณการตรวจสิ่งส่งตรวจโดยตรงควรมีพื้นที่ขั้นต่ำ 20 ตารางเมตร บริเวณเพาะเชื้อและการทดสอบทางชีวเคมี ควรมีพื้นที่ขั้นต่ำ 40 ตารางเมตร ห้องพักแรม ควรมีพื้นที่ขั้นต่ำ 5 ตารางเมตร บริเวณล้างและจัดการหลังตรวจ ควรมีพื้นที่ขั้นต่ำ 4 ตารางเมตร

ด้านความสูงและระบบสัจจรของห้องปฏิบัติการ แม้ไม่ได้กำหนดชัดก็มาเทียบเคียงกับตามกฎกระทรวงฉบับที่ 55 (พ.ศ. 2543) ควรมีขนาดความสูงไม่น้อยกว่า 3.00 เมตร และบริเวณทางเดินในอาคารสูงไม่น้อยกว่า 2.60 เมตร ขนาดทางเดินภายในห้อง กว้างอย่างน้อย 0.60 เมตร สำหรับทางเดินทั่วไปกว้างไม่น้อยกว่า 1.50 เมตร

ขนาดประตู ประตูห้องปฏิบัติการต้องมีขนาดกว้างพอที่จะสามารถนำเครื่องมือขนาดใหญ่เข้าออกได้สะดวก และสามารถเปิดกว้างเพื่อให้ผู้คนเข้าออกได้อย่างสะดวกในกรณีเกิดเหตุ ฉุกเฉิน ประตูห้องปฏิบัติการที่ดีควรเป็นแบบ door and half คือเป็นประตู 2 บาน โดยมีบาน หนึ่งใหญ่อีกบานหนึ่งมีขนาดเล็ก บานที่มีขนาดใหญ่จะถูกใช้เปิดปิดประจำ ส่วนบานเล็กจะถูก ใช้ในกรณีมีการขนย้ายอุปกรณ์

โต๊ะปฏิบัติการ มีทั้งชนิดติดตั้งถาวรและชนิดเคลื่อนย้ายได้ความสูงมาตรฐานของโต๊ะ ประมาณ 29-30 นิ้ว (หากนั่งทำงาน) และ 36-37 นิ้ว (หากยืนทำงาน) ผลิตจากวัสดุ ที่คงทน ทนต่อความร้อน ทนต่อการกัดกร่อนของสารเคมีและทำความสะอาดง่าย โดยที่นิยม ส่วนมากจะทำจากไม้เนื้อแข็ง หินขัด ปูนซีเมนต์และปูทับพื้นโต๊ะด้วยแผ่นฟอร์มิกา (Formica) แผ่นโลหะ หรือ แผ่นพลาสติกชนิดพิเศษ พื้นโต๊ะต้องเรียบไร้รอยต่อเพื่อป้องกันการสะสมของสารพิษและเชื้อโรค

อ่างน้ำ ห้องปฏิบัติการควรมีอย่างน้อย 2 แห่ง ซึ่งแยกจากกัน โดยกำหนดจุดหนึ่ง เป็นอ่างล้างมือเท่านั้น อีกจุดหนึ่งใช้สำหรับล้างวัสดุอุปกรณ์ อ่างน้ำควรทำมาจากวัสดุที่ทนทานต่อสารเคมี เช่น สแตนเลส (stainless) โพลีโพรพิลีน (polyethylene) เป็นต้น ท่อน้ำทิ้งควรแยกออกจากท่อน้ำเสียทั่วไป ปลายท่อน้ำทิ้งควรต่อไปยังระบบบำบัดน้ำเสียก่อนการส่งออกไป ยังภายนอก

4.2 ระบบไฟฟ้า ต้องคำนึงถึงระบบไฟฟ้าทั่วไป ระบบจ่ายไฟฟ้าฉุกเฉิน ระบบความปลอดภัยของไฟฟ้า การต่อสายล่อฟ้า และสายดินของอุปกรณ์ เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันอันตรายและการรบกวนขณะทำงาน และไม่มีการต่อสายไฟพ่วงในห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่จำเป็นการต่อสายพ่วงไม่ควรนานเกินกว่า 8 ชั่วโมง

4.3 ระบบให้แสงสว่าง ห้องปฏิบัติการทั่วไปควรใช้แสงสว่างธรรมชาติให้เป็นประโยชน์มากที่สุด ดังนั้นห้องจำเป็นต้องมีหน้าต่างขนาดใหญ่ เพราะจะสามารถให้แสงสว่าง และการระบายอากาศได้ดี ตลอดจนในกรณีที่เกิดอุบัติเหตุ สามารถใช้เป็นทางหนีฉุกเฉินได้ด้วย และลักษณะหน้าต่างที่ดีต้องทำให้คนที่มียูปร่างเล็กสามารถเปิดปิดได้สะดวก รวมทั้งที่ตั้งของหน้าต่างจะต้องเลือกให้เหมาะสม โดยให้แสงสว่างได้ระดับ 600 Lux (1 Lux = 1 lumen/m²)

มีปริมาณแสงสว่างพอเพียงมีคุณภาพเหมาะสมกับการทำงาน ตามกฎกระทรวง กำหนดมาตรฐานในการบริหารและการจัดการด้านความปลอดภัย อาชีวอนามัยและสภาพแวดล้อมในการทำงานเกี่ยวกับความร้อน แสงสว่าง และเสียง พ.ศ. 2549 กำหนดมาตรฐานค่าเฉลี่ยความเข้มของแสงสว่าง บริเวณ โต๊ะงาน เอกสาร และโต๊ะปฏิบัติการ 400 ลักซ์ โต๊ะคอมพิวเตอร์ 600 ลักซ์

ตาราง 1. ค่าความส่องสว่างตามเกณฑ์ในต่างประเทศ

ระดับความส่องสว่าง (Lighting levels)

ลำดับ	ประเภทของพื้นที่ใช้สอย และกิจกรรม	หน่วยความเข้มของแสงสว่าง (Lux)	หน่วยความเข้มของแสงสว่าง (FC)
1	ห้องปฏิบัติการและส่วน สนับสนุน	800-1,075	75-100
2	ห้องเครื่องมือและอุปกรณ์	325-540	30-50
3	ตู้ดูดควัน	1,075	100
4	ห้องเก็บของวัสดุและอื่นๆ	220-1,075	20-10
5	สำนักงาน	430-650	40-60
6	ห้องคอมพิวเตอร์	325-540	30-50
7	ห้องประชุม/สัมมนา	325	30
8	ทางเดิน	220-430	20-40
9	บันได	220-325	20-30
10	ห้องงานระบบ	220-540	20-50

ที่มา : NIH, 2008: 10-58; Ruys, 1990: 435; Watch, 2008 : 210

4.4 ระบบน้ำ

4.4.1 ระบบน้ำใช้ทั่วไปแต่ละตึกปฏิบัติการ ควรมีถังเก็บน้ำไว้ชั้นบนสุดของอาคาร ซึ่งจะจ่ายน้ำไปตามห้องปฏิบัติการต่าง ๆ โฉนทุกโต๊ะปฏิบัติการที่ยาว 3 เมตร ควรมีหัวก๊อกน้ำ 1 หัว

4.4.2 ระบบน้ำทิ้งในห้องปฏิบัติการ จะมีอ่างน้ำติดตั้งไว้ โดยที่มีจุดประสงค์ไว้ล้างมือ ล้างเครื่องแก้ว หรือเทของเสียทิ้ง และที่สำคัญ คือการจัดทำบ่อพักน้ำทิ้ง ลดอันตรายก่อนที่จะทิ้งออกสู่ชุมชน

4.5 ระบบแก๊ส แก๊สห้องปฏิบัติการ จะต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่ติดไฟง่าย ควรติดตั้งระบบตัดจ่ายแก๊สอัตโนมัติ ทางออกของแก๊สจะต้องมีคันบังคับเปิดปิด และใส่กุญแจได้ด้วย หัวท่อแก๊สแต่ละอันที่ติดตั้งตามโต๊ะจะต้องติดตั้งห่างกันอย่างน้อย 2 เมตร และแก๊สที่ใช้กับระบบส่งตามท่อ ควรเป็นชนิดที่ไม่ไวไฟ ไม่ติดไฟ และไม่เป็นพิษ เช่น แก๊สไนโตรเจน แก๊สอาร์กอน

ถังบรรจุแก๊สภายใต้แรงดัน ผู้ใช้ต้องเรียนรู้วิธีการใช้และใช้ด้วยความระมัดระวัง รวมทั้งรู้วิธีปฏิบัติตนเมื่อเกิดภาวะฉุกเฉินขึ้น แก๊สที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมีหลายประเภท โดยทั่วไปควรเก็บในบริเวณที่เย็น ๆ อากาศถ่ายเทได้ดี และไม่ถูกแสงแดดส่องโดยตรง การเก็บถังแก๊สต้องวางไว้ในแนวตรง และมีเข็มขัดนิรภัยรัดไว้ เพื่อป้องกันถังล้มหรือถูกชน ควรคาดสายรัดแต่ละถังแยกจากกัน และใช้โซ่รัดไว้ พร้อมติดตั้งป้ายห้ามสูบบุหรี่ ห้ามโยนถัง ให้ใช้รถเข็นที่ออกแบบมาสำหรับการขนย้ายและขณะที่ขนย้ายต้องรัดเข็มขัดนิรภัยด้วย

4.6 ระบบปรับอากาศ อากาศภายในห้องปฏิบัติการ เป็นปัจจัยสำคัญ มีผลต่อการปฏิบัติงาน อากาศที่เหมาะสมในห้องปฏิบัติการ คือ 20-25 องศาเซลเซียส ความชื้น 50 + 10% RH การติดตั้งเครื่องปรับอากาศ จึงมีความจำเป็นโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีการผลิตจากต่างประเทศ

4.7 ระบบโทรศัพท์และคอมพิวเตอร์ ควรออกแบบและจัดทำชุมสายโทรศัพท์ และระบบคอมพิวเตอร์ ให้เพียงพอในการติดตั้ง สื่อสารภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ รวมทั้งติดตั้งกับหน่วยงานอื่นด้วย

4.8 ระบบทางเดินภายในห้องปฏิบัติการ และภายในอาคาร ทางเดินภายในอาคาร เช่น ทางลาด บันได ลิฟต์ ต้องมีป้ายสัญญาณขึ้นบอก ตลอดจนข้อควรปฏิบัติติดประกาศไว้ในกรณีเกิดเหตุการณ์ฉุกเฉิน รวมทั้งห้ามวางสิ่งของหรือเฟอร์นิเจอร์ใด ๆ กีดขวางทางเดินเป็นอันตราย

4.9 ระบบฉุกเฉิน

อุปกรณ์ล้างตาฉุกเฉิน (Emergency eye wash) ควรติดไว้ประจำที่และจำเป็น ต้องมีวางอยู่ห่างจากที่ปฏิบัติงานประมาณ 25-50 ฟุต หรือใช้เวลาสามารถเข้าถึงจุดได้ภายใน 10 วินาที และระหว่างทางไม่ควรมีสิ่งกีดขวางการเปิดน้ำอาจใช้ระบบเปิดด้วยเท้า (footpaddle) หรือใช้มือผลัก (pushbar) ควรให้น้ำพุ่งเข้าตาผ่านทางฐานจุ่มโดยไม่ให้น้ำพุ่งเข้าลูกตาโดยตรง และใช้นิ้วบังคับเปลือกตาเพื่อให้น้ำล้างตาได้ทั่วถึง หัวพ่นน้ำควรที่จะมีฝาครอบป้องกันฝุ่นละออง และควรทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอโดยการ flush น้ำทิ้ง อย่างน้อยสัปดาห์ละครั้ง

ฝักบัวฉุกเฉิน (Deluge shower) ควรติดตั้งในบริเวณเดียวกันกับเครื่องล้างตา หรือตำแหน่งที่สามารถเข้าถึงได้ภายใน 10 วินาที ฝักบัวควรสูงจากพื้นประมาณ 7-8 ฟุต ห่างจากกำแพงอย่างน้อย 25 นิ้ว การเปิดฝักบัวอาจใช้ตัวผลัก (paddle) หรือใช้การดึงโซ่ฝักบัวฉุกเฉิน มีอยู่ 3 แบบ คือ

1. แบบยึดติดกับฝ้าผนัง (ceiling / wall type) โดยน้ำจะไหลลงศีรษะอย่าง ต่อเนื่อง

2. แบบที่เป็นสายยางฉีดตัวร่วมกับฝักบัว (wall-mounted drench hose) โดยการใช้งานสามารถฉีดล้างเฉพาะบริเวณที่เปียกได้

3. แบบฝักบัวฉุกเฉินที่ติดตั้งคู่กับเครื่องล้างตา (floor-mounted emergency combination) สามารถชำระล้างได้ทั้งตา ใบหน้า และลำตัวในเวลาเดียวกัน

ระบบป้องกันอัคคีภัย ระบบจะครอบคลุมทุกอย่าง ตั้งแต่วัสดุที่ใช้ทำ และการออกแบบพื้นที่ห้องปฏิบัติการ ประตู หน้าต่าง บันไดหนีไฟ เครื่องมือ เครื่องใช้ไฟฟ้า เฟอร์นิเจอร์ การเดินสายไฟ และชนิดของสายไฟ นอกจากนี้ตามพระราชบัญญัติควบคุมอาคาร (พ.ศ. 2522) กำหนดอาคารที่มีโอกาสเดียวช่องกับอาคารหรือห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อาคารสูงตั้งแต่ 23 เมตรขึ้นไป อาคารขนาดใหญ่พิเศษพื้นที่ตั้งแต่ 10,000 ตารางเมตร ต้องมีระบบป้องกันและระงับอัคคีภัย ประกอบด้วย ระบบบันไดหนีไฟและทางหนีไฟ เครื่องหมายและไฟป้ายทางออกฉุกเฉิน ระบบระบายควันและควบคุมการแพร่กระจายควัน ระบบลิฟต์ดับเพลิง ระบบสัญญาณแจ้งเหตุเพลิงไหม้ ระบบการติดตั้งอุปกรณ์ดับเพลิง ระบบการจ่ายน้ำดับเพลิง เครื่องสูบน้ำดับเพลิง และหัวฉีดน้ำดับเพลิง ระบบดับเพลิงอัตโนมัติ ระบบป้องกันฟ้าผ่า

ระบบเตือนภัย ต้องมีการติดตั้งระบบเตือนภัยคู่กับถังดับเพลิงในห้องปฏิบัติการ ระบบเตือนภัยที่ดีต้องส่งเสียงดังได้ทั่วอาคารอาจเป็นเสียงกระดิ่งหรือเสียงระฆัง และอาจมีไฟสีแดงกระพริบ โดยระบบเตือนภัยประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญ คือ

1. กล้องกระตุ้นให้กระดิ่งหรือสัญญาณทำงานที่เรียกว่า “pull station” มีสีแดงมีทั้งลักษณะเป็นรูปตัวที (T) กระตุ้นการทำงาน โดยดึงก้านตัวทีลงมาตรงๆ หรืออีกแบบ จะมีลักษณะเป็นตัวที แต่จะมีกระจกกันต้องใช้ค้อนหรือโลหะทุบกระจกก่อนถึงจะสามารถ ดึงตัวทีได้

2. ส่วนที่สองเป็นส่วนที่เป็นกระดิ่งหรือระฆังเตือนภัยจะมีสีแดงหรือสีน้ำเงิน ติดตั้งไว้บนกำแพงเหนือกล้อง pull station โดยสามารถส่งเสียงและมีไฟกระพริบในขณะที่ กระดิ่งดัง

ชุดอุปกรณ์ดับเพลิง ในห้องปฏิบัติการมีอยู่สองแบบ คือ ชนิดติดตั้งถาวร ได้แก่ น้ำพุพ่นแบบอัตโนมัติและชนิดเคลื่อนย้ายได้ประกอบด้วย ชุดท่อประปาดับเพลิง (fire hose) และถังดับเพลิง ทั้งสองชนิดควรเก็บไว้ในตู้ที่สามารถมองเห็นได้ชัดเจนและไม่ควรล็อกตู้สายท่อประปาต้องมีความยาวอย่างน้อย 100 ฟุต ส่วนถังดับเพลิงมีอยู่หลายประเภท ขึ้นอยู่กับต้นกำเนิดของเพลิง ซึ่งควรจัดหาชนิดของถังดับเพลิงที่เหมาะสมกับงานที่ปฏิบัติประเภทของเพลิงสามารถ แบ่ง 4 แบบดังนี้

ไฟประเภท A ได้แก่ เพลิงที่เกิดขึ้นจากวัสดุติดไฟทั่วไป เช่น ผ้า กระดาษ และพลาสติก ไฟประเภทนี้ดับได้ด้วยการใช้น้ำฉีดเป็นฝอย

ไฟประเภท B ได้แก่เพลิงที่เกิดจากของเหลวหรือแก๊ส เช่น น้ำมัน แก๊ส จาระบีและสิ่งที่ใช้สำหรับล้าง ละลายทำความสะอาด ดับได้ด้วยวิธีป้องกันไม่ให้อากาศเข้าไปรวมกับเชื้อเพลิง หรือลดอุณหภูมิของเชื้อเพลิง โดยใช้โฟมผงเคมีฮาโลน หรือคาร์บอนไดออกไซด์

ไฟประเภท C ได้แก่เพลิงที่เกิดจากอุปกรณ์เครื่องมือไฟฟ้า การดับไฟ ต้องพยายามตัดวงจรไฟฟ้า เสียก่อน เพื่อลดอันตรายลง การดับไฟต้องใช้สารเคมีที่ไม่เป็นสื่อไฟฟ้า เช่น ฮาโลน คาร์บอนไดออกไซด์หรือเคมีแห้ง

ไฟประเภท D ได้แก่เพลิงที่เกิดจากวัสดุจำพวกโลหะติดไฟ เช่น แมกนีเซียม โซเดียมโบตัสเซียม ลักษณะการลุกไหม้ให้ความร้อนสูงรุนแรงมาก การดับเพลิง ประเภทนี้ให้ใช้สารเคมีจำพวกเกลือแกง หรือทรายแห้ง

ทางหนีไฟ การกำหนดขนาดและจำนวนของประตูหนีไฟ ขึ้นกับสถานที่ตั้ง ขนาด ของอาคาร และ จำนวนผู้ปฏิบัติงาน ในแต่ละชั้นควรมีทางหนีไฟอย่างน้อยสองทางที่แยกกัน ทางหนีไฟควรมีระยะทางที่สั้นที่สุดที่สามารถนำออกไปสู่ภายนอกอาคารได้เร็วที่สุด และป้ายแสดงทางหนีไฟควรมีคอมไฟสว่างในตัวในเวลาปกติ ตลอดเวลาที่มีคนใช้อาคาร โดยป้ายที่ใช้ควร เป็นไปตามมาตรฐาน เช่น หากเป็นห้องปฏิบัติการที่ตั้งอยู่ใน อาคารที่มีมากกว่า 2 ชั้น ประตูห้องปฏิบัติการต้องสามารถเปิดไปสู่โถงทางเดินกลางได้ และสามารถนำไปยัง ประตู หนีไฟได้ทันทีตามเส้นทางเดินและผาผนังควรมีการแสดงสัญลักษณ์ลูกศรนำทางเพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานทราบ ว่าประตูหนีไฟอยู่ในทิศทางใด ประตูหนีไฟควรทำจากวัสดุทนไฟ หรือเป็นโลหะที่ ทนไฟได้ดีและควรปิดอยู่ เสมอ รวมทั้งแสดงสัญลักษณ์บริเวณประตูหนีไฟว่า “ทางออก” หรือ “Exit” จัดให้มีป้ายบอกทางออกฉุกเฉิน ภายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นป้ายที่ใช้แสดงทางออกฉุกเฉินหรือทางหนีภัย

5. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

การทำงานในห้องปฏิบัติการมักเกิดอุบัติเหตุเล็กๆ น้อย ๆ ในการทำงาน โดยผู้ปฏิบัติงานอาจมี ประสบการณ์ด้วยตนเอง หรือจากผู้ร่วมงาน ซึ่งอันตรายแฝงในห้องปฏิบัติการที่พบได้บ่อย ๆ เช่น อันตรายจาก เครื่องมือและอุปกรณ์ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องปฏิบัติตามวิธีใช้ที่ระบุไว้ในคู่มืออย่างเคร่งครัด ห้ามดัดแปลงใด ๆ และหมั่นตรวจสอบสภาพบำรุงรักษาเครื่องมือสม่ำเสมอ รวมทั้งต้องมีการบริหารจัดการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ให้มี คุณภาพและประสิทธิภาพ ดังต่อไปนี้

1. การจัดท่า
2. การตรวจสอบคุณสมบัติก่อนนำไปใช้งานว่าเป็นไปตามคุณสมบัติเฉพาะของเครื่องมือ
3. การสอบเทียบ
4. การบำรุงรักษาซ่อมแซมเครื่องมือ

5. การบันทึกประวัติเครื่องมือ

6. การจำหน่ายเมื่อหมดความจำเป็นในการใช้งาน

ตู้ชีวนิรภัย (Biological safety cabinet)

ตู้ชีวนิรภัย เป็นเครื่องมือที่ควบคุมการไหลของอากาศ ที่อาศัยหลักการทำงานของมอเตอร์พัดลม และชุดกรองอากาศประสิทธิภาพสูง (High Efficiency Particulate Air; HEPA) ซึ่งมอเตอร์ พัดลมจะเป็นตัวดูดและควบคุมแรงดันลมภายในตู้ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ส่วนแผ่นกรอง HEPA จะช่วยกรองไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์จากการปฏิบัติงานภายในตู้หลุดออกสู่ภายนอก ซึ่งเป็นการป้องกันอันตรายให้กับตัวผู้ปฏิบัติงาน ผู้ร่วมงาน และสิ่งแวดล้อม แผ่นกรองอากาศมีลักษณะ พับซ้อนกันและบรรจุไว้ในกรอบแข็ง มีคุณสมบัติในการกรองอนุภาคแผ่นกรองโดยทั่วไป เช่น แผ่นกรองอากาศสำหรับ cleanroom จะมีประสิทธิภาพในการกรองอนุภาคนขนาด 0.3 ไมครอน ได้ร้อยละ 99.97 แต่สำหรับแผ่นกรองอากาศที่ใช้กับตู้ชีวนิรภัยจะต้องมีคุณสมบัติในการกรองอนุภาคนขนาด 0.3 ไมครอน ได้ถึงร้อยละ 99.99

ตู้ชีวนิรภัย มี 3 ประเภท คือ Class I Class II และ Class III ซึ่งรายละเอียดในแต่ละ Class สรุปได้ดังนี้

1. ตู้ชีวนิรภัย Class I ตู้ชนิดนี้อากาศจากภายนอกตู้จะไหลผ่านเข้ามาภายในตู้ ก่อนระบายออกสู่ด้านนอก ทำให้ไม่สามารถปกป้องชิ้นงานและป้องกัน cross contamination แต่สามารถปกป้องผู้ใช้งาน และปกป้องสิ่งแวดล้อมได้โดยอากาศที่ออกจากตู้จะผ่าน HEPA filter ก่อนปล่อยออก สามารถใช้ปฏิบัติงานกับจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับ 1-3 ที่มีลักษณะ งานไม่ต้องการการปกป้องชิ้นงานจากการปนเปื้อน และไม่ใช้กับสารเคมี ความเร็วอากาศผ่าน เข้าตู้อย่างน้อย 75 ฟุตต่อนาที

2. ตู้ชีวนิรภัย Class II เป็นตู้ชีวนิรภัยชนิดที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ทางแพทย์มากที่สุด เนื่องจากสามารถปกป้องผู้ใช้งาน ชิ้นงาน และสิ่งแวดล้อม โดยอากาศ ที่ไหลเข้าด้านหน้าตู้ (inward airflow) จะถูกดูดลงตรงตะแกรงด้านหน้า ซึ่งเป็นการสร้างม่านอากาศ เพื่อป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ภายในตู้แพร่กระจายออกไปสู่ผู้ใช้งาน ส่วนการปกป้องชิ้นงานนั้น อากาศที่ไหลลงสู่พื้นที่ปฏิบัติงาน (downward airflow) เป็นอากาศสะอาดที่ถูกกรองด้วย แผ่นกรอง HEPA และไหลแยกเป็นสองกระแสลงทางตะแกรงด้านหน้าและด้านหลัง เพื่อป้องกัน ชิ้นงานจากการปนเปื้อนและป้องกัน cross-contamination ระหว่างชิ้นงาน ในด้านการปกป้องสิ่งแวดล้อม อากาศที่ปนเปื้อน จากพื้นที่ปฏิบัติงานจะถูกกรองด้วยแผ่นกรอง HEPA ก่อน ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ตู้ชนิดนี้สามารถใช้ปฏิบัติงานกับจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัย ระดับ 1-3 และ ใช้ในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับ 4 อย่างมีเงื่อนไข

ตู้ชีวนิรภัย Class II แบ่งออกได้ 4 ชนิด คือ Class II Type A1, Class II Type A2, Class II Type B1 และ Class II Type B2

ตู้ชีวนิรภัย Class II Type A1 มีความเร็วลมผ่านเข้าหน้าตู้อย่างน้อย 75 ฟุตต่อนาที ระบายอากาศออก 30% หมุนเวียนอากาศภายในตู้ 70% BSC Class II Type A1 ที่ผลิตหลังปีพ.ศ. 2551 จะมีการเพิ่มช่องความดันอากาศสลักรอบทางเดินอากาศรวมปนเปื้อน เพื่อป้องกันการรั่วไหลของจุลชีพหากมีรอยรั่วที่ตู้ชีวนิรภัยไม่ควรใช้ตู้ชนิดนี้กับงาน ด้านจุลชีพที่มีการใช้สารเคมีอันตราย สารเคมีไวไฟ หรือสารกัมมันตรังสีร่วมด้วย

ตู้ชีวนิรภัย Class II Type A2 มีความเร็วลมผ่านเข้าหน้าตู้เพิ่มขึ้น จาก Type A1 เป็นอย่างน้อย 100 ฟุตต่อนาที ระบายอากาศออก 30% หมุนเวียนอากาศภายใน ตู้ 70% BSC Class II Type A2 ต้องมีช่องความดันอากาศสลักรอบทางเดินอากาศรวมที่ปนเปื้อน เพื่อป้องกันการกระจายของจุลชีพหากตู้รั่ว ตู้ชนิดนี้สามารถต่อกับระบบระบายอากาศ ผ่านชุดฝาครอบดูดควัน (canopy) ได้จึงสามารถใช้งานได้กับงานด้านจุลชีพที่มีการใช้สารเคมีไวไฟ สารเคมีอันตราย สารเคมีไวไฟ หรือสารกัมมันตรังสีร่วมด้วย แต่ต้องในปริมาณน้อยเท่านั้น และถ้าต้องใช้งานดังกล่าวจะต้องต่อกับระบบระบายอากาศของอาคาร เพื่อระบายไอระเหยสารเคมี ออกไปนอกตัวอาคาร การเชื่อมต่อต้องใช้ชุดฝาครอบดูดควันเท่านั้น ห้ามเชื่อมต่อแบบปิดเด็ดขาด โดยชุดฝาครอบดูดควันจะมีช่องเปิดเพื่อดูดเอาอากาศภายในห้องเข้าไปในท่อระบายอากาศ หน้าที่เป็นเหมือนกลไกในการป้องกันไม่ให้ไอระเหยสารเคมีหลุดออกไปในห้องปฏิบัติการ และมีกลไกป้องกันในกรณีที่ระบบระบายอากาศของอาคารไม่ทำงาน เพื่อให้ตู้ชีวนิรภัยยังสามารถป้องกันการรั่วไหลของจุลชีพได้

ตู้ชีวนิรภัย Class II Type B มีความเร็วลมผ่านเข้าหน้าตู้อย่างน้อย 100 ฟุต ต่อนาที พัดลมภายในตู้ชีวนิรภัย ทำหน้าที่ในการดูดอากาศเข้ามาในตู้หรือหมุนเวียนอากาศในตู้ แต่ไม่มีหน้าที่ในการระบายอากาศออกจากตู้การระบายอากาศออกจากตัวตู้ ต้องอาศัยพัดลมอีกตัวได้แก่ พัดลมระบายอากาศของอาคาร ทำให้ตู้ชีวนิรภัยชนิดนี้จำเป็นต้องต่อกับระบบ ระบายอากาศของอาคาร และเป็นการเชื่อมต่อแบบปิดเท่านั้น ซึ่งต้องมีระบบ interlock ซึ่งเป็นกลไกป้องกัน ในกรณีที่พัดลมระบายอากาศของอาคารระบายอากาศลดลงเกิน 20% ระบบ interlock จะตัดการทำงานของพัดลมภายในตู้ชีวนิรภัยเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเป่าลมจากพื้นที่ปฏิบัติงานออกทางช่องเปิดด้านหน้าตู้ก่อให้เกิดจุลชีพรั่วไหล ตู้ชนิดนี้แบ่งย่อยออกเป็น 2 ชนิด คือ Class II Type B1 และ Class II Type B2

ตู้ชีวนิรภัย Class II Type B1 เป็นตู้ชีวนิรภัยที่มีการนำอากาศมาไหล เวียนภายในตู้ 30% และระบายอากาศออก 70% อากาศที่นำกลับมาไหลเวียนภายในตู้และอากาศที่ระบายออกจากตู้จะถูกกรองด้วยแผ่นกรอง HEPA ก่อน สามารถใช้งานได้กับงานด้านจุลชีพ ที่ต้องมีการใช้สารเคมีที่มีไอระเหย สารเคมีอันตราย สารเคมีไวไฟ หรือสารกัมมันตรังสีร่วมด้วย แต่ควรใช้เพียงปริมาณน้อย ถ้าหากมีการใช้งานด้านสารเคมีหรือสารกัมมันตรังสีในปริมาณ มากควรใช้ตู้ชีวนิรภัยชนิด Class II Type B2

ตู้ชีวนิรภัย Class II Type B2 เป็นตู้ชีวนิรภัย ที่ไม่มีการหมุนเวียนอากาศกลับมาใช้ภายในตู้อากาศที่ไหลเข้าตู้จะถูกระบายออก 100% และอาศัยพัดลมระบาย อากาศของอาคารในการระบายอากาศออกจากตู้จึงต้อง

ต่อกับระบบระบายอากาศและเป็นการเชื่อมต่อแบบปิดเท่านั้น ตู้ชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้กับงานด้านจุลชีวะที่มีการใช้สารเคมีหรือ สารกัมมันตรังสีร่วมด้วยในปริมาณมาก หรือมีการใช้สารเคมีกับงานจุลชีวะบ่อย

ตู้ชีวนิรภัย Class III เป็นตู้ชีวนิรภัยที่เป็นระบบปิด มีวัสดุแข็งแรงกั้นกลางระหว่าง ผู้ใช้งานกับชิ้นงาน เช่น กระฉก สามารถติดตั้งในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยได้ทุกระดับ

การปฏิบัติงานกับตู้ชีวนิรภัย เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง เพราะหากปฏิบัติงานอย่างไม่ถูกต้อง นอกจากจะทำให้ชิ้นงานปนเปื้อน อาจทำให้เชื้อจุลชีวะรั่วไหลออกมาภายนอก ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน ผู้ร่วมงานและสิ่งแวดล้อม เราสามารถแบ่งระยะในการปฏิบัติงาน กับตู้ชีวนิรภัยได้เป็น 3 ระยะ คือ ก่อนการใช้งาน ขณะใช้งาน และหลังการใช้งาน โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ก่อนการใช้งาน

1. พิจารณาลักษณะงาน ต้องใช้งานตู้ประเภทใด
2. ตรวจสอบว่าตู้ได้รับการตรวจรับรอง และอยู่ในช่วงของการรับรอง
3. ประเมินความเสี่ยงของงาน
4. ทราบวิธีการจัดการลดการปนเปื้อนกรณีเกิดการรั่วไหล (spill decontamination)

5. สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล” (Personal Protective Equipment, PPE) หมายถึง เครื่องแต่งกายพิเศษและวัสดุอุปกรณ์ที่บุคคลใช้สวมใส่ปกป้องร่างกาย เพื่อป้องกันการ สัมผัสกับเชื้อโรค ช่วยป้องกัน และ ลดโอกาสติดเชื้อขณะปฏิบัติงาน

6. ตรวจสอบ drain valve ให้อยู่ในตำแหน่งปิด

7. การเปิดตู้ใช้งาน

- 7.1 เปิดกระฉกสูงตามที่กำหนด
- 7.2 เปิดพัดลม ไว้ก่อนอย่างน้อย 5 นาที
- 7.3 ตรวจสอบสัญญาณเตือนต่างๆ
- 7.4 ตรวจสอบทิศทางการไหลของอากาศ
- 7.5 ตรวจสอบ magnehelic gauge (อุปกรณ์วัดความดัน)
- 7.6 ทำความสะอาดฆ่าเชื้อผิวภายในตู้ทุกด้าน ด้านหน้า ด้านหลัง ด้านข้างทั้ง สองด้าน และพื้นที่ปฏิบัติงาน
- 7.7 จัดเตรียมงานและอุปกรณ์ที่จำเป็น
- 7.8 ควรมีตารางจองการใช้งานเครื่องและป้ายเตือนว่ากำลังใช้เครื่องแขวนไว้ หน้าห้องขณะใช้งาน

1. ทำความสะอาดลดการปนเปื้อนเชื้อวัสดุอุปกรณ์ทุกชนิดก่อนนำเข้าสู่ตู้

2. แบ่งพื้นที่ทำงานออกเป็นสามส่วน คือ ส่วนของสะอาด ส่วนทำงาน และ ส่วนของปนเปื้อน/ขยะ
3. อุปกรณ์ขนาดใหญ่ให้วางค่อนไปทางด้านหลังตู้
4. เคลื่อนมือเข้าออกตู้โดยตรงๆ ให้ชิดตะแกรงด้านหน้า ไม่กวาดมือเข้าออก
5. ห้ามวางสิ่งของ เช่น สมุดโน้ต หรือ วัสดุอื่นใดทับบริเวณตะแกรงด้านหน้า
6. ไม่ควรใช้ตะเกียบบนเสน
7. ปฏิบัติงานตามหลักปลอดภัย
8. ทิ้งขยะปนเปื้อนรวมทั้งถุงมือภายในตู้
9. ไม่ใช่ตู้ชีวนิรภัยเป็นที่เก็บของ
10. หากเกิดสัญญาณหรือความผิดปกติกับตู้ให้ปิดภาชนะทุกอย่างในตู้ และแจ้ง ผู้เกี่ยวข้อง ห้ามปิดการทำงานของตู้โดยเด็ดขาด

หลังการใช้งาน

1. ปิดฝาภาชนะทุกชนิด
2. ทิ้งขยะไม่มีคมและถอดถุงมือ ทิ้งถุงขยะติดเชื้อภายในตู้
3. รวบปิดปากถุงแล้วพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อภายนอกถุงขยะ ก่อนนำออกมาจากตู้เพื่อทำลาย
4. เช็ดฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ทุกชิ้นก่อนนำออกจากตู้
5. อุปกรณ์ที่ปนเปื้อน และขยะควรได้รับการฆ่าเชื้ออย่างถูกต้องตามวิธีปฏิบัติของหน่วยงาน
6. ทำความสะอาดฆ่าเชื้อพื้นผิวภายในตู้
7. ปิดไฟ ปิดกระจกนิรภัย ปิดพัดลม

สำหรับการฆ่าเชื้อด้วยหลอดรังสีอัลตราไวโอเล็ต หรือรังสียูวี (UV) นั้น ไม่สามารถนำมาใช้แทนการทำ ความสะอาด พื้นผิวการทำงานได้หากต้องการใช้งานหลอด UV ต้องมีการทำความสะอาดหลอดและตรวจวัด ความเข้มแสงเป็นประจำทุกสัปดาห์โดยความเข้มแสง UV ต้องไม่น้อยกว่า 40 ไมโครวัตต์ต่อ ตารางเซนติเมตร และเนื่องจากแสง UV อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ได้ หากไม่ระมัดระวัง จึงควรปิดพัดลมและปิดกระจกนิรภัย ก่อนใช้งานหลอดยูวีรวมทั้งควรเปิดใช้งาน 30 นาที ก่อนและหลังใช้งาน เมื่อไม่มีผู้อื่นอยู่ในห้อง

การตรวจรับรองตู้ควรดำเนินการเมื่อ

1. หลังติดตั้งเสร็จ (ก่อนเริ่มใช้งาน)

2. หลังการซ่อม หรือเปลี่ยน HEPA filter
3. หลังเคลื่อนย้ายไปที่อื่น
4. ตามระยะเวลาที่กำหนด หรืออย่างน้อยทุก 1 ปี

สำหรับพารามิเตอร์ที่ต้องใช้ในการตรวจสอบหรือตรวจรับรองตู้ชีวนิรภัยต้องประกอบไปด้วยหัวข้อสำคัญ ดังต่อไปนี้

1. การวัดความเร็วลมผ่านพื้นที่ปฏิบัติงาน (Down flow velocity test)
2. การวัดความเร็วลมเข้าหน้าตู้ (Inflow velocity test)
3. การทดสอบหารอยรั่วของ HEPA Filter (HEPA filter leak test)
4. การทดสอบรูปแบบการไหลของอากาศ (Airflow smoke patterns test)
5. การประเมินการติดตั้ง (Site installation assessment Test)
6. การทดสอบหารอยรั่วของตู้ (Cabinet integrity) โดยเฉพาะตู้ชีวนิรภัย Class II Type A1 หลังการเปลี่ยน HEPA หรือการซ่อมแซมขนาดใหญ่

พารามิเตอร์อื่น อาจดำเนินการเพิ่มเติมได้แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของตู้อย่างปลอดภัย ซึ่งประกอบด้วย การตรวจไฟรั่ว ความเข้มแสง ความสั่นสะเทือน หรือความดัง

การเชื่อมต่อตู้ชีวนิรภัยเข้ากับระบบระบายอากาศของอาคารมี 2 วิธี

1. การต่อผ่านชุดฝาครอบดูดควัน (canopy connection) เป็นอุปกรณ์สำหรับเชื่อมต่อ ตู้ชีวนิรภัย Class II Type A2 เข้ากับระบบระบายอากาศของอาคาร เพื่อใช้ดูดไอระเหยสารเคมีที่ใช้ภายในตู้ชีวนิรภัยออกไปเจือจางด้วยอากาศนอกอาคาร ชุดฝาครอบดูดควันมีลักษณะ พิเศษ คือ มีช่องเปิดสำหรับให้อากาศจากภายนอกเข้าไปรวมกับอากาศที่ระบายออกจากตู้ชีวนิรภัย สร้างเป็นม่านอากาศกันไม่ให้ไอระเหยสารเคมีเล็ดรอดออกสู่อากาศภายในห้องปฏิบัติการ ชุดฝาครอบดูดควันจะมีกลไกที่ช่องเปิด สำหรับป้องกันการไหลย้อนกลับของอากาศ เมื่อระบบระบายอากาศเกิดขัดข้อง เช่น เมื่อพัดลมดูดอากาศไม่ทำงาน อากาศที่ระบายออกจากตู้ จะไม่ถูกดูดออกทางท่อระบายอากาศ และไหลย้อนกลับลงมาทางตัวตู้กลไกที่ช่องเปิดจะปล่อยอากาศที่ไหลย้อนนี้ออกมาสู่ห้องปฏิบัติการ เป็นการป้องกันไม่ให้อากาศไหลย้อนทิศลงมาในตู้ และออกมาทางช่องเปิดด้านหน้าตู้ แม้ว่าไอระเหยสารเคมีอาจกระจายสู่อากาศในห้องปฏิบัติการ แต่อันตรายจากการเกิดจุลชีพฟุ้งกระจายยังถูกกักกันให้อยู่ภายในตู้ชีวนิรภัย

2. การต่อกับระบบระบายอากาศแบบปิด (hard duct) เป็นการเชื่อมต่อตู้ชีวนิรภัย Class II Type B เข้ากับระบบระบายอากาศของอาคาร อากาศที่ระบายออกจากตู้ชีวนิรภัยจะถูกดูดออกไปเจือจางนอกอาคาร โดยพัดลมดูดอากาศที่อยู่ในระบบระบายอากาศของอาคาร ดังนั้นหากพัดลมระบายอากาศไม่ทำงาน อากาศที่

ระบายออกจากตู้จะไหลย้อนกลับเข้าไปทางตัวตู้ และหากตู้ชีวนิรภัยไม่มีกลไกตัดระบบพัดลมภายในตู้ก็จะเกิดการเป่าอากาศที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์ ภายในตู้ชีวนิรภัยออกมาทางช่องเปิดด้านหน้าตู้ แพร่กระจายสู่ผู้ปฏิบัติงาน และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการเลือกซื้อตู้ชีวนิรภัย Class II Type B ที่ต้องต่อแบบปิดกับระบบระบายอากาศ ต้องมั่นใจว่าระบบระบายอากาศของอาคารมีความพร้อมรองรับตู้ชีวนิรภัย และในการตรวจรับรองตู้จะต้องมีการตรวจสอบระบบการตัดพัดลมภายในตู้และระบบการเตือนภัย เมื่อแรงลมในท่อระบายอากาศลดลงเกินกำหนด

สถานที่ติดตั้งตู้ชีวนิรภัย ข้อควรคำนึงถึงเกี่ยวกับสถานที่ติดตั้งตู้ชีวนิรภัย ได้แก่

1. ควรวางให้ห่างจากแหล่งกำเนิดลม เช่น หัวจ่ายเครื่องปรับอากาศ พัดลม เครื่องปรับอากาศ หน้าต่าง ประตูด้านบนของตู้ควรห่างจากเพดาน อย่างน้อย 30-36 เซนติเมตร เพื่อให้มีช่องว่างในการตรวจรับรองและการซ่อมแซมตู้ควรวางให้ด้านหลังตู้ห่างจากกำแพง อย่างน้อย 30 เซนติเมตร และวางให้ด้านข้างของตู้ห่างจากอุปกรณ์อื่นอย่างน้อย 15 เซนติเมตร แต่หากจะวางไว้ข้างตู้ชีวนิรภัย หรืออุปกรณ์ควบคุมอื่นควรวาง ให้ห่างกันอย่างน้อย 30 เซนติเมตร

2. อากาศไหลเวียนในห้องปฏิบัติการต้องมีปริมาณมากพอ ไม่ควรติดตั้งตู้ชีวนิรภัย ประเภทที่ต้องต่อกับระบบระบายอากาศในห้องที่มีขนาดเล็กและการไหลเวียนของอากาศเข้าสู่ห้องไม่ดีพอ รวมไปถึงห้องที่ต้องควบคุมความดันอากาศ เช่น ห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับ 3 หรือ clean room เป็นต้น เนื่องจากขณะใช้งานตู้ชีวนิรภัย ระบบระบายอากาศจะทำงานและดูดอากาศภายในห้องออกตลอดเวลาจึงต้องมั่นใจว่าภายในห้องปฏิบัติการนั้นมีอากาศเข้าสู่ห้อง มากเพียงพอ

3. ตู้ชีวนิรภัยควรต่อตรงเข้ากับเบรกเกอร์และแยกจากเครื่องใช้ไฟฟ้าชนิดอื่น และควรต่อกับอุปกรณ์สำรองไฟเพื่อกันไฟกระชาก ไฟตก หรือ ไฟดับ

5.2 ตู้ดูดควัน (Fume hood)

ตู้ดูดควัน เป็นเครื่องมือควบคุมการฟุ้งกระจายของไอสารเคมี ทำหน้าที่ป้องกันสารเคมีจากผู้ปฏิบัติงานเท่านั้น (Personnel Protection only) จึงควรติดตั้งไว้บริเวณด้านในสุดของห้องและต้องห่างจากประตู หน้าต่างหรือทางเดิน เพื่อป้องกันการเคลื่อนที่ของอากาศบริเวณประตูหน้าต่าง ซึ่งอาจรบกวนระบบไหลเวียนอากาศของตู้ดูดควัน และขณะใช้งานเครื่อง ควรยืนห่างจากตู้ประมาณ 6 นิ้ว ควรสวมถุงมือ แว่นตานิรภัย และเสื้อคลุม และไม่ควรถูกตู้ดูดควันเป็นที่เก็บสารเคมี หลักการทำงานเริ่มจากการดูดอากาศภายในบริเวณที่เครื่องนี้ตั้งอยู่ ผ่านทางด้านหน้าของเครื่องไปทางผนังด้านหลัง และไหลไปตามท่อลมนอกเครื่องจนส่งออกสู่ภายนอกอาคารในที่สุด เป็นลักษณะตู้ดูดควันแบบต่อท่อ ซึ่งตำแหน่งการติดตั้งชุดพัดลม (Blower/Fan) ไม่ว่าจะอยู่ภายในเครื่องหรือนอกเครื่อง และมีระบบการกรอง (Filtration) เพื่อดูดซับกลืนสารเคมีเหล่านั้นไว้แทน เป็นตู้ดูดควันแบบไร้ท่อ แบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 ใช้กับตัวอย่างที่ระเหยได้

กลุ่มที่ 2 ใช้กับตัวอย่างกรดไฮโดรฟลูออริก (กรดกัดแก้ว) ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ สารต่างๆ ในอุตสาหกรรมยาและพอลิเมอร์ เช่น เทฟลอน

กลุ่มที่ 3 กลุ่มใช้กับกรด ต่างทั่วไป สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และตัวทำละลายต่าง ๆ

5.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

เครื่องหมุนเหวี่ยง เป็นเครื่องมือใช้แยกตัวอย่างของเหลวออกจากของแข็งอนุภาคขนาดเล็กหรือใช้เพื่อแยกของเหลวหลายชนิดที่มีความถ่วงจำเพาะต่างกันให้เกิดการแยกชั้น โดยอาศัยแรงหนีศูนย์กลาง (centrifuge force) ที่เกิดจากการหมุนรอบจุดหมุน (center of rotation) ควรสอบเทียบ ความถี่อย่างน้อยปีละครั้ง หรือหลังการซ่อมเครื่อง โดยอาศัยหลักการเร่งให้อนุภาคตกตะกอนเร็วขึ้น ภายใต้สนามของแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง แรงแบนของอนุภาคจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับแรงหนีศูนย์กลาง ทำให้อนุภาคนอนกันด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ภายใต้สนามแรงหนีศูนย์กลางอนุภาคจะตกตะกอนด้วยอัตราเร็วที่ไม่เท่ากัน การปั่นแยกตะกอน จึงต้องใช้เวลาานพอเพียงที่อนุภาคขนาดเล็กจะนอนกันหมด จะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วน ตะกอน (pellet) และส่วนของเหลว

เครื่องหมุนเหวี่ยงมีแกนหมุนเป็นมอเตอร์ไฟฟ้า เมื่อมีกระแสไฟฟ้าเข้ามอเตอร์จะเหนี่ยวนำให้เกิดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า และทำให้แกนมอเตอร์หมุน ความเร็วรอบในการหมุน (rpm = round per minutes) ควบคุมด้วยวงจรไฟฟ้า ส่วนเวลาที่ใช้ในการหมุนควบคุมด้วย สวิตช์ปิด-เปิด หรือนาฬิกา

ความเร็วรอบและแรงหนีศูนย์กลาง

การแยกสารด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงต้องมีการกำหนดเวลา และแรงหนีศูนย์กลางสำหรับงานนั้นๆ เสมอ ซึ่งในบางครั้งจะพบว่า มีการกำหนดเป็นค่าความเร็วรอบของการหมุนโรเตอร์ ซึ่งอาจเกิดปัญหากับการใช้งานในกรณีที่ต้องการความถูกต้องของแรงหนีศูนย์กลาง แรงหนีศูนย์กลางสัมพัทธ์ (relative centrifugal force) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับรัศมีการหมุนไม่เท่ากัน ดังนั้นการกำหนดวิธีการแยกสารด้วยค่าความเร็วรอบจึงไม่ใช่วิธีการที่เป็นมาตรฐาน ปัจจุบันบริษัทผู้ผลิตจึงมักจะเตรียมตารางเทียบค่าทั้งสองที่ใช้กับโรเตอร์แต่ละชนิดของผู้ผลิตไว้แล้ว หรือผู้ใช้สามารถทำการคำนวณได้เอง โดยการใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$RCF = 1.12r (RPM/1000)^2 \text{ หรือ}$$

$$RPM = 103(RCF/1.12r)^{0.5}$$

RCF = แรงหนีศูนย์กลางสัมพัทธ์ หน่วยเป็น $\times g$ เช่น $\times 10000g$ คือ เร่งความเร็วด้วยอัตราทำให้เหมือนอนุภาคนั้นถูกแรงกระทำเท่ากับ 10000 เท่าของแรงโน้มถ่วงโลก

r = รัศมีการหมุน หน่วยเป็น มิลลิเมตร

RPM = อัตราความเร็วรอบ หน่วยเป็น รอบ/นาที (round per minute)

โครงสร้างของเครื่องหมุนเหวี่ยง

ประกอบด้วยโครงสร้างหลัก 4 อย่างคือ

มอเตอร์และอุปกรณ์ทดรอบ (Motor and Gear box) มอเตอร์เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่หลักให้เกิดการหมุนรอบแกน มี 2 ชนิด คือ ชนิดที่ใช้แปรงถ่าน (brush drive) และชนิดที่ไม่ใช้แปรงถ่าน (brushless)

inductive drive) สำหรับเครื่อง Ultra speed centrifuge (100,000 รอบ/นาที) จะมีชุดเฟืองทดรอบการหมุน (gear box) เพื่อเพิ่มความเร็วยรอบของแกนหมุน

โรเตอร์ (Rotor) เป็นส่วนสำหรับบรรจุภาชนะใส่ตัวอย่าง เมื่อเกิดการหมุนโดยการผลักรของมอเตอร์จะเกิดแรงหนีศูนย์กลางขึ้นในบริเวณโรเตอร์ วัสดุที่ใช้ทำโรเตอร์มีหลายชนิด เช่น aluminium titanium polypropylene ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดของแรงหนีศูนย์กลาง ความเร็วรอบที่ใช้งาน ชนิดและปริมาณตัวอย่างที่ใช้ ส่วนรูปแบบของโรเตอร์มีให้เลือกตามลักษณะการใช้งาน เช่น ห้องปฏิบัติการชั้นสูง ส่วนใหญ่จะใช้โรเตอร์แบบ Swing bucket rotors และ Fixed angle rotors

Chamber เป็นส่วนที่มีโรเตอร์ติดตั้งอยู่ภายใน ปกติจะมีฝาปิดมิดชิด และฝานี้จะไม่สามารถเปิดออกได้ขณะที่โรเตอร์กำลังหมุนอยู่ เพื่อสร้างความปลอดภัยในการใช้งานเครื่องหมุนเหวี่ยง

Control Panel ส่วนของแผงควบคุมการทำงานของเครื่องหมุนเหวี่ยง มีปุ่มควบคุมการทำงานมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดและขนาดของเครื่อง

Refrigerated system เป็นระบบทำความเย็นเพื่อลดอุณหภูมิให้กับตัวอย่าง เนื่องจากตัวอย่างบางชนิดอาจเกิดการเปลี่ยนสภาพเมื่อได้รับความร้อน สามารถทำความเย็นได้ต่ำสุดถึง -20 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบความเร็วรอบและเวลาที่ใช้ก่อนการปั่นทุกครั้ง
2. ตรวจสอบความสมดุลของหัวปั่น (rotor) ก่อนการปั่นทุกครั้ง
3. ตรวจสอบคุณภาพของขอยางต้องติดเรียบกับเครื่องและยางไม่เสื่อมสภาพ
4. ตรวจสอบฝาปิดของตัวเครื่องต้องปิดสนิท อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

การบำรุงรักษา

1. ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องจากบริษัทผู้ผลิต
2. ถอดปลั๊กเครื่องปั่น ก่อนทำการบำรุงรักษาทุกครั้ง
3. ทำความสะอาดภายในและภายนอกเครื่องหลังใช้งานทุกวัน
4. เมื่อมีตัวอย่างกระเด็นหรือหกตกในเครื่อง ให้ทำความสะอาดภายในตัวเครื่อง หัวปั่น และกระบอกใส่หลอดปั่น (bucket) โดยใช้แอลกอฮอล์ 70 % หรือน้ำยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับงาน

5.4 เครื่องชั่ง (Electronic balance)

เครื่องชั่ง เป็นเครื่องมือที่ใช้ชั่งสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ ในการเลือกเครื่องชั่งต้องทราบน้ำหนักต่ำสุดและสูงสุดที่ต้องการชั่ง และความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้

ก่อนเริ่มใช้งานเครื่องชั่งหรือตาชั่งทุกครั้ง ควรเปิดเครื่องทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เพื่อเป็นการ Warm เครื่องชั่งให้เครื่องพร้อมในการใช้งาน การชั่งน้ำหนักแต่ละครั้งควรวางวัตถุที่ต้องการชั่งให้อยู่ตรงกลางจานชั่งเสมอและก่อนวางวัตถุลงบนจานชั่ง ควรสังเกตดูว่าหน้าจอแสดงผลนั้นแสดงค่าเป็นศูนย์อยู่หรือไม่ ถ้าไม่ควรปรับให้ค่าแสดงผลเป็นศูนย์ก่อนเสมอ (Tare/Zero check) ในการอ่านค่าแต่ละครั้ง ควรให้ค่าที่แสดงนิ่งก่อน หรือมีสัญญาณในการอ่านค่าแสดงขึ้นจึงสามารถอ่านค่าได้ รวมทั้งแต่ละวันควรตรวจสอบการใช้งานทุกวันด้วย ต้มน้ำหนัก (check weight) ที่มีน้ำหนักใกล้เคียง กับช่วงน้ำหนักที่ใช้งาน และควรวางเครื่องชั่งบนโต๊ะที่มั่นคง แข็งแรงและไม่มีอุปกรณ์อื่นที่ทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือนบนโต๊ะเดียวกัน

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายในห้องมีผลในการอ่านค่าน้ำหนักที่ทำการชั่ง ปัจจัยเหล่านั้นได้แก่

อุณหภูมิ: อุณหภูมิภายในห้องมีผลกระทบต่อค่าน้ำหนักที่ชั่ง ดังนั้นเวลาเราทำการชั่งน้ำหนักเราควรรักษาอุณหภูมิในห้องให้คงที่เสมอเพราะหากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงไปแม้แค่ 1 องศาค่าน้ำหนักที่อ่านอาจเกิดการผิดพลาดได้

ความชื้นสัมพัทธ์: ความชื้นของอากาศทำให้ค่าน้ำหนักที่อ่านได้เกิดการผิดพลาดได้เช่นกัน ควรรักษา ระดับความชื้นให้อยู่ที่ 45-60% และควรควบคุมให้คงที่อยู่เสมอ

แสงสว่าง: แสงสว่างก็มีผลที่ทำให้ค่าน้ำหนักที่วัดได้นั้นไม่แม่นยำเนื่องจากบริเวณที่มีแสงสว่างมากจะทำให้อุณหภูมิบริเวณนั้นเปลี่ยนแปลงได้ เวลาเราวางเครื่องชั่งนั้นควรให้ห่างไกลจากแหล่งกำเนิดแสงต่างๆ เช่น หลอดไฟ, บริเวณหน้าต่าง เป็นต้น

กระแสลม: กระแสลมเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้ค่าน้ำหนักที่อ่านได้นั้นเกิดความผิดพลาดได้ ไม่ควรวางเครื่องชั่งในบริเวณที่มีกระแสลม เช่น กระแสลมจากเครื่องปรับอากาศ บริเวณใกล้ประตูหรือหน้าต่าง บริเวณที่อยู่ใกล้อุปกรณ์ที่มีการระบายอากาศ บริเวณที่มีคนเดินผ่านไปมาบ่อยครั้ง เป็นต้น

เครื่องชั่งน้ำหนักมี 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามหลักการทำงานได้ ได้ดังนี้

1. เครื่องชั่งระบบแมคคานิกส์ (Mechanical Scale) หรือเครื่องชั่งแบบไม่ใช้ไฟฟ้า โดยใช้หลักการของ คานถ่วงคูลน้ำหนัก หลักการของสปริง เพื่อให้เกิดแรงกดหรือแรงดึงแล้วเปลี่ยนเป็นน้ำหนักของวัตถุที่ชั่งมาแสดงที่ค่าน้ำจอโดยการส่งผ่านแรงทางกล หรืออาศัยกลไกต่างๆ ภายใน เช่น เครื่องชั่งแบบเข็ม เครื่องชั่งสปริง เครื่องชั่งคานเลื่อน เครื่องชั่งแขวน มีข้อดีคือมีความทนทาน ราคาไม่แพงมาก (ขึ้นอยู่กับความแม่นยำ) ใช้งานง่าย ไม่จำเป็นต้องตั้งค่าอะไรมาก แต่อย่างไรก็ตาม เครื่องชั่งแบบนี้จะมีความละเอียดไม่สูงมากนัก เนื่องจากมีข้อจำกัดในการแสดงผลแบบสเกล และค่า Uncertainty of Measurement

2. เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ (Digital Scales) เป็นเครื่องชั่งที่ใช้ระบบไฟฟ้าในการทำงาน มีความเที่ยงตรงสูง หรือสามารถเชื่อมต่อข้อมูลกับระบบคอมพิวเตอร์ได้ และนิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ

5.5 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

เทอร์โมมิเตอร์ เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิ จึงมีความจำเป็นต้องตรวจสอบความถูกต้องในการใช้งาน ซึ่งทั่วไปเทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

5.5.1. Liquid in glass thermometer ต้องผ่านการสอบเทียบทุก 5 ปี และ check ice point ทุก 6 เดือนเทอร์โมมิเตอร์ชนิดนี้ มี 2 ชนิด คือ

5.5.1.1 Total-immersion เป็นชนิดที่ต้องให้เทอร์โมมิเตอร์ทั้งแท่งสัมผัสกับสิ่งที่ต้องการวัดจึงเหมาะสมสำหรับใช้ติดตามเครื่องมือควบคุมอุณหภูมิ เช่น ตู้เย็น หรือตู้อบเพาะเชื้อ

5.5.1.2 Partial-immersion เป็นชนิดที่ให้บางส่วนของแท่งเทอร์โมมิเตอร์สัมผัสกับสิ่งที่ต้องการวัดจึงเหมาะสมสำหรับใช้วัดอุณหภูมิของอ่างน้ำร้อน

5.5.2. Digital thermometer ประกอบด้วย เซ็นเซอร์หรือโพรบ หรือมิเตอร์ที่อ่านค่า เชื่อมต่อกับสายต่อ (lead) ต้องผ่านการสอบเทียบทุก 2 ปี เป็นเทอร์โมมิเตอร์นิยมใช้มาก เพราะสามารถนำมิเตอร์ที่อ่านค่าไว้นอกตัวตู้ที่ต้องการวัดได้ในระยะห่างมากที่สุด เท่ากับความยาวของสายต่อระหว่างเซ็นเซอร์หรือโพรบ หรือมิเตอร์ แต่ทั้งนี้ต้องเลือกชนิดของโพรบให้เหมาะสมกับสิ่งที่ต้องการวัด เช่น ถ้าวัดในของเหลวต้องใช้โพรบที่จุ่มในของเหลวได้

การบำรุงรักษาและข้อควรระวัง

1. Liquid in glass thermometer ตรวจสอบช่องว่างหรือฟองอากาศใน column อย่างน้อยทุกเดือน
2. Digital thermometer ตรวจสอบอายุของแบตเตอรี่อย่างน้อยทุกเดือน
3. ตรวจสอบการบิดงอของสาย (lead) ที่ต่อระหว่างเซ็นเซอร์หรือโพรบ หรือมิเตอร์
4. กรณีสารปรอทหกเลอะ ปริมาณน้อย ให้ทำความสะอาดโดยโรยผงกำมะถันคลุมบนปรอท กรณีปริมาณมาก ใช้ปูนขาวแห้ง หทรายและผงกำมะถันหรือโซดาแอชแทน แล้วทำความสะอาดพื้นและเช็ดให้แห้ง

5.6 เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง (Autoclave)

เครื่องนึ่งไอน้ำแรงดันสูง เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรค จุลินทรีย์ขนาดเล็ก โดยใช้ไอน้ำร้อน และอยู่ในระบบปิดเพื่อให้เกิดแรงดันอากาศสูง ใช้หลักการให้ไอน้ำไปแทนที่อากาศในตัวถังจนหมด ทำให้เครื่องมือ อุปกรณ์ ของที่ผ่านการอบไอน้ำอ้อมตัวด้วยความดันสูง อยู่ในสภาพปราศจากเชื้อ การนึ่งฆ่าเชื้อโดยทั่วไปจะใช้สภาวะที่ อุณหภูมิ 121 -132 องศาเซลเซียส แรงดันอากาศของไอน้ำ ที่ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (PSI) โดยใช้ระยะเวลาหนึ่ง 15-20 นาที เนื่องจากอุณหภูมิของไอน้ำอ้อมตัว มีความสัมพันธ์กับกับความดัน ดังนั้นจึงต้องทำการสอบเทียบ และตรวจการใช้งาน ทำการสอบเทียบปีละครั้ง หรือหลังการซ่อมเครื่อง

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ใช้อัตoclave เทป (Autoclave indicator tape) ติดที่สิ่งของทำให้ปราศจากเชื้อ หลังผ่านการใช้งาน สีของเทปจะต้องเปลี่ยนเป็นสีดำเข้ม
2. ตรวจสอบการบันทึกอุณหภูมิ ความดันด้วยหน่วยวัดปอนด์ต่อตารางนิ้ว และเวลาที่ใช้งานทุกครั้ง
3. ตรวจสอบการทำงานและประสิทธิภาพเครื่องสัปดาห์ละครั้งด้วยการทดสอบ spore test โดยใช้สปอร์ของ *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953

การบำรุงรักษา

1. เปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดทุกวัน หรืออย่างน้อยทุกสัปดาห์หรือเมื่อมีอาหารเลี้ยงเชื้อปนเปื้อน
2. ก่อนใช้งานทุกครั้งต้องตรวจสอบระดับน้ำในตัวเครื่อง ให้อยู่ในระดับที่กำหนด ควรใช้น้ำกรอง ไม่ควรใช้น้ำประปา เพราะทำให้เกิดตะกอนจับตัวในเครื่อง

5.7 ตู้บเพาะเชื้อ (Incubator)

ตู้บเพาะเชื้อ เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเจริญเติบโตและควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมตามความชื้นและเงื่อนไขอื่น ๆ เช่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และปริมาณออกซิเจนในบรรยากาศภายในเครื่อง

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. อุณหภูมิที่จุดใช้งาน และเกณฑ์การยอมรับ เช่น 35 ± 2 °C (สำหรับการทดสอบ *Staphylococcus* spp. ที่อุณหภูมิมากกว่า 35 °C อาจตรวจไม่พบ MRSA)
2. ตรวจสอบอุณหภูมิทุกวันอย่างน้อยวันละครั้ง โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ซึ่งอ่านค่าละเอียด 0.1 °C ที่ผ่าน การสอบเทียบ และมีความถูกต้องของการวัด โดยมีค่าความผิดพลาดสูงสุดที่ยอมรับได้ของเครื่องมือ (Maximum permissible error; MPE) $\leq 1/3$ เท่าของ MPE ของตู้บเพาะที่ต้องการวัดพร้อมบันทึกอุณหภูมิ
3. สำหรับตู้บเพาะเชื้อชนิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตรวจสอบปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทุกครั้งที่ใช้งาน

การบำรุงรักษา

1. ทำความสะอาดภายในตู้บเพาะเชื้อเดือนละครั้ง โดยใช้สาลีชุบแอลกอฮอล์ 70% หรือน้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม

5.8 ตู้บร้อน (Hot air oven)

เครื่องที่ใช้สำหรับการอบวัสดุและอุปกรณ์ต่างๆให้แห้ง ใช้รักษาอุณหภูมิของปฏิกิริยาในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการบางชนิดให้คงที่ ใช้อบฆ่าทำลายเชื้อโรค ใช้อบเพาะเชื้อจุลชีพ ใช้หาความชื้นในตัวอย่าง เป็นต้น

หลักการทำงานตู้อบลมร้อน ความร้อนจากแหล่งกำเนิดความร้อนถูกถ่ายเทให้วัตถุ โดยกระบวนการนำความร้อน (conduction) การพาความร้อน (convection) และการแผ่รังสี (radiation) ความร้อนที่ถูกควบคุมอย่างเหมาะสมด้วยตัวควบคุมอุณหภูมิและระบบควบคุมอุณหภูมิทำให้วัตถุเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว จากของเหลวกลายเป็นไอ หรือจากของแข็งเป็นไอ โดยความร้อนจากตู้อบลมร้อนจะสัมผัสพื้นผิวด้านนอกของอุปกรณ์หรือเครื่องมือก่อน แล้วความร้อนจะค่อยๆ ถูกนำผ่านเข้าสู่เนื้อวัสดุ ดังนั้นขณะที่ความร้อนค่อยๆ ผ่านเข้าสู่เครื่องมือหรือวัสดุ เชื้อจุลชีพที่มีอยู่ที่เครื่องมือหรือวัสดุที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อจะถูกทำลาย สิ่งสำคัญที่สุดคือ การที่ความร้อนผ่านเข้าสู่อุปกรณ์อย่างทั่วถึง ไม่ใช่เพียงความร้อนสัมผัสกับพื้นผิวด้านนอกของอุปกรณ์เท่านั้น ตู้อบร้อน ต้องผ่านการสอบเทียบทุก 3 ปี

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบและบันทึกอุณหภูมิทุกครั้งที่ใช้งาน โดยกำหนดเกณฑ์ใช้งานช่วง 160-180 °C
2. ตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานให้ปราศจากเชื้อ โดยใช้สปอร์ *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 (*Bacillus subtilis* var. *niger* (*Bacillus globigii*)) ทุก 3 เดือน

การบำรุงรักษา

1. ทำความสะอาดภายในและผนังภายนอกเดือนละครั้ง โดยใช้ น้ำสะอาด

5.9 ตู้เย็น (Refrigerator)

ตู้เย็น เป็นเครื่องมือใช้ในการเก็บรักษา อาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำยา สารเคมี ใช้อุณหภูมิช่วง 2-8 °C โดยธรรมชาติสารที่มีอุณหภูมิสูงกว่าจะถ่ายโอนพลังงานไปยังบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า หากเราต้องการให้อุณหภูมิในตู้เย็นลดลงเรื่อยๆ ต้องถ่ายโอนความร้อนภายในตู้เย็นออกไปข้างนอก ซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติได้ จึงได้มีการประดิษฐ์ส่วนประกอบหนึ่งของตู้เย็นที่เรียกว่า Compressor (ถือว่าเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญที่สุดของระบบทำความเย็น ด้วยการทำหน้าที่เพิ่มความดันให้กับสารทำความเย็นที่อยู่ในสถานะเป็นไอ โดยคอมเพรสเซอร์จะดูดสารทำความเย็นที่เป็นไอความดันต่ำจากเครื่องระเหย (Evaporator) เข้ามาทางท่อดูดของคอมเพรสเซอร์และอัดไอของสารทำความเย็นนี้ให้มีความดันและอุณหภูมิที่สูงขึ้น ก่อนจะส่งไปยังคอนเดนเซอร์ (Condensor) ต่อไป)

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัดที่ ± 1 °C และได้รับการสอบเทียบอย่างน้อยปีละครั้ง นำมาใช้ตรวจสอบอุณหภูมิของตู้ทุกวัน อย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง
2. บันทึกอุณหภูมิของตู้ทุกวัน

การบำรุงรักษา

1. ทำความสะอาดภายในตู้ทุก 2 เดือน หรือหลังจากมีการซ่อมแซม
2. ทำความสะอาดถาดหรือภาชนะรองรับน้ำจากระบบละลายน้ำแข็งของระบบทำความเย็นทุกสัปดาห์

5.10 ตู้แช่แข็ง (Freezer)

ตู้แช่แข็ง เป็นเครื่องมือเก็บรักษาเชื้อ แผลยาปฏิชีวนะ น้ำยา สารเคมี ใช้อุณหภูมิช่วง -20°C หรือต่ำกว่า กรณีต้องการเก็บเชื้อจุลินทรีย์นานกว่า 5 ปี สามารถเก็บได้ที่ตู้แช่แข็ง -70°C หรือต่ำกว่า

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. กำหนดช่วงอุณหภูมิที่ยอมรับได้ของตามความต้องการใช้งาน เช่น ตู้แช่แข็ง $-20^{\circ}\text{C} = (-20^{\circ}\text{C}) \pm (2^{\circ}\text{C})$ หรือ $-70^{\circ}\text{C} = (-70^{\circ}\text{C}) \pm (5^{\circ}\text{C}) = 1/3$ ของช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุม
2. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัดที่ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ และได้รับการสอบเทียบ นำมาใช้ตรวจสอบอุณหภูมิของตู้ทุกวัน อย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง
3. บันทึกอุณหภูมิที่ตรวจสอบได้ทุกวัน

การบำรุงรักษา

1. ควรละลายน้ำแข็งภายในตู้ทุก 6 เดือน
2. เมื่อน้ำแข็งละลายหมด ทำความสะอาดภายในตู้ด้วยน้ำอุ่น และเช็ดให้แห้ง
3. ห้ามจัดเก็บสิ่งที่ต้องการเก็บรักษาในช่องแช่แข็งของตู้เย็นสำหรับครัวเรือน ซึ่งมีระบบทำความเย็นเป็นแบบละลายน้ำแข็งอัตโนมัติ เนื่องจากทำให้สิ่งที่เก็บรักษาเสื่อมสลาย

5.11 อ่างน้ำร้อน (Water Bath)

อ่างน้ำร้อน เป็นเครื่องมือที่ใช้อุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อหรือบ่มการทดสอบ โดยใช้ความร้อนจากน้ำที่อยู่ในอ่าง

การตรวจสอบขณะใช้งาน

1. ตรวจสอบระดับน้ำก่อนใช้งานทุกครั้ง
2. กำหนดช่วงอุณหภูมิที่ยอมรับได้ตามการใช้งาน
3. ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่มีความถูกต้องของการวัด 1 ส่วน 3 ของช่วงอุณหภูมิที่ต้องการควบคุมและได้รับการสอบเทียบ หรือตรวจสอบ (Intermediate check หรือ Interval check) ตามกำหนด มาใช้ตรวจสอบอุณหภูมิทุกครั้งที่ใช้ใช้งาน
4. บันทึกอุณหภูมิที่ตรวจสอบทุกครั้ง

การบำรุงรักษา

1. ควรเปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดทุกสัปดาห์ โดยใช้ น้ำกลั่นหรือน้ำกรองเท่านั้น
2. การทำความสะอาด ควรเช็ดทำความสะอาดที่ขดลวดทำความร้อนและอ่างให้สะอาด และเช็ดให้แห้ง โดยไม่ควรใช้ของมีคม หรือกระดาษทรายถูหรือขัดที่ (Heater) และอ่าง

6. การจำแนกจุลชีพก่อโรคตามกลุ่มเสี่ยง (Risk group)

การจำแนกจุลชีพก่อโรคตามกลุ่มเสี่ยงมีความจำเป็น เพื่อใช้ในการจัดระดับความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการให้เหมาะสมกับการทำงานกับจุลชีพชนิดนั้น จุลชีพก่อโรคชนิดเดียวกันอาจจัดระดับความเสี่ยงแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ทั้งนี้ขึ้นกับหลักเกณฑ์ดังต่อไปนี้

6.1 คุณลักษณะของตัวเชื้อ เช่น ปริมาณของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (dose of infection) ช่องทางการติดเชื้อ (mode of transmission) ระยะฟักตัว (incubation period) ความสามารถในการอยู่รอดนอกโฮสต์ (survival outside host) ชนิดของสิ่งมีชีวิตที่สามารถติดเชื้อ (host range) ความรุนแรงของโรค (severity)

6.2 วิธีการป้องกันและรักษา

6.3 ความชุกชุมของโรคในพื้นที่ (prevalence) เช่น จุลชีพก่อโรคที่พบประจำถิ่น ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 พ.ศ. 2560 (ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 74 ง 10 มีนาคม 2560) ได้แบ่งเชื้อโรคออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มเสี่ยงน้อยหรืออันตรายน้อย กลุ่มเสี่ยงปานกลางหรืออันตรายปานกลาง กลุ่มเสี่ยงสูง หรืออันตรายสูง และกลุ่มเสี่ยงสูงมากหรืออันตรายสูงมาก นอกจากนี้คู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการ (laboratory biosafety manual) ขององค์การอนามัยโลกได้แบ่ง จุลชีพก่อโรคออกเป็น 4 กลุ่มเสี่ยง คือ

การจำแนกจุลชีพก่อโรคตามกลุ่มเสี่ยง (Risk group)

กลุ่มเสี่ยงที่ 1 (No or low individual and community risk) จุลชีพที่ไม่ก่อโรคในมนุษย์หรือสัตว์

กลุ่มเสี่ยงที่ 2 (Moderate individual risk, low community risk) จุลชีพที่ก่อโรคในมนุษย์หรือสัตว์ แต่ไม่เป็นอันตรายร้ายแรงต่อบุคลากรในห้องปฏิบัติการ ชุมชน ปศุสัตว์หรือสิ่งแวดล้อม การติดเชื้อในห้องปฏิบัติการอาจทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง แต่มีวิธีการรักษาและการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพและความเสี่ยงในการแพร่กระจายของเชื้อโรคอยู่ในวงจำกัด

กลุ่มเสี่ยงที่ 3 (High individual risk, low community risk) จุลชีพที่ก่อโรครุนแรงในมนุษย์หรือสัตว์ แต่เชื้อไม่ติดต่อจากมนุษย์สู่มนุษย์โดยตรง มีวิธีการรักษา และ/หรือการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ

กลุ่มเสี่ยงที่ 4 (High individual risk, high community risk) จุลชีพที่ก่อโรครุนแรงในมนุษย์หรือสัตว์ และเชื้อสามารถแพร่กระจายได้ง่ายจากมนุษย์สู่มนุษย์ได้ ทั้งทางตรงและทางอ้อมยังไม่มีวิธีการรักษาหรือการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ

มาตรการความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการ

อันตรายทางชีวภาพสามารถพบได้จากสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ ซึ่งปฏิบัติงานเกี่ยวกับเชื้อก่อโรคทั้งมนุษย์และสัตว์ เชื้อโรคแต่ละชนิดมีระดับความเสี่ยงอันตรายที่แตกต่างกัน ดังนั้นการทำงานที่เกี่ยวข้องกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จำเป็นต้องมีการกำหนดระดับความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อเป็นการควบคุมให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม กล่าวคือ

1. ความปลอดภัยระดับ BSL-1 เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่ใช้เพื่อการฝึกอบรมและการสอน และห้องปฏิบัติการซึ่งทำงานเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่รู้แน่นอนแล้วว่าไม่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ พร้อมทั้งมีอันตรายน้อยมากต่อบุคลากรผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม

2. ความปลอดภัยระดับ BSL-2 เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการทำงานเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอันตรายปานกลางต่อบุคคลและสิ่งแวดล้อม และห้องปฏิบัติการที่ทำงานเกี่ยวกับเลือด น้ำจากร่างกาย เนื้อเยื่อมนุษย์และสัตว์

3. ความปลอดภัยระดับ BSL-3 เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการด้านคลินิกด้านการวินิจฉัย ด้านการสอน และด้านวิจัย รวมทั้งเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งติดต่อทางการหายใจ สามารถก่อโรคได้รุนแรงถึงแก่ชีวิต บุคลากรของห้องปฏิบัติการต้องได้รับการฝึกอบรมเป็นพิเศษ ในการดำเนินการกับเชื้อที่ก่อโรคและทำให้เกิดการตายได้ รวมทั้งต้องอยู่ภายใต้การดูแลของผู้เชี่ยวชาญที่มีความสามารถและประสบการณ์ ในการทำงานกับเชื้อจุลินทรีย์

4. ความปลอดภัยระดับ BSL-4 เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการทำงานเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอันตรายแก่บุคลากร ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อติดต่อทางละอองฟุ้งกระจายและทำให้เกิดอันตรายถึงแก่ชีวิต บุคลากรของห้องปฏิบัติได้จึงต้องมีการฝึกอบรมโดยเฉพาะและละเอียดถี่ถ้วน

ห้องปฏิบัติการชีววิทยาระดับ 1-4 เพื่อให้เกิด ความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน นอกจากนี้ต้องพิจารณาจำแนกสารชีวภาพที่ครอบครองตามระดับ ความมั่นคงทางชีวภาพ ซึ่งแบ่งออกได้ 5 ระดับ คือ

1. จุลชีพไม่ก่อโรค
2. จุลชีพก่อโรคและสารพิษที่มีความเสี่ยงต่ำ หมายถึง จุลชีพก่อโรคและสารพิษที่ทำให้คนหรือสัตว์เกิดโรคและเสียชีวิตได้แต่อยู่ในวงจำกัด มีผลต่อเศรษฐกิจค่อนข้างต่ำ
3. จุลชีพก่อโรคและสารพิษที่มีความเสี่ยงปานกลาง หมายถึงจุลชีพก่อโรคและสารพิษ ที่ทำให้คนหรือสัตว์เกิดโรคและเสียชีวิต มีผลกระทบต่อประชาชน และเกิดความเสียหายต่อ เศรษฐกิจตั้งแต่ระดับน้อยจนถึงระดับปานกลาง
4. จุลชีพก่อโรคและสารพิษที่มีความเสี่ยงสูง หมายถึงจุลชีพก่อโรคและสารพิษที่ทำให้คนหรือสัตว์เกิดโรคและเสียชีวิต มีผลกระทบต่อประชาชน และเกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจ ตั้งแต่ระดับปานกลางจนถึงระดับสูง กลุ่มนี้มีักถูกนำไปทำเป็นอาวุธชีวภาพ

5. จุลชีพก่อโรคและสารพิษที่มีความเสี่ยงสูงสุด จุลชีพก่อโรคและสารพิษกลุ่มนี้ถูกจัดเป็นกลุ่มพิเศษ เพราะไม่มีในธรรมชาติแต่เป็นจุลชีพที่ผ่านการดัดแปลงทางพันธุกรรม และมีแนวโน้มความเสี่ยงสูงในการนำไปใช้เป็นอาวุธชีวภาพ

7. การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

การสร้างความปลอดภัยต้องมีการพัฒนาบุคลากรทุกระดับที่เกี่ยวข้อง โดยให้ความรู้พื้นฐานที่เหมาะสม จำเป็น และอย่างต่อเนื่องต่อกลุ่มเป้าหมายที่มีบทบาทต่างกัน ถึงแม้องค์กร/หน่วยงานมีระบบการบริหารจัดการอย่างดี หากบุคคลในองค์กร/หน่วยงานขาดความรู้และทักษะ ขาดความตระหนัก และเพิกเฉยแล้ว จะก่อให้เกิดอันตรายและความเสียหายต่างๆ ได้ ดังนั้นแต่ละบุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับห้องปฏิบัติการจึงต้องมีความรู้พื้นฐาน และได้รับการอบรมหรือการเรียนรู้ผ่านสื่ออิเล็กทรอนิกส์ (Elearning) หรือการอ่านหนังสือที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัย โดยมีหลักฐาน เช่น ประกาศนียบัตร บันทึกการอบรม เป็นต้น เพื่อสร้างความปลอดภัยในห้องปฏิบัติ

ตาราง 2. ความรู้พื้นฐานสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้อง

รายการ	ผู้บริหาร	หัวหน้าห้องปฏิบัติการ	ผู้ปฏิบัติงาน	พนักงานทำความสะอาด
กฎหมายที่เกี่ยวข้อง	+++	+++	+	+
ระบบการบริหารความปลอดภัย	+++	+++	+	
ระบบการจัดการสารเคมี	+	+++	+++	+
ระบบการจัดการของเสีย	+	+++	+++	+
สารบบข้อมูลสารเคมี/ของเสีย	+	+++	+++	+
การประเมินของเสีย	++	+++	+++	+
ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ กับความปลอดภัย	++	+++	++	+
การป้องกันและตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน	++	+++	+++	+
อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล	+	+++	+++	+
SDS		+++	+++	
ป้ายสัญลักษณ์ด้านความปลอดภัย	++	+++	+++	+

หมายเหตุความละเอียดลึกซึ้งของเนื้อหาเพิ่มขึ้นตามจำนวนเครื่องหมาย + (ปรับได้ตามความเหมาะสม)

ที่มา: คู่มือการประเมินความปลอดภัยห้องปฏิบัติการ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ครั้งที่ 2, 2558

8. การบริหารจัดการสิ่งส่งตรวจ

การส่งตรวจ การเก็บสิ่งส่งตรวจและการนำส่งสิ่งส่งตรวจ ห้องปฏิบัติการต้องมีคู่มือแนะนำวิธีการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ โดยคำนึงถึงวิธีการเก็บตัวอย่างที่ถูกต้อง และคุณภาพของตัวอย่างส่งตรวจ แจกจ่ายให้เจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงาน เพื่อดำเนินการตรวจตัวอย่างทดสอบมีความถูกต้องชัดเจน สามารถบ่งชี้และสอบกลับได้ สอดคล้องกับข้อกำหนดระบบการบริหารงาน

1. การส่งตรวจ สามารถทำได้ 2 วิธี

1.1 ใช้ใบส่งตรวจของห้องปฏิบัติการ โดยทำเครื่องหมายให้ตรงกับช่องด้านหน้ารหัส รายการทดสอบให้ชัดเจน

1.2 ส่งตรวจบนหน้าจอคอมพิวเตอร์

2. ในใบส่งตรวจต้องระบุชื่อ นามสกุล ของเจ้าของสัตว์ป่วย ระบุเพศ อายุ ชื่อสัตว์ป่วย ชนิดส่งตรวจ วันเวลาที่ส่งตรวจและเก็บสิ่งส่งตรวจ ระบุชื่อสัตวแพทย์ผู้ส่งตรวจพร้อมรหัสสัตวแพทย์ การวินิจฉัยโรค และข้อมูลที่สำคัญทางการแพทย์ เพื่อผลการตรวจที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำและสะดวกในการติดต่อกลับในกรณีที่มีปัญหา หรือเพื่อขอข้อมูลเพิ่มเติม

3. รายการทดสอบที่ไม่มีระบุไว้ในใบส่งตรวจ ให้ติดต่อห้องปฏิบัติการเพื่อขอข้อมูล

4. การทดสอบพิเศษบางรายการต้องติดต่อล่วงหน้าซึ่งระบุในรายการตรวจนั้นๆ เพื่อผู้ปฏิบัติงานสามารถเตรียมอุปกรณ์ ล่วงหน้า ดังนั้นหากไม่มีการนัด ติดต่อล่วงหน้า จะไม่สามารถทำการทดสอบให้ได้

5. การทดสอบต่างๆ จะรายงานผลในวันที่กำหนดไว้ โดยจำนวนวันที่ระบุในช่อง “ระยะเวลาในการรายงานผล” จะหมายถึง “จำนวนวันทำการ” ไม่รวมวันหยุดเสาร์-อาทิตย์ หรือวันหยุดราชการ หรือตามข้อกำหนดให้ชัดเจน

6. กรณีที่ใบส่งตรวจไม่ชัดเจน หรือรายการส่งตรวจไม่ตรงกับรายการที่ระบุในคอมพิวเตอร์ทางห้องปฏิบัติการจะทำการทดสอบตามที่ระบุในคอมพิวเตอร์เท่านั้น หากยังไม่ครบตามที่สัตวแพทย์ส่ง และต้องการตรวจเพิ่มเติม กรุณาส่งตรวจใหม่ และหากต้องการใช้สิ่งส่งตรวจเดิม ให้ติดต่อกับทางห้องปฏิบัติการ ก่อนทุกครั้ง การขอทดสอบด่วน ในกรณีเร่งด่วน ที่ต้องการผลเร็วกว่าที่กำหนดไว้ กรุณาโทรศัพท์ติดต่อหัวหน้าห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้อง เพื่อสอบถาม ความเป็นไปได้ก่อนและเขียนส่งตรวจตามมาภายหลัง การขอทดสอบเพิ่มเติมจากสิ่งส่งตรวจเดิม กรณีต้องการขอเพิ่มการทดสอบจากสิ่งส่งตรวจเดิม กรุณาติดต่อ แจ้งห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบเพื่อ

การปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ

สิ่งส่งตรวจที่ไม่เหมาะสมกับการตรวจ จะถูกปฏิเสธและส่งคืนผู้ส่งตรวจ ซึ่งได้แก่สิ่งตรวจต่อไปนี้

1. ข้อมูลในใบส่งตรวจและสิ่งตรวจไม่ตรงกัน ไม่ครบถ้วน หรือไม่ชัดเจน เช่น ชื่อ-สกุล ชนิดของสิ่งตรวจ การทดสอบ เป็นต้น
2. ภาชนะที่ใส่สิ่งตรวจไม่ใช่ภาชนะปราศจากเชื้อ หรือภาชนะที่ไม่เหมาะสม มีรอยร้าว หรือสิ่งปนเปื้อนภายนอกชัดเจน โดยเฉพาะการส่งตรวจเพาะเชื้อจุลชีพ
3. มีสิ่งแปลกปลอมปนเปื้อนในสิ่งตรวจที่เห็นได้ชัดเจน
4. สิ่งตรวจมีปริมาณน้อยเกินไป จนไม่สามารถทำการทดสอบได้
5. สิ่งตรวจเลือดที่ hemolyse หรือขุ่นมาก
6. สิ่งตรวจที่ไม่เหมาะสมกับวิธีการตรวจ เช่น เลือดที่ใส่สารกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ไม่ถูกต้อง การเก็บ หรือการนำ ส่ง ไม่ถูกต้อง
7. สิ่งตรวจที่ส่งซ้ำในวันเดียวกัน จากตำแหน่งเดียวกัน ยกเว้นการเพาะเชื้อจากเลือด(Hemoculture)

ISO/IEC 17025

ISO/IEC 17025 เป็นมาตรฐานสากล สำหรับห้องปฏิบัติการต้องการความเชื่อมั่น และการยอมรับจากลูกค้า แสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการนั้นมีความสามารถในการทดสอบตาม ขอบข่ายรายการทดสอบที่ได้รับการรับรอง เป็นมาตรฐานที่สามารถนำมาใช้ได้กับการทดสอบทุกประเภท สำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบอาหารซึ่งก็คือห้องปฏิบัติการที่ทำการทดสอบในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตอาหาร เริ่มจากวัตถุดิบไปจนถึงผลิตภัณฑ์ และวัสดุที่ใช้ทำภาชนะบรรจุอาหารที่ต้องการการยอมรับจากลูกค้า ซึ่งขอบข่ายหลักๆ ของห้องปฏิบัติการทดสอบอาหารแบ่งได้เป็น ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านเคมีอาหาร จุลชีววิทยาทางอาหาร การทดสอบการเปลี่ยนรูปทรง (Food Rheology) หรือการทดสอบทางกายภาพ (Physical Testing) อื่นๆ พิษวิทยาอาหาร (Food Toxicology) อนุชีววิทยา (Molecular Biology) หรือการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory Testing) โดยมีข้อแนะนำเฉพาะของการรับรองห้องปฏิบัติการในแต่ละประเภทตามเอกสารต่างๆ เช่น EURACHEM Guide, Guide to Quality in Analytical Chemistry สำหรับห้องปฏิบัติการเคมี EA 4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories สำหรับห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา และ EA-4/09, Accreditation for sensory testing laboratories สำหรับห้องปฏิบัติการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยห้องปฏิบัติการทดสอบแต่ละประเภท สามารถนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมได้ การขอการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 นั้นเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็น การเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการนอกจากการดำเนินการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 แล้วยังมีประเด็นสำคัญที่ห้องปฏิบัติการทดสอบอาหารควรพิจารณาเพิ่มเติมเพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของลูกค้าและหน่วยกำกับดูแลตามกฎหมายที่สำคัญ ได้แก่ Codex Alimentarius (Codex) ซึ่งเป็นแหล่งอ้างอิงด้านอาหารที่สำคัญของผู้บริโภค ผู้ผลิตอาหาร

หน่วยงานที่ ควบคุมด้านอาหารของประเทศ และองค์การการค้าอาหารระหว่างประเทศ นอกจากนี้ยังมีข้อตกลงของ Sanitary and Phytosanitary Measures (SPS) และ Technical Barriers to Trade (TBT) ที่ส่งเสริมให้มีการปรับปรุงมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศและมาตรฐาน แนวทาง และข้อเสนอแนะของ Codex ให้สอดคล้องกัน รวมทั้งข้อตกลงของ Asia Pacific Economic Cooperation (APEC) ที่มี ข้อตกลงการยอมรับร่วม (Mutual Recognition Arrangement; MRA) ในการตรวจสอบและรับรองในการตรวจสอบและรับรอง (Conformity Assessment) อาหารและผลิตภัณฑ์อาหารให้สอดคล้องกับข้อกำหนดของ SPS TBT และ Codex การพัฒนาความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การอาหารและเทคนิคการวิเคราะห์ทดสอบจะทำให้ การรายงานองค์ประกอบของอาหารมีความถูกต้องแม่นยำขึ้น การทดสอบอาหารนำมาใช้เพื่อการประเมินคุณค่าทางโภชนาการและความปลอดภัยทางจุลชีววิทยา สารพิษจากเชื้อรา สารป้องกันกำจัด ศัตรูพืช สารเคมีตกค้างอื่นๆ สารเติมแต่ง และภาชนะบรรจุอาหาร ดังนั้นห้องปฏิบัติการทดสอบอาหาร ควรนำเอกสารข้อกำหนดต่างๆ ของ APEC และ Codex มาประกอบในการจัดทำระบบบริหารงาน คุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

APLAC TC 007 : APLAC Guidelines for Food Testing Laboratories เป็นเอกสาร ข้อเสนอแนะของ องค์การภาคพื้นเอเชียแปซิฟิกว่าด้วยการรับรองระบบงานห้องปฏิบัติการ (Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation, APLAC) มีประเด็นต่างๆ ที่น่าสนใจแนะนำเพิ่มเติมจาก ข้อกำหนด ISO/IEC 17025

โครงการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัยในประเทศไทย Enhancement of Safety Practice in Research Laboratory in Thailand, ESPReL เรื่อง “ความร่วมมือด้านการมาตรฐาน” ระหว่าง วช. กับ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) เมื่อวันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ.2557 ซึ่งตามขอบเขตความร่วมมือในกิจกรรมการกำหนดมาตรฐานของบันทึกความเข้าใจ ดังกล่าว กระทรวงอุตสาหกรรมได้มีประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 4699 (พ.ศ. 2558) และฉบับที่ 4700 (พ.ศ. 2558) เมื่อวันที่ 24 มิถุนายน พ.ศ. 2558 กำหนด**มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมระบบการจัดการด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องสารเคมี** พร้อมออกเอกสารเล่ม 1: ข้อกำหนด มาตรฐานเลขที่ มอก.2677 เล่ม 1-2558 เอกสารเล่ม 2: ข้อเสนอแนะทั่วไปเกี่ยวกับหลักการ ระบบและเทคนิคในทางปฏิบัติ มาตรฐานเลขที่ มอก.2677 เล่ม 2-2558 และต่อมาได้มีการประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 23 กันยายน พ.ศ.2558 ซึ่งการบริหารจัดการโดยใช้มาตรฐานห้องปฏิบัติการปลอดภัย เป็นเครื่องมือในการกำหนดแนวทางการดำเนินงาน และวางแผนการตรวจติดตาม ช่วยให้สามารถบูรณาการการงานด้านต่างๆ ได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ทำให้มีการดำเนินงานเพื่อความปลอดภัยอย่างเป็นระบบและยั่งยืน

ESPReL มีเนื้อหาโดยสรุปของกระบวนการและวิธีดำเนินงานด้านต่างๆ ของการพัฒนาความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ให้ภาพรวมของ องค์ประกอบที่ทำให้เกิดความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

แต่ละองค์ประกอบมีส่วนสำคัญที่จะทำให้เกิดความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ กล่าวคือ

1) การบริหารระบบจัดการความปลอดภัยที่ต้องทำหลายด้านสอดคล้องกัน ตั้งแต่ระดับนโยบายที่เห็นความสำคัญของงานด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ จึงควรมีข้อมูลระดับนโยบาย/แผนงานทั้งเชิงโครงสร้างและการกำหนดผู้รับผิดชอบ

2) ระบบการจัดการสารเคมีที่สามารถติดตามความเคลื่อนไหวของสาร มีระบบการจัดการสารเคมีที่ดีทั้งระบบข้อมูล การจัดเก็บ การเคลื่อนย้าย และการจัดการสารที่ไม่ใช้แล้ว

3) ระบบการจัดการของเสียที่มีระบบข้อมูล การจำแนกและการเก็บที่ถูกต้องเพื่อรอการกำจัดโดยไม่มีการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม

4) ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ ที่เอื้อต่อการทำงานอย่างปลอดภัยทั้งในภาวะปกติและฉุกเฉิน

5) ระบบการป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย ต้องบริหารความเสี่ยงจากข้อมูลจริง ที่มีลำดับความคิดตั้งต้นจากการกำหนดได้ว่าอะไรคือปัจจัยเสี่ยง ผู้ปฏิบัติงานต้องรู้ว่าใช้สารใด คนอื่นในที่เดียวกันกำลังทำอะไรที่เสี่ยงอยู่หรือไม่ ปัจจัยเสี่ยงด้านกายภาพคืออะไร มีการประเมินความเสี่ยงหรือไม่

6) การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ จะช่วยลดการเกิดอันตรายจากพฤติกรรมเสี่ยง ต้องมีการพัฒนาบุคลากรทุกระดับที่เกี่ยวข้อง โดยให้ความรู้พื้นฐานที่เหมาะสม จำเป็น และอย่างต่อเนื่องต่อกลุ่มเป้าหมายที่มีบทบาทต่างกัน ถึงแม้องค์กร/หน่วยงานมีระบบการจัดการอย่างดี หากบุคคลในองค์กร/หน่วยงานขาดความรู้และทักษะ ขาดความตระหนัก และเพิกเฉยแล้ว จะก่อให้เกิดอันตรายและความเสียหายต่างๆ ได้

7) การจัดการข้อมูลและเอกสาร เป็นสิ่งที่ทำให้เกิดการพัฒนาความปลอดภัยอย่างต่อเนื่องยั่งยืน ระบบเอกสารจะเป็นหลักฐานบันทึกที่สามารถส่งงานต่อกันได้หากมีการเปลี่ยนผู้รับผิดชอบ และเป็นการต่อยอดของความรู้ในทางปฏิบัติ ให้การพัฒนาความปลอดภัยเป็นไปได้อย่างต่อเนื่อง หลักคิดของการจัดการความปลอดภัยอยู่ที่การบริหารความเสี่ยงที่ประเมินได้ด้วยตนเอง ESPReL Checklists จึงเป็นรายการสำรวจสภาพความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการด้วยตนเอง เมื่อประจักษ์ด้วยตนเอง ย่อมเกิดความตระหนักรู้และนำไปสู่การแก้ไขหรือยกระดับความปลอดภัยได้อย่างต่อเนื่อง ผลจาก checklists สามารถประมวลออกมาเป็นภาพที่แสดงถึงจุดแข็งจุดอ่อนของการจัดการของตนเอง

สรุป

ความปลอดภัยต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เป็นกระแสโลกที่สอดแทรกอยู่ในกิจกรรมต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นเรื่องการผลิตในโรงงาน หรือการค้า การให้บริการ เนื่องจากการไหลของสินค้าและบริการระหว่างประเทศ ทำได้ง่ายขึ้น มีการใช้สินค้าและบริการที่มีต้นทางจากต่างประเทศมากขึ้น ความมั่นใจในความปลอดภัยของสินค้าและบริการ จึงเป็นประเด็นที่นำมาใช้ในการค้าระหว่างกัน กล่าวได้ว่า ยุทธศาสตร์สำคัญของระบบการค้าเสรีคือ สินค้าและบริการต้องปลอดภัย ในด้านความปลอดภัยทางเคมี คำถามใหม่กว่าการถามถึงสารเคมีที่ปนเปื้อน คือคำถามว่าในผลิตภัณฑ์มีสารเคมีอะไรบ้าง ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่เป็นสินค้าถึงมือผู้บริโภค จึงต้อง ได้รับ

การออกแบบชนิดที่วาระหว่างการผลิตจนถึงการใช้แล้ว ต้องไม่มีสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม ด้วยหลักการ และ ผลของความปลอดภัยต่อสุขอนามัยและสิ่งแวดล้อม เป็นเรื่องที่ไม่อาจปฏิเสธได้ จึงมีกฎระเบียบและ มาตรฐานต่างๆ เกิดขึ้น เพื่อสร้างความมั่นใจให้แก่ผู้บริโภค

ความสำคัญของความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ เพื่อควบคุมไม่ให้ผู้ปฏิบัติงานเกิดอุบัติเหตุและได้รับ อันตราย ช่วยให้ระบบการทำงานที่มีความปลอดภัยสูง ทำให้เกิดความมั่นใจและแรงจูงใจในการปฏิบัติงาน ป้องกันไม่ให้อันตรายจากวัสดุทางชีวภาพกระจายออกสู่ภายนอก เป็นอันตรายต่อชุมชนและสิ่งแวดล้อม ปัจจัย ที่ทำให้เกิดความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน การออกแบบโครงสร้างที่เหมาะสมและถูกต้อง การให้ความรู้และ ความเข้าใจแก่ผู้ปฏิบัติงาน เช่น การฝึกอบรม หรือแจกคู่มือการปฏิบัติงาน การออกกฎหรือข้อกำหนดการ ปฏิบัติงานอย่างปลอดภัย ดังเช่น ISO/IEC 17025 หรือ ESPReL

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ นิมเล็ก, วนิดา บ้านศาลเจ้า , อุบลวรรณ รอดประดิษฐ์ , และ ปราณี นาคประสิทธิ์. 2563. การ ปรับเปลี่ยนระบบบริหารคุณภาพห้องปฏิบัติการทดสอบของสำนักคุณภาพ และความปลอดภัยอาหาร ตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025:2017. วารสารเกษตรนเรศวร 17(1): 87-114

คู่มือการประเมินความปลอดภัยห้องปฏิบัติการ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ครั้งที่ 2, 2558,

โครงการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการวิจัยในประเทศไทย. 2558. คู่มือการประเมินความ ปลอดภัย ห้องปฏิบัติการ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ครั้งที่ 2 (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพมหานคร

ฉัตรชัย วิริยะไกรกุล. 2561. ห้องปฏิบัติการปลอดภัย : องค์ประกอบทางกายภาพ เครื่องมือและอุปกรณ์. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ ที่ WHO เพิ่งประกาศ คืออะไร สำคัญอย่างไร 5 กุมภาพันธ์ 2563 ที่มา ประชาชาติธุรกิจ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2551. คู่มือความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการ. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 201 หน้า.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. 2560. คู่มือมาตรฐานความ ปลอดภัยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัทพรี่เมียร์ มาร์เก็ตติ้ง โซลูชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. 2560. คู่มือมาตรฐาน ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข. บริษัทเท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.

คันสนีย์ ชีระพันธ์. 2555. ความปลอดภัยทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา. วารสารกรมวิทยาศาสตร์ บริการ 60(190): 15-18.

Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation. 2014 January. APLAC TC 007: APLAC Guidelines for Food Testing Laboratories (Online). Available from: https://www.aplac.org/documents/tc/aplac_tc_007_issue_4.pdf

NIH (National Institutes of Health). Division of Technical Resources. Office of Research facilities. 2008. Design Requirements Manual for biomedical Laboratories and Animal Research facilities. (Online). Available from: <https://www.orf.od.nih.gov/TechnicalResources/Documents/DRM/DRM1.503262020.pdf>

Ruys, Theodorus. 1990. Handbook of Facilities Planning: Volume 1 Laboratory Facilities. New York: Van Nostrand reinhold.

Watch, Daniel D. 2008. Building Type basics for Research Laboratories. 2nd ed. New York: John Wiley&Sons.

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข 2 กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (รัฐบาล)

ข้อมูล Checklist ตาม ESPReL

1. การบริหารระบบการจัดการด้านความปลอดภัย

1. การบริหารระบบการจัดการด้านความปลอดภัย

1. มีนโยบายด้านความปลอดภัย ครอบคลุม ในระดับต่อไปนี้

☒ มหาวิทยาลัย หรือ กรม

ระบุชื่อเอกสารนโยบาย: ประกาศมหาวิทยาลัยขอนแก่น (ฉบับที่178/2557) เรื่องนโยบายด้านความปลอดภัย สุขภาพและสิ่งแวดล้อมมหาวิทยาลัยขอนแก่น

1. ประกาศนโยบาย ความปลอดภัย มข 2557.jpg (726.3 KB)

☐ คณะ หรือ กอง

☐ ภาควิชา หรือ หน่วยงาน

☐ ห้องปฏิบัติการ

☐ อื่นๆ (ระบุชื่อของระดับหน่วยงาน)

2. มีแผนงานด้านความปลอดภัย ครอบคลุม ในระดับต่อไปนี้

☒ มหาวิทยาลัย หรือ กรม

ระบุชื่อเอกสารแผนงาน: โครงการอบรมมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการ และจัดระเบียบห้องปฏิบัติการวิจัย ปี 2563 (ศูนย์เครื่องมือกลาง ฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น)

2. แผนงานด้านความปลอดภัย มข 2563 (ศูนย์เครื่องมือกลาง).pdf (1.5 MB)

☒ คณะ หรือ กอง

ระบุชื่อเอกสารแผนงาน: มีโครงการยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

แผนงานด้านความปลอดภัยคณะสัตวแพทยศาสตร์.jpg (2.7 MB)

☐ ภาควิชา หรือ หน่วยงาน

☐ ห้องปฏิบัติการ

☐ อื่นๆ (ระบุชื่อของระดับหน่วยงาน)

3. มีโครงสร้างการบริหารจัดการด้านความปลอดภัยในระดับต่อไปนี้

☒ มหาวิทยาลัย หรือ กรม

ระบุชื่อลักษณะโครงสร้าง: คำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการอำนวยการด้านความปลอดภัย มข ปี 2556

3. คำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการอำนวยการด้านความปลอดภัย มข 2556.pdf (144.6 KB)

☒ คณะ หรือ กอง

ระบุชื่อลักษณะโครงสร้าง: คำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการความปลอดภัยประจำปีงบประมาณ 2563

คณะกรรมการความปลอดภัย ปีงบประมาณ 63.pdf (60.9 KB)

☐ ภาควิชา หรือ หน่วยงาน

☐ ห้องปฏิบัติการ

☐ อื่นๆ (ระบุชื่อของระดับหน่วยงาน)

4. ห้องปฏิบัติการได้กำหนดผู้รับผิดชอบดูแลด้านความปลอดภัยในเรื่องต่อไปนี้
- [X] การจัดการสารเคมี
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นางปรียาภรณ์ สุระชน นักวิทยาศาสตร์
 - [X] การจัดการของเสีย
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นางปรียาภรณ์ สุระชน นักวิทยาศาสตร์
 - [X] ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นายพงศ์พันธุ์ พงษ์สะพัง หัวหน้าภารกิจการจัดการอาคารสถานที่
 - [X] การป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นายพงศ์พันธุ์ พงษ์สะพัง หัวหน้าภารกิจการจัดการอาคารสถานที่
 - [X] การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นางปรียาภรณ์ สุระชน นักวิทยาศาสตร์
 - [X] การจัดการข้อมูลและเอกสาร
ระบุชื่อและตำแหน่ง ของผู้รับผิดชอบ: นายชัยพร สร้อยคำ หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
นางปรียาภรณ์ สุระชน นักวิทยาศาสตร์
 - [] อื่นๆ

2.1. ระบบการจัดการสารเคมี - การจัดการข้อมูลสารเคมี

1. ระบบบันทึกข้อมูล

1. มีการบันทึกข้อมูลสารเคมีในรูปแบบ
 - [X] เอกสาร
 - [] อิเล็กทรอนิกส์
2. โครงสร้างของข้อมูลสารเคมีที่บันทึก ประกอบด้วย
 - [X] รหัสภาชนะบรรจุ (Bottle ID)
 - [X] ชื่อสารเคมี (Chemical name)
 - [X] CAS no.
 - [X] ประเภทความเป็นอันตราย
ระบุระบบประเภทความเป็นอันตรายที่ใช้: GHS, UN No.
 - [X] ขนาดบรรจุของขวด
 - [X] ปริมาณสารเคมีคงเหลือในขวด (chemical volume/weight)
 - [X] Grade
 - [] ราคา (Price)
 - [X] ที่จัดเก็บสารเคมี (location)
 - [] วันที่รับเข้ามา (Received date)
 - [] วันที่เปิดใช้ขวด

- ☐ ผู้ขาย/ผู้จำหน่าย (Supplier)
- ☒ ผู้ผลิต (Manufacturer)
- ☒ วันหมดอายุ (expiry date)
- ☐ อื่น ๆ

2. สารบับสารเคมี (Chemical inventory)

1. มีการบันทึกข้อมูลการนำเข้าสารเคมี
 - ใช่
2. มีการบันทึกข้อมูลการจ่ายออกสารเคมี
 - ใช่
3. มีการปรับข้อมูลให้เป็นปัจจุบันอย่างสม่ำเสมอ
 - ใช่

ระบุความถี่ของการตรวจสอบและปรับฐานข้อมูล: ทุก 3 เดือน
4. มีรายงานที่แสดงความเคลื่อนไหวของสารเคมีในห้องปฏิบัติการ โดยอย่างน้อยต้องประกอบด้วยทุกหัวข้อต่อไปนี้ 1) ชื่อสารเคมี 2) CAS no. 3) ประเภทความเป็นอันตรายของสารเคมี 4) ปริมาณคงเหลือ 5) สถานที่เก็บ
 - ไม่ใช่

3. การจัดการสารที่ไม่ใช้แล้ว (Clearance)

1. มีแนวปฏิบัติในการจัดการสารที่ไม่ใช้แล้ว ดังนี้
 - ☒ สารที่ไม่ต้องการใช้

ระบุขั้นตอน วิธี หรือ ความถี่: มีการจัดเก็บแยกสารที่ไม่ต้องการใช้แล้วในทางปฏิบัติ แต่ยังไม่มีการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษร
 - ☒ สารที่หมดอายุตามฉลาก

ระบุขั้นตอน วิธี หรือ ความถี่: มีการจัดเก็บสารที่หมดอายุตามฉลากที่สามารถใช้ต่อไปในงานประจำได้ รวมกับสารเคมีตัวอื่น ส่วนตัวที่หมดอายุแล้วไม่สามารถใช้งานได้อีกจะคัดแยกไว้ต่างหากแล้วในทางปฏิบัติ แต่ยังไม่มีการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษร
 - ☒ สารที่หมดอายุตามสภาพ

ระบุขั้นตอน วิธี หรือ ความถี่: มีการจัดเก็บ แยกสารที่ไม่ต้องการใช้แล้วในทางปฏิบัติ แต่ยังไม่มีการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษร

4. การใช้ประโยชน์จากข้อมูลเพื่อการบริหารจัดการ

1. มีการใช้ประโยชน์จากข้อมูลสารเคมีเพื่อ
 - ☒ การประเมินความเสี่ยง

ระบุวิธีใช้ประโยชน์: จากข้อมูลสารบับสารเคมีที่จัดทำ สามารถนำไปประเมินความเสี่ยงหรืออันตรายที่จะเกิดขึ้นได้ เช่น จากข้อมูลสารบับที่พบว่าปริมาณสารเคมีที่เป็นสารไวไฟ หากมีปริมาณมากเกินกว่าที่กำหนด อาจจะทำให้เกิดอันตรายได้
 - ☒ การจัดสรรงบประมาณ

ระบุวิธีใช้ประโยชน์: จากข้อมูลสารบับทำให้ทราบว่าปริมาณสารเคมีที่มีอยู่มีมากน้อยเพียงใด สามารถลดงบประมาณในการจัดซื้อที่อาจจะซ้ำซ้อนลงได้ หรือสามารถนำงบประมาณที่จะจัดซื้อสารเคมีไปซื้อวัสดุอย่างอื่นได้

[X] การแบ่งปันสารเคมี

ระเบียบวิธีใช้ประโยชน์: จากข้อมูลสารบ่งชี้ทำให้ทราบรายการและปริมาณสารเคมีที่มีอยู่ สามารถแบ่งปันสารเคมีระหว่างห้องปฏิบัติการภายในคณะฯ เพื่อลดปัญหาการซื้อสารเคมีซ้ำซ้อนกันได้

2.2. ระบบการจัดการสารเคมี - การจัดเก็บสารเคมี

1. ข้อกำหนดทั่วไปในการจัดเก็บสารเคมี

1. มีการแยกเก็บสารเคมีตามสมบัติการเข้ากันไม่ได้ของสารเคมี (chemical incompatibility)
 - ใช่

ระบุชื่อระบบที่ใช้และตัวอย่างสารเคมีที่ใช้: UN class แยกสารกัดกร่อนประเภทกรด เช่น กรดซัลฟูริก ออกจากสารเคมีประเภทไวไฟ เช่น Ethylalcohol โดยแยกเก็บคนละชั้นในตู้เก็บและมีภาชนะภาดพลาสติกกรองขวดสารเคมี
2. เก็บสารเคมีของแข็งแยกออกจากของเหลวทั้งในคลังสารเคมีและห้องปฏิบัติการ
 - ใช่
3. หน้าตู้เก็บสารเคมีในพื้นที่ส่วนกลางมีการระบุ
 - [X] รายชื่อสารเคมีและเจ้าของ
 - [X] ชื่อผู้รับผิดชอบดูแลตู้
 - [] สัญลักษณ์ตามความเป็นอันตราย
4. จัดเก็บสารเคมีทุกชนิดอย่างปลอดภัยตามตำแหน่งที่แน่นอน และไม่วางสารเคมีบริเวณทางเดิน
 - ใช่
5. มีป้ายบอกบริเวณที่เก็บสารเคมีที่เป็นอันตราย
 - ใช่
6. มีระบบการควบคุมสารเคมีที่ต้องควบคุมเป็นพิเศษ
 - ไม่เกี่ยวข้อง
7. ไม่ใช่ตู้ดูดควันเป็นที่เก็บสารเคมีหรือของเสีย
 - ใช่
8. ไม่วางขวดสารเคมีบนโต๊ะและชั้นวางของโต๊ะปฏิบัติการอย่างถาวร
 - ใช่

2. ข้อกำหนดสำหรับการจัดเก็บสารไวไฟ

1. เก็บสารไวไฟให้ห่างจากแหล่งความร้อน แหล่งกำเนิดไฟ เปลวไฟ ประกายไฟ และแสงแดด
 - ใช่
2. เก็บสารไวไฟในห้องปฏิบัติการในภาชนะที่มีความจุไม่เกิน 20 ลิตร
 - ใช่
3. เก็บสารไวไฟในห้องปฏิบัติการไม่เกิน 10 แกลลอน (38 ลิตร) ถ้ามีเกิน 10 แกลลอน (38 ลิตร) ต้องจัดเก็บไว้ในตู้สำหรับเก็บสารไวไฟโดยเฉพาะ
 - ใช่

4. เก็บสารไวไฟสูงในตู้ที่เหมาะสม
 - ไม่เกี่ยวข้อง

3. ข้อกำหนดสำหรับการจัดเก็บสารกัดกร่อน

1. เก็บขวดสารกัดกร่อน (ทั้งกรดและเบส) ไว้ในระดับต่ำ
 - ใช่
2. เก็บขวดกรดในตู้เก็บกรดโดยเฉพาะ และมีภาชนะรองรับที่เหมาะสม
 - ไม่เกี่ยวข้อง

4. ข้อกำหนดสำหรับการจัดเก็บแก๊ส

1. เก็บถังแก๊สโดยมีอุปกรณ์ยึดที่แข็งแรง
 - ใช่
2. ถังแก๊สที่ไม่ได้ใช้งานทุกถังต้องมีฝาครอบหัวถังหรือมี guard ป้องกันหัวถัง
 - ไม่ใช่
3. มีพื้นที่เก็บถังแก๊สเปล่ากับถังแก๊สที่ยังไม่ได้ใช้งาน และติดป้ายระบุไว้อย่างชัดเจน
 - ใช่
4. ถังแก๊สที่มีวางปลอดภัยห่างจากความร้อน แหล่งกำเนิดไฟ และเส้นทางสัญจรหลัก
 - ใช่
5. เก็บถังแก๊สออกซิเจนห่างจากถังแก๊สเชื้อเพลิง แก๊สไวไฟ และวัสดุไหม้ไฟได้ อย่างน้อย 6 เมตร หรือมีฉาก/ผนังกั้นที่ไม่ติดไฟ
 - ไม่เกี่ยวข้อง

5. ข้อกำหนดสำหรับการจัดเก็บสารออกซิไดซ์ (Oxidizers) และสารก่อให้เกิดเปอร์ออกไซด์

1. เก็บสารออกซิไดซ์และสารที่ก่อให้เกิดเปอร์ออกไซด์ห่างจากความร้อน แสง และแหล่งกำเนิดประกายไฟ
 - ใช่

ระบุตัวอย่างสารออกซิไดซ์และสารที่ก่อให้เกิดเปอร์ออกไซด์ที่มีในห้องปฏิบัติการและสถานที่เก็บ: เก็บสารไวไฟในตู้เก็บสารที่ห่างจากแหล่งกำเนิดความร้อน และแหล่งกำเนิดประกายไฟอย่างน้อย 3 เมตร
2. เก็บสารที่มีสมบัติออกซิไดซ์ไว้ในภาชนะแก้วหรือภาชนะที่มีสมบัติเฉื่อย
 - ใช่
3. ใช้ฝาปิดที่เหมาะสม สำหรับขวดที่ใช้เก็บสารออกซิไดซ์
 - ใช่
4. ภาชนะบรรจุสารที่ก่อให้เกิดเปอร์ออกไซด์ต้องมีฝาปิดที่แน่นหนา
 - ใช่
5. มีการตรวจสอบการเกิดเปอร์ออกไซด์อย่างสม่ำเสมอ
 - ใช่ ระบุความถี่ของการตรวจสอบ: ทุก 3 เดือน

6. ข้อกำหนดสำหรับการจัดเก็บสารที่ไวต่อปฏิกิริยา

- มีป้ายคำเตือนที่ชัดเจนบริเวณหน้าต่างหรือพื้นที่ที่เก็บสารที่ไวต่อปฏิกิริยา (เช่น ป้าย “สารไวต่อปฏิกิริยา – ห้ามใช้น้ำ”)
 - ไม่เกี่ยวข้อง
- เก็บสารไวปฏิกิริยาต่อน้ำออกห่างจากแหล่งน้ำที่อยู่ในห้องปฏิบัติการ
 - ไม่เกี่ยวข้อง
- มีการตรวจสอบสภาพการเก็บที่เหมาะสมของสารที่ไวต่อปฏิกิริยาอย่างสม่ำเสมอ
 - ไม่เกี่ยวข้อง

7. ภาชนะบรรจุภัณฑ์และฉลากสารเคมี

- เก็บสารเคมีในภาชนะที่เหมาะสมตามประเภทของสารเคมี
 - ใช่
- ภาชนะที่บรรจุสารเคมีทุกชนิดต้องมีการติดฉลากที่เหมาะสม
 - ใช่
- ตรวจสอบความบกพร่องของภาชนะบรรจุสารเคมีและฉลากอย่างสม่ำเสมอ
 - ใช่

ระบุขั้นตอนการตรวจสอบ หรือความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: ตรวจสอบสภาพของภาชนะบรรจุว่า มีการรั่วหรือไอระเหยของสารจากขวดบรรจุหรือไม่ ขวดบรรจุมีการบวมหรือแตกร้าวไหม ฝาปิดยังปกติดีอยู่หรือไม่ ตรวจสอบทุก 3 เดือน ครั้งล่าสุดตรวจสอบเมื่อ พ.ย. 5 พ.ย.2563

8. เอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS)

- เก็บ SDS ในรูปแบบ
 - [X] เอกสาร
 - [] อิเล็กทรอนิกส์
- เก็บ SDS อยู่ในที่ที่ทุกคนในห้องปฏิบัติการเข้าดูได้ทันที เมื่อต้องการใช้ หรือเมื่อเกิดภาวะฉุกเฉิน
 - ใช่ ระบุสถานที่เก็บ: ห้องเก็บสารเคมีหน้าต่างเก็บสาร
- SDS มีข้อมูลครบทั้ง 16 ข้อ
 - ใช่
- มี SDS ของสารเคมีอันตรายทุกตัวที่อยู่ในห้องปฏิบัติการ
 - ใช่

ระบุจำนวนสารเคมีอันตรายที่มีในห้องปฏิบัติการ: จำนวนสารเคมีอันตราย 29 รายการ

- มี SDS ที่ทันสมัย
 - ใช่

ระบุความถี่ในการปรับปรุง หรือวันเดือนปีที่ปรับปรุงล่าสุด: ปรับปรุงทุกหกเดือน ครั้งล่าสุดเมื่อ พ.ย. 5 พ.ย.2563

2.3. ระบบการจัดการสารเคมี - การเคลื่อนย้ายสารเคมี (Chemical transportation)

1. การเคลื่อนย้ายสารเคมีภายในห้องปฏิบัติการ

- ผู้ที่ทำการเคลื่อนย้ายสารเคมีใช้อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสม

- ใช่

ระบุตัวอย่างอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่ใช้: สวมเสื้อกราวด์สวมถุงมืออย่างใส่หน้ากากอนามัย

2. ปิดฝาภาชนะที่บรรจุสารเคมีที่จะเคลื่อนย้ายให้สนิท

- ใช่

3. ใช้รถเข็นที่มีแนวกันเมื่อมีการเคลื่อนย้ายสารเคมีพร้อมกันหลายๆ ขวด

- ใช่

4. ใช้ตะกร้าหรือภาชนะรองรับในการเคลื่อนย้ายสารเคมี

- ใช่

5. เคลื่อนย้ายสารเคมีที่เป็นของเหลวไวไฟในภาชนะรองรับที่มีวัสดุกันกระแทก

- ใช่

6. ใช้ถังยางในการเคลื่อนย้ายสารกัดกร่อนที่เป็นกรดและตัวทำละลาย

- ใช่

7. เคลื่อนย้ายสารที่เข้ากันไม่ได้ในภาชนะรองรับที่แยกกัน

- ใช่

2. การเคลื่อนย้ายสารเคมีภายนอกห้องปฏิบัติการ

1. ใช้ภาชนะรองรับและอุปกรณ์เคลื่อนย้ายที่มั่นคงปลอดภัย ไม่แตกหักง่าย และมีที่กันขวดสารเคมีล้ม

- ใช่

2. ใช้รถเข็นมีแนวกันกันขวดสารเคมีล้ม

- ใช่

3. เคลื่อนย้ายสารที่เข้ากันไม่ได้ ในภาชนะรองรับที่แยกกัน

- ใช่

4. ใช้ลิฟท์ขนของในการเคลื่อนย้ายสารเคมีและวัตถุอันตรายระหว่างชั้น

- ใช่

5. ใช้วัสดุดูดซับสารเคมีหรือวัสดุกันกระแทกขณะเคลื่อนย้าย

- ไม่เกี่ยวข้อง

3.1. ระบบการจัดการของเสีย - การจัดการข้อมูลของเสีย

1. ระบบบันทึกข้อมูล

1. มีการบันทึกข้อมูลของเสียในรูปแบบ

[X] เอกสาร

[X] อิเล็กทรอนิกส์

2. โครงสร้างของข้อมูลของเสียที่บันทึก ประกอบด้วย

- ☒ ผู้รับผิดชอบ
- ☐ รหัสของภาชนะบรรจุ (Bottle ID)
- ☒ ประเภทของเสีย
- ☒ ปริมาณของเสีย (Waste volume/weight)
- ☒ วันที่บันทึกข้อมูล (Input date)
- ☒ ห้องที่เก็บของเสีย (storage room)
- ☒ อาคารที่เก็บของเสีย (storage building)
- ☐ อื่น ๆ

2. การรายงานข้อมูล

1. มีการรายงานข้อมูลของเสียที่เกิดขึ้น
 - ใช่

ระบุตัวอย่างรายงาน: บันทึกการรายงานของเสีย

[ตารางการบันทึกข้อมูลของเสีย.jpg \(124 KB\)](#)
2. มีรูปแบบการรายงานที่ชัดเจน เพื่อรายงานความเคลื่อนไหว ข้อมูลในรายงานอย่างน้อยประกอบด้วยทุกหัวข้อต่อไปนี 1) ประเภทของเสีย 2) ปริมาณของเสีย
 - ใช่
3. มีการรายงานข้อมูลของเสียที่กำจัดทิ้ง
 - ไม่ใช่
4. มีการปรับข้อมูลเป็นปัจจุบันสม่ำเสมอ
 - ใช่

ระบุความถี่หรือหรือวันเดือนปีที่ปรับข้อมูลล่าสุด: เช็ปริมาณของเสียทุก 3 เดือน

3. การใช้ประโยชน์จากข้อมูลเพื่อการบริหารจัดการ

1. มีการใช้ประโยชน์จากข้อมูลของเสียเพื่อ
 - ☒ การประเมินความเสี่ยง

ระบุวิธีใช้ประโยชน์: จากข้อมูลสารบบของเสียที่จัดทำ สามารถนำไปประเมินความเสี่ยงหรืออันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้ เช่น จากข้อมูลสารระบบที่พบว่าของเสียนั้นมีอันตรายต่อสุขภาพก่อทำการแยกเก็บไว้ต่างหากแยกจากห้องที่ทำงานประจำ
 - ☒ การจัดเตรียมงบประมาณในการกำจัด

ระบุวิธีใช้ประโยชน์: แจ้งข้อมูลเกี่ยวกับของเสียและปริมาณที่มีให้ผู้บริหารได้รับทราบและจัดตั้งงบประมาณในการกำจัดของเสีย

3.2. ระบบการจัดการของเสีย - การเก็บของเสีย

การเก็บของเสีย

1. มีการแยกของเสียอันตรายออกจากของเสียทั่วไป

- ใช่

ระบุตัวอย่างของเสียที่แยก: สารละลาย Ethidium bromide เก็บใส่ถังพลาสติกและถุงพลาสติกมัดปากถุง ใส่ไว้ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตรพร้อมเขียนชื่อชนิดของเสียติดข้างถัง

2. มีเกณฑ์ในการจำแนกประเภทของเสียที่เหมาะสม

- ใช่

ระบุชื่อเกณฑ์ที่ใช้: การจัดแยกของเสียตามระบบมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

[flowchart พระจอมเกล้าธนบุรี.jpg \(203.7 KB\)](#)

3. แยกของเสียตามเกณฑ์ ที่ระบุในข้อ 2

- ใช่

4. ใช้ภาชนะบรรจุของเสียที่เหมาะสมตามประเภท

- ใช่

ระบุตัวอย่างของเสียที่แยก และภาชนะที่ใช้: ของเสียที่เป็นของเหลวใสในถังน้ำพลาสติกขนาด 20 ลิตรมีฝาปิด เศษแก้วใสในภาชนะที่แน่นหนาป้องกันของมีคมได้

5. ติดฉลากภาชนะบรรจุของเสียทุกชนิดอย่างถูกต้องและเหมาะสม

- ใช่

6. ตรวจสอบความบกพร่องของภาชนะและฉลากของเสียอย่างสม่ำเสมอ

- ใช่

ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: 1 เดือน/ครั้ง

7. บรรจุของเสียในปริมาณไม่เกิน 80% ของความจุของภาชนะ

- ใช่

8. มีพื้นที่/บริเวณที่เก็บของเสียที่แน่นอน

- ใช่

9. มีภาชนะรองรับขวดของเสียที่เหมาะสม

- ใช่

ระบุตัวอย่างภาชนะที่ใช้: ของเหลวใสในแกลอนพลาสติกขนาด 20 ลิตรมีฝาปิด
ของแข็งใสในภาชนะที่ป้องกันของมีคมได้

10. แยกภาชนะรองรับขวดของเสียที่เข้ากันไม่ได้

- ใช่

11. วางภาชนะบรรจุของเสียห่างจากบริเวณอุปกรณ์ฉุกเฉิน

- ใช่

12. วางภาชนะบรรจุของเสียห่างจากความร้อน แหล่งกำเนิดไฟ และเปลวไฟ

- ใช่

13. เก็บของเสียประเภทไวไฟในห้องปฏิบัติการ ไม่เกิน 10 แกลอน (38 ลิตร) ถ้ามีเกิน 10 แกลอน (38 ลิตร) ต้องจัดเก็บไว้ในตู้สำหรับเก็บสารไวไฟโดยเฉพาะ

- ใช่

14. กำหนดปริมาณรวมสูงสุดของของเสียที่อนุญาตให้เก็บได้ในห้องปฏิบัติการ

- ใช่

ระบุปริมาณสูงสุดของของเสียที่เก็บ: กำหนดปริมาณรวมสูงสุดของของเสียที่อนุญาตให้เก็บได้ในห้องปฏิบัติการ:

ของเหลว น้อยกว่า 55 แกลลอน (200 ลิตร) – ไม่เกิน 90 วัน

ของเหลว มากกว่า 55 แกลลอน (200 ลิตร) – ไม่เกิน 3 วัน

15. กำหนดระยะเวลาเก็บของเสียในห้องปฏิบัติการ

- ใช่

ระบุระยะเวลาเก็บของเสียที่กำหนด: 3 เดือน

3.3. ระบบการจัดการของเสีย - การลดการเกิดของเสีย

การลดการเกิดของเสีย

1. มีแนวปฏิบัติหรือมาตรการในการลดการเกิดของเสียในห้องปฏิบัติการ

- ใช่

ระบุเอกสาร: เปลี่ยนรูปแบบการทดลอง ให้มีการใช้เคมีน้อยลง แต่ยังคงไว้ซึ่งความถูกต้องและแม่นยำ เช่น การใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปแทนวิธีการเดิมซึ่งต้องใช้สารเคมีหลายตัว

2. ลดการใช้สารตั้งต้น (Reduce)

- ใช่

ระบุตัวอย่างการลดการใช้สารตั้งต้น: ใช้สารเคมีที่มีอันตรายน้อยลงและใช้ในปริมาณที่น้อย เช่น ethidiumbromide ที่ใช้ในการทดสอบการย้อมสี

3. ใช้สารทดแทน (Replace)

- ใช่

ระบุตัวอย่างการใช้สารทดแทน: ใช้น้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ทดแทนการใช้สารเคมี peptone water ในการเตรียมสารละลายเชื้อจาก

4. ลดการเกิดของเสีย ด้วยการ

[X] Reuse

ระบุวิธีการและตัวอย่างของเสีย: ในการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเชื้อแบคทีเรีย บางครั้งใช้ 95% ethylalcohol เนื่องจากคุณสมบัติในการติดไฟในบางครั้งมีการเทแบ่งจากแกลลอนบรรจุออกมาใช้แล้วเหลือใช้ก็สามารถเทคืนไว้ใช้ใหม่ได้

[] Recovery/ Recycle

3.4. ระบบการจัดการของเสีย - การบำบัดและกำจัดของเสีย

การบำบัดและกำจัดของเสีย

1. บำบัดของเสียก่อนทิ้ง

- ใช่

ระบุตัวอย่างวิธีการบำบัด: ตัวอย่างของเสียเป็นกรดนำมาทำให้เป็นกลางด้วยด่างแล้วค่อยเทลงสู่ท่อน้ำทิ้ง

2. บำบัดของเสียก่อนส่งกำจัด

- ใช่

ระบุตัวอย่างวิธีการบำบัด: หากของเสียที่จะส่งกำจัดมีตะกอนเกิดขึ้นก็จะกรองเอาตะกอนนั้นออกก่อนแล้วค่อยแยกของเสียที่เป็นของเหลวและของแข็งเพื่อรอการกำจัดต่อไป

3. ส่งของเสียไปกำจัดโดยบริษัทที่ได้รับใบอนุญาต

- ใช่

ระบุบริษัทรับกำจัด: ประสานงานผ่านคณะวิศวกรรมศาสตร์ เพื่อรอกำจัดในภาพรวมของมหาวิทยาลัย

4.1. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานสถาปัตยกรรม

งานสถาปัตยกรรม

1. สภาพภายในและภายนอกที่ไม่ก่อให้เกิดอันตราย

- ใช่

2. แยกส่วนที่เป็นพื้นที่ห้องปฏิบัติการ (laboratory space) ออกจากพื้นที่อื่นๆ (non-laboratory space)

- ใช่

3. ขนาดพื้นที่และความสูงของห้องปฏิบัติการและพื้นที่เกี่ยวเนื่อง มีความเหมาะสมและเพียงพอกับการใช้งาน จำนวนผู้ปฏิบัติการ ชนิดและปริมาณเครื่องมือและอุปกรณ์ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ใช่

4. วัสดุที่ใช้เป็นพื้นผิวของพื้น ผนัง เพดาน อยู่ในสภาพที่ดี มีความเหมาะสมต่อการใช้งานและได้รับการดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ใช่

5. ช่องเปิด (ประตู-หน้าต่าง) มีขนาดและจำนวนที่เหมาะสม โดยสามารถควบคุมการเข้าออกและเปิดออกได้ง่าย ในกรณีฉุกเฉิน

- ใช่

6. ประตูมีช่องสำหรับมองจากภายนอก (vision panel)

- ใช่

7. มีหน้าต่างที่สามารถเปิดออกเพื่อระบายอากาศได้ สามารถปิดล็อกได้และสามารถเปิดออกได้ในกรณีฉุกเฉิน

- ใช่

8. ขนาดทางเดินภายในห้อง (clearance) กว้างไม่น้อยกว่า 0.60 เมตร สำหรับทางเดินทั่วไป และกว้างไม่น้อยกว่า 1.50 เมตร สำหรับช่องทางเดินในอาคาร

- ใช่

9. บริเวณทางเดินและบริเวณพื้นที่ติดกับโถงทางเข้า-ออก ปราศจากสิ่งกีดขวาง

- ใช่

10. บริเวณเส้นทางเดินสู่ทางออก ไม่ผ่านส่วนอันตราย หรือผ่านครุภัณฑ์ต่างๆ ที่มีความเสี่ยงอันตราย เช่น ตู้เก็บสารเคมี, ตู้ดูดควัน เป็นต้น (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
11. ทางสัญจรสู่ห้องปฏิบัติการแยกออกจากทางสาธารณะหลักของอาคาร (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
12. มีการแสดงข้อมูลที่ตั้งและสถาปัตยกรรมที่สื่อสารถึงการเคลื่อนที่และลักษณะทางเดิน ได้แก่ ผังพื้น แสดงตำแหน่งและเส้นทางหนีไฟและตำแหน่งที่ตั้งอุปกรณ์ฉุกเฉิน
 - ใช่

4.2. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานสถาปัตยกรรมภายใน

: ครุภัณฑ์/เฟอร์นิเจอร์/เครื่องมือและอุปกรณ์

1. มีการควบคุมการเข้าถึงหรือมีอุปกรณ์ควบคุมการปิด-เปิดครุภัณฑ์ เฟอร์นิเจอร์ เครื่องมือและอุปกรณ์
 - ใช่
2. ครุภัณฑ์ เฟอร์นิเจอร์ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่สูงกว่า 1.20 เมตร มีตัวยึดหรือมีฐานรองรับที่แข็งแรง ส่วนชั้นเก็บของหรือตู้ลอย มีการยึดเข้ากับโครงสร้างหรือผนังอย่างแน่นหนาและมั่นคง
 - ใช่
3. ครุภัณฑ์ เฟอร์นิเจอร์ เครื่องมือและอุปกรณ์ ควรมีความเหมาะสมกับขนาดและสัดส่วนร่างกายของผู้ปฏิบัติงาน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
4. กำหนดระยะห่างระหว่างโต๊ะปฏิบัติการและตำแหน่งโต๊ะปฏิบัติการอย่างเหมาะสม (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
5. มีอ่างน้ำตั้งอยู่ในห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง
 - ใช่
6. ครุภัณฑ์ต่างๆ เช่น ตู้ดูดควัน ตู้ลามีนาโพล์ อยู่ในสภาพที่สามารถใช้งานได้ดีและมีการดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ
 - ใช่

4.3. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานวิศวกรรมโครงสร้าง

งานวิศวกรรมโครงสร้าง

1. ไม่มีการชำรุดเสียหายบริเวณโครงสร้าง ไม่มีรอยแตกร้าวตามเสา – คาน มีสภาพภายนอกและภายในห้องปฏิบัติการที่ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (สภาพภายนอก ได้แก่ สภาพบริเวณโดยรอบหรืออาคารข้างเคียง สภาพภายในตัวอาคารที่ติดอยู่กับห้องปฏิบัติการ) (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่

2. โครงสร้างอาคารสามารถรองรับน้ำหนักบรรทุกของอาคาร (น้ำหนักของผู้ใช้อาคาร อุปกรณ์และเครื่องมือ) ได้ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
3. โครงสร้างอาคารมีความสามารถในการกันไฟและทนไฟ รวมถึงรองรับเหตุฉุกเฉินได้ (มีความสามารถในการต้านทานความเสียหายของอาคารเมื่อเกิดเหตุฉุกเฉินในช่วงเวลาหนึ่งที่สามารถอพยพคนออกจากอาคารได้) (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
4. มีการตรวจสอบสภาพของโครงสร้างอาคารอยู่เป็นประจำ
มีการดูแลและบำรุงรักษาอย่างน้อยปีละครั้ง
 - ใช่

ระบุ ความถี่ หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: 6 เดือน/ครั้ง

4.4. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานวิศวกรรมไฟฟ้า

งานวิศวกรรมไฟฟ้า

1. มีปริมาณแสงสว่างพอเพียงมีคุณภาพเหมาะสมกับการทำงาน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
2. ออกแบบระบบไฟฟ้ากำลังของห้องปฏิบัติการให้มีปริมาณกำลังไฟพอเพียงต่อการใช้งาน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
3. ใช้อุปกรณ์สายไฟฟ้า เต้ารับ เต้าเสียบ ที่ได้มาตรฐานและมีการติดตั้งแหล่งจ่ายกระแสไฟฟ้าในบริเวณที่เหมาะสม (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
4. ต่อสายดิน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ใช่
5. ไม่มีการต่อสายไฟพวง
 - ใช่
6. มีระบบควบคุมไฟฟ้าของห้องปฏิบัติการแต่ละห้อง
 - ใช่
7. มีอุปกรณ์ตัดตอนไฟฟ้าขั้นต้น เช่น ฟิวส์ (fuse) เครื่องตัดวงจร (circuit breaker) ที่สามารถใช้งานได้
 - ใช่
8. ติดตั้งระบบแสงสว่างฉุกเฉินในปริมาณและบริเวณที่เหมาะสม
 - ใช่
9. มีระบบไฟฟ้าสำรองด้วยเครื่องกำเนิดไฟฟ้าในกรณีเกิดภาวะฉุกเฉิน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ไม่ใช่

10. ตรวจสอบระบบไฟฟ้ากำลังและไฟฟ้าแสงสว่าง และดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ

- ใช่

ระบุ ความถี่ หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: 6 เดือน/ครั้ง

- 4.5. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานวิศวกรรมสุขาภิบาลและสิ่งแวดล้อม

งานวิศวกรรมสุขาภิบาลและสิ่งแวดล้อม

1. มีระบบน้ำดี น้ำประปา ที่ใช้งานได้ดี มีการเดินท่อและวางแผนผังการเดินท่อน้ำประปาอย่างเป็นระบบ และไม่รั่วซึม (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ใช่

2. แยกระบบน้ำทิ้งทั่วไปกับระบบน้ำทิ้งปนเปื้อนสารเคมีออกจากกัน และมีระบบบำบัดที่เหมาะสมก่อนออกสู่รางระบายน้ำสาธารณะ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ไม่ใช่

3. ตรวจสอบระบบสุขาภิบาล และมีการดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ

- ใช่

ระบุความถี่ หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: 3 เดือน/ครั้ง

- 4.6. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานวิศวกรรมระบบระบายอากาศและปรับอากาศ

งานวิศวกรรมระบบระบายอากาศและปรับอากาศ

1. มีระบบระบายอากาศที่เหมาะสมกับการทำงานและสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ใช่

2. ติดตั้งระบบปรับอากาศในตำแหน่งและปริมาณที่เหมาะสมกับการทำงานและสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)

- ใช่

3. ในกรณีห้องปฏิบัติการไม่มีการติดตั้งระบบปรับอากาศและระบบระบายอากาศ (ระบบธรรมชาติ) ให้ติดตั้งระบบเครื่องกลเพื่อช่วยในการระบายอากาศในบริเวณที่ลักษณะงานก่อให้เกิดสารพิษหรือกลิ่นไม่พึงประสงค์

- ไม่เกี่ยวข้อง

4. ตรวจสอบระบบระบายอากาศและระบบปรับอากาศ และมีการดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ

- ใช่

ระบุความถี่ หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: 3 เดือน/ครั้ง

- 4.7. ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือ - งานระบบฉุกเฉินและระบบติดต่อสื่อสาร

งานระบบฉุกเฉินและระบบติดต่อสื่อสาร

1. มีระบบแจ้งเหตุเพลิงไหม้ด้วยมือ (manual fire alarm system)

- ไม่ใช่

2. มีอุปกรณ์ตรวจจับเพลิงไหม้ เช่น อุปกรณ์ตรวจจับเพลิงไหม้ด้วยอุณหภูมิความร้อน (heat detector) หรือ อุปกรณ์ตรวจจับเพลิงไหม้ด้วยควันไฟ (smoke detector)
 - ไม่ใช่
3. มีทางหนีไฟและป้ายบอกทางหนีไฟตามมาตรฐาน (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ไม่ใช่
4. มีเครื่องดับเพลิงแบบเคลื่อนที่
 - ใช่
5. มีระบบดับเพลิงด้วยน้ำชนิดมีตู้สายฉีดน้ำดับเพลิง
 - ไม่ใช่
6. มีระบบดับเพลิงด้วยน้ำชนิดระบบหัวกระจายน้ำดับเพลิง (ตามกฎหมายควบคุมอาคาร) หรือเทียบเท่า (หากมีข้อสงสัยให้ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ)
 - ไม่ใช่
7. มีระบบติดต่อสื่อสารของห้องปฏิบัติการในกรณีฉุกเฉิน เช่น โทรศัพท์สำนักงาน โทรศัพท์เคลื่อนที่ หรือระบบอินเทอร์เน็ตและระบบไร้สายอื่นๆ
 - ใช่
8. ตรวจสอบระบบฉุกเฉินและระบบติดต่อสื่อสาร และมีการดูแลและบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอ
 - ใช่

ระบุความถี่ หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: ทุกเดือน
9. แสดงป้ายข้อมูลที่เป็นตัวอักษร เช่น ชื่อห้องปฏิบัติการ ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการ และข้อมูลจำเพาะอื่นๆ ของห้องปฏิบัติการ รวมถึงสัญลักษณ์หรือเครื่องหมายสากลแสดงถึงอันตราย หรือเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องตามที่กฎหมายกำหนด
 - ใช่

5.1. ระบบการป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย - การบริหารความเสี่ยง

1. การระบุอันตราย (Hazard identification)

1. สำนักรวความเป็นอันตรายจากปัจจัยต่อไปนี้ อย่างเป็นรูปธรรม
 - [X] สารเคมี/วัสดุที่ใช้

ระบุวันที่สำรวล่าสุด: ตรวจสอบภาชนะบรรจุสารเคมี และสถานที่จัดเก็บที่อยู่ในห้องปฏิบัติการว่ามีโอกาสในการเกิดอันตรายได้หรือไม่ สำนักรวล่าสุดเมื่อ 2 พ.ย. 2563
 - [X] เครื่องมือหรืออุปกรณ์

ระบุวันที่สำรวล่าสุด: ตรวจสอบระบบไฟฟ้าสายไฟเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่อยู่ในห้องปฏิบัติการว่ามีความเสื่อมสภาพหรือไม่ เพื่อป้องกันอันตรายจากไฟฟ้ารั่ว สำนักรวล่าสุดเมื่อ 2 พ.ย. 2563
 - [X] ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการ

ระบุวันที่สำรวล่าสุด: ห้องปฏิบัติการ vm1408 ได้สำรวลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวห้องเพื่อป้องกันการลื่นหกล้มของผู้ปฏิบัติ งานได้สั่งการให้แม่บ้านทำความสะอาดพื้นห้อง 3 ครั้งต่อสัปดาห์ สำนักรว

ล่าสุดเมื่อวันที่ 2 พ.ย. 2563

[] อื่นๆ

2. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)

1. มีการประเมินความเสี่ยงในระดับ

[] บุคคล

[] โครงการ

[X] ห้องปฏิบัติการ

ระบุตัวอย่างขั้นตอน วิธีการ หรือ เอกสารที่ใช้: ยังไม่ได้มีการประเมินความเสี่ยงแต่มีการคิดแผนการดำเนินการคร่าว ๆ เพื่อดำเนินการในอนาคต

ตัวอย่าง แบบเก็บข้อมูลความเสี่ยง.doc (34 KB)

ตัวอย่าง แบบประเมินความเสี่ยง.doc (31.5 KB)

2. การประเมินความเสี่ยงครอบคลุมหัวข้อต่อไปนี้

[X] สารเคมีที่ใช้, เก็บ และทิ้ง

[X] ผลกระทบด้านสุขภาพจากการทำงานกับสารเคมี

[] เส้นทางในการได้รับสัมผัส (exposure route)

[X] พื้นที่ในการทำงาน/กายภาพ

[] เครื่องมือที่ใช้ในการทำงาน

[] สิ่งแวดล้อมในสถานที่ทำงาน

[] ระบบไฟฟ้าในที่ทำงาน

[] กิจกรรมที่ทำในห้องปฏิบัติการ

[] กิจกรรมที่ไม่สามารถทำร่วมกันได้ในห้องปฏิบัติการ

3. การจัดการความเสี่ยง (Risk treatment)

1. การป้องกันความเสี่ยง ในหัวข้อต่อไปนี้

[] มีพื้นที่เฉพาะ สำหรับกิจกรรมที่มีความเสี่ยงสูง

[X] มีการขจัดสิ่งปนเปื้อน (decontamination) บริเวณพื้นที่ที่ปฏิบัติงานภายหลังเสร็จปฏิบัติการ

2. การลดความเสี่ยง (Risk reduction) ในหัวข้อต่อไปนี้

[X] เปลี่ยนแปลงวิธีการปฏิบัติงานเพื่อลดการสัมผัสสาร

ระบุวิธีใช้: ใช้ไมโครปิเปตแทนการใช้ serological pipette การใช้ Dispenser แทนการใช้ปิเปตแก้วในการดูดสารละลายที่เป็นกรด

[] ประสานงานกับหน่วยงานขององค์กรที่รับผิดชอบเรื่องการจัดการความเสี่ยง

[X] บังคับใช้ข้อกำหนด และ/หรือแนวปฏิบัติด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

ระบุประกาศ หรือเอกสาร: การลดความเสี่ยงยังไม่ได้ดำเนินการเป็นรูปธรรมอย่างชัดเจน ส่วนใหญ่จะให้ผู้ใช้ปฏิบัติการทบทวนระเบียบการใช้ห้องปฏิบัติการ เช่น จะใช้ห้องปฏิบัติการต้องทำหนังสือขอใช้ตามระเบียบและขั้นตอนที่ทางห้องปฏิบัติการกำหนดไว้

[] ประเมิน/ตรวจสอบการบริหารจัดการความเสี่ยงอย่างสม่ำเสมอ

3. มีการสื่อสารความเสี่ยงด้วย

[] การบรรยาย การแนะนำ การพูดคุย

[X] ป้าย, สัญลักษณ์

ระบุตัวอย่างป้าย/สัญลักษณ์: รูปภาพสัญลักษณ์อันตราย เช่น วัตถุไวไฟ สารเคมีกัดกร่อน สารระเหย
ป้ายห้ามนำอาหาร/เครื่องดื่มเข้ามาภายในห้องปฏิบัติการ ป้ายห้ามสูบบุหรี่ในห้องปฏิบัติการ

[X] เอกสารแนะนำ, คู่มือ

ระบุชื่อเอกสาร, คู่มือ: ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจสอบสุขภาพ ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจะได้รับการตรวจสอบสุขภาพเมื่อ

[X] ถึงกำหนดการตรวจสอบสุขภาพทั่วไปประจำปี

[X] ถึงกำหนดการตรวจสอบสุขภาพตามปัจจัยเสี่ยงของผู้ปฏิบัติงาน

ระบุ 1. ตัวอย่างปัจจัยเสี่ยงที่ต้องได้รับการตรวจสอบสุขภาพ ระบุ 2. ความถี่ในการตรวจสุขภาพ: ผู้ปฏิบัติงานทางด้านเชื้อโรคต่าง ๆ ควรมีการตรวจสอบสุขภาพด้านทางเดินหายใจและอวัยวะที่สัมผัสสารพิษ โดยควรตรวจเพิ่มเติมจากการตรวจสอบสุขภาพประจำปี

[X] มีอาการเตือน – เมื่อพบว่า ผู้ทำปฏิบัติการมีอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นจากการทำงานกับสารเคมี วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

ระบุอาการตัวอย่างที่ต้องได้รับการตรวจสอบสุขภาพ: ผู้ที่มีอาการแสบจมูก ไอ หายใจลำบากแน่นหน้าอก และเกิดอาการระคายเคืองผิวหนัง ต้องได้รับการตรวจสอบสุขภาพโดยเร็ว

[X] เผชิญกับเหตุการณ์สารเคมีหก รั่วไหล ระเบิด หรือเกิดเหตุการณ์ที่ทำให้ต้องสัมผัสสารอันตราย

ระบุตัวอย่างเหตุการณ์ที่ต้องได้รับการตรวจสอบสุขภาพ: เหตุการณ์อุปกรณ์ที่มีสารปรอทเป็นส่วนประกอบ เช่น ปรอทวัดอุณหภูมิแตกและหกบนพื้นห้อง ผู้ปฏิบัติงานได้สัมผัสกับสารปรอทโดยตรง

4. การรายงานการบริหารความเสี่ยง

1. มีการรายงานความเสี่ยงในระดับต่อไปนี้

[] บุคคล

[] โครงการ

[] ห้องปฏิบัติการ

5. การใช้ประโยชน์จากรายงานการบริหารความเสี่ยง

1. มีการใช้ข้อมูลจากรายงานการบริหารความเสี่ยง เพื่อ

[X] การสอน แนะนำ อบรม แก่ผู้ปฏิบัติงาน

ระบุกระบวนการนำความรู้มาถ่ายทอดให้ผู้เกี่ยวข้องทราบ: แนะนำถึงอันตรายของสารเคมีที่มีอยู่ให้แก่ผู้มาใช้ห้องปฏิบัติการ และแนะนำการใช้อุปกรณ์ชุดตอบโต้ภาวะฉุกเฉินจากการหกของสารเคมี

[] การประเมินผล ทบทวน และวางแผนการปรับปรุงการบริหารความเสี่ยง

[X] การจัดสรรงบประมาณในการบริหารความเสี่ยง

ระบุวิธีการนำข้อมูลมาใช้: จากรายงานความเสี่ยง มีการเสนอขออนุมัติจัดหาอุปกรณ์เพื่อลดความเสี่ยงในห้องปฏิบัติการ เสนอต่อผู้บริหาร

5.2. ระบบการป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย - การเตรียมความพร้อม/ตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน

การเตรียมความพร้อม/ตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน

1. มีอุปกรณ์ต่อไปนี้ สำหรับตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน อยู่ในบริเวณที่สามารถเข้าถึงได้โดยสะดวก

- [X] ที่ล้างตา
 - [X] ชุดฝึกบัวฉุกฉิน
 - [X] เวชภัณฑ์
 - [X] ชุดอุปกรณ์สำหรับสารเคมีหกรั่วไหล
 - [X] อุปกรณ์ทำความสะอาด
2. มีแผนป้องกันภาวะฉุกเฉินที่เป็นรูปธรรม
- ใช่
 - ระบุเอกสารแผน: คู่มือ ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
3. ซ้อมตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน ที่เหมาะสมกับหน่วยงาน
- ใช่
 - ระบุความถี่ หรือช่วงเวลาของการซ้อม หรือวันเดือนปีที่ซ้อมล่าสุด: การป้องกันและเผชิญอัคคีภัย ปีละ 1 ครั้ง
4. ตรวจสอบพื้นที่และสถานที่เพื่อพร้อมตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน
- ใช่
 - ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: ปีละ 1 ครั้ง
5. ตรวจสอบเครื่องมือ/อุปกรณ์พร้อมตอบโต้ภาวะฉุกเฉินต่อไปนี้ อย่างสม่ำเสมอ
- [X] ทดสอบที่ล้างตา
 - ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: เดือนละครั้ง ตรวจสอบล่าสุด 2 พ.ย.63
 - [X] ทดสอบฝึกบัวฉุกฉิน
 - ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: เดือนละครั้ง ตรวจสอบล่าสุด 2 พ.ย.63
 - [X] ตรวจสอบและทดแทนเวชภัณฑ์สำหรับตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน
 - ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: เดือนละครั้ง ตรวจสอบล่าสุด 2 พ.ย.63
 - [X] ตรวจสอบชุดอุปกรณ์สำหรับสารเคมีหกรั่วไหล
 - ระบุความถี่หรือวันเดือนปีที่ตรวจสอบล่าสุด: เดือนละครั้ง ตรวจสอบล่าสุด 2 พ.ย.63
 - [X] ตรวจสอบอุปกรณ์ทำความสะอาด
6. มีขั้นตอนการจัดการเบื้องต้นเพื่อตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน ที่เป็นรูปธรรมในหัวข้อต่อไปนี้
- [X] การแจ้งเหตุภายในหน่วยงาน
 - ระบุขั้นตอนการแจ้งเหตุ: มีเบอร์โทรศัพท์ติดไว้ที่หน้าห้อง โทรหาหน่วยอาคาร โทร.44901
มีเบอร์โทรศัพท์หัวหน้าห้องปฏิบัติการ 0981069046 และเบอร์โทรศัพท์ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการ 0846034363
 - [X] การแจ้งเหตุภายนอกหน่วยงาน
 - ระบุขั้นตอนการแจ้งเหตุ: โทรสายด่วนถึงหน่วยงานบรรเทาสาธารณภัยในมหาวิทยาลัย
 - [X] การแจ้งเตือน
 - ระบุขั้นตอนการแจ้งเตือน: ร้องตะโกนบอก กดสัญญาณเตือน
 - [X] การอพยพคน
 - ระบุขั้นตอนการอพยพ: อพยพลงทางบันได หรือทางหนีไฟและไปรวมตัวกันที่จุดรวมพล

5.3. ระบบการป้องกันและแก้ไขภัยอันตราย - ข้อปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยโดยทั่วไป

1. ความปลอดภัยส่วนบุคคล (Personal safety)

- มีอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipments, PPE) ที่เหมาะสมกับกิจกรรมในห้องปฏิบัติการ ได้แก่
 - ☐ อุปกรณ์ป้องกันหน้า (face protection)
 - ☒ อุปกรณ์ป้องกันตา (eye protection)
 - ☒ อุปกรณ์ป้องกันมือ (hand protection)
 - ☒ อุปกรณ์ป้องกันเท้า (foot protection)
 - ☒ อุปกรณ์ป้องกันร่างกาย (body protection)
 - ☐ อุปกรณ์ป้องกันการได้ยิน (hearing protection)
 - ☒ อุปกรณ์ป้องกันระบบทางเดินหายใจ (respiratory protection)

2. ระเบียบปฏิบัติของแต่ละห้องปฏิบัติการ

- มีการกำหนดระเบียบ/ข้อปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ
 - ใ้
 - ระบุชื่อเอกสาร: ข้อปฏิบัติทั่วไปสำหรับทุกห้องปฏิบัติการ
 - [ข้อปฏิบัติทั่วไปสำหรับทุกห้องปฏิบัติการของคณะสัตวแพทย์.pdf \(112.6 KB\)](#)
- ผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติตามระเบียบ/ข้อปฏิบัติที่กำหนดไว้ ในหัวข้อต่อไปนี้
 - ☒ จัดวางเครื่องมือและอุปกรณ์บนโต๊ะปฏิบัติการเป็นระเบียบและสะอาด
 - ☒ สวมเสื้อคลุมปฏิบัติการที่เหมาะสม
 - ☒ รวบรวมให้เรียบร้อยขณะทำปฏิบัติการ
 - ☒ สวมรองเท้าที่ปิดหน้าเท้าและส้นเท้าตลอดเวลาในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ มีป้ายแจ้งกิจกรรมที่กำลังทำปฏิบัติการที่เครื่องมือ พร้อมชื่อ และหมายเลขโทรศัพท์ของผู้ทำปฏิบัติการ
 - ☒ ล้างมือทุกครั้งก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่เก็บอาหารและเครื่องดื่มในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่รับประทานอาหารและเครื่องดื่มในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่สูบบุหรี่ในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่สวมเสื้อคลุมปฏิบัติการและถุงมือไปยังพื้นที่ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการทำปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่ทำงานตามลำพังในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่พาเด็กและสัตว์เลี้ยงเข้ามาในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่ใช้เครื่องมือผิดประเภท
 - ☒ ไม่ทำกิจกรรมอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติการ
 - ☒ ไม่วางของกรงรังและสิ่งของที่จำเป็นภายในห้องปฏิบัติการ
- มีการกำหนดระเบียบ/ข้อปฏิบัติในกรณีที่หน่วยงานอนุญาตให้ผู้เยี่ยมชม ในหัวข้อต่อไปนี้
 - ☒ มีผู้รับผิดชอบนำเข้าไปในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ มีการอธิบาย แจ้งเตือนหรืออบรมเบื้องต้นก่อนเข้ามาในห้องปฏิบัติการ
 - ☒ ผู้เยี่ยมชมสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมก่อนเข้ามาในห้องปฏิบัติการ

6. การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

1. การให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

1. มีการให้ความรู้พื้นฐานแก่ผู้บริหารในเรื่องระบบการบริหารจัดการด้านความปลอดภัย

- ใช่

ระบุ 1.ชื่อหรือตำแหน่งผู้บริหารที่ได้รับความรู้ ระบุ 2.หลักสูตร/หัวข้อความรู้ และวันเดือนปี (ถ้ามี): รศ. นสพ.ดร.ชูชาติ กมลเลิศ ตำแหน่ง คณบดี ,ผศ.นสพ.ดร.ประวิทย์ บุตรอุดม ตำแหน่ง รองคณบดีฝ่ายวิชาการ และวิจัย หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

2. มีการให้ความรู้พื้นฐานแก่ผู้บริหารในเรื่องกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

- ใช่

ระบุ1. ชื่อหรือตำแหน่งผู้บริหารที่ได้รับความรู้ ระบุ 2. หลักสูตร/หัวข้อความรู้ และวันเดือนปี (ถ้ามี): รศ. นสพ.ดร.ชูชาติ กมลเลิศ ตำแหน่ง คณบดี ,ผศ.นสพ.ดร.ประวิทย์ บุตรอุดม ตำแหน่ง รองคณบดีฝ่ายวิชาการ และวิจัย หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

3. มีการให้ความรู้พื้นฐานแก่หัวหน้าห้องปฏิบัติการในเรื่อง

[X] กฎหมายที่เกี่ยวข้อง

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] ระบบการบริหารจัดการด้านความปลอดภัย

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] ระบบการจัดการสารเคมี

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] ระบบการจัดการของเสีย

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้ : หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] สารบบข้อมูลสารเคมีและของเสีย

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] การประเมินความเสี่ยง

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการกับความปลอดภัย

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] การป้องกันและตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] SDS

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

[X] ป้ายสัญลักษณ์ด้านความปลอดภัย

ระบุหลักสูตร/หัวข้อความรู้ วิธีการ หรือวันเดือนปีที่ได้รับความรู้: หลักสูตร การยกระดับมาตรฐานความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ วันที่ 26 มีนาคม 2563

4. มีการให้ความรู้พื้นฐานแก่ผู้ปฏิบัติงานอย่างสม่ำเสมอในเรื่อง

- [] กฎหมายที่เกี่ยวข้อง
- [] ระบบการบริหารจัดการด้านความปลอดภัย
- [] ระบบการจัดการสารเคมี
- [] ระบบการจัดการของเสีย
- [] สารบับข้อมูลสารเคมีและของเสีย
- [] การประเมินความเสี่ยง
- [] ลักษณะทางกายภาพของห้องปฏิบัติการกับความปลอดภัย
- [] การป้องกันและตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน
- [] อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล
- [] SDS
- [] ป้ายสัญลักษณ์

5. มีการให้ความรู้พื้นฐานแก่พนักงานทำความสะอาดในเรื่อง

- [] การป้องกันและตอบโต้ภาวะฉุกเฉิน
- [] อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล
- [] ป้ายสัญลักษณ์ด้านความปลอดภัย

7. การจัดการข้อมูลและเอกสาร

1. การจัดการข้อมูลและเอกสาร

1. มีการจัดการข้อมูลและเอกสารอย่างเป็นระบบ ดังนี้

- [] ระบบการจัดกลุ่ม
- [X] ระบบการจัดเก็บ

ระบุ ขั้นตอนและวิธีที่ใช้: มีระบบการจัดเก็บในรูปแบบเอกสารและแบบ digital โดยเรียงลำดับตามอักษรภาษาอังกฤษ วิธีที่ใช้: เปิดเอกสารตามอักษรสารเคมีที่ต้องการจะใช้

[X] ระบบการนำเข้า-ออก และติดตาม

ระบุ ขั้นตอนและวิธีที่ใช้: มีสมุดบันทึกการยืม-คืน คู่มือ/เอกสาร

[X] ระบบการทบทวนและปรับปรุงให้ทันสมัย (update)

ระบุ ตัวอย่างชื่อเอกสาร และชื่อผู้ทบทวนหรือความถี่ในการทบทวน: ข้อมูลความปลอดภัยในการใช้สารเคมี SDS data sheet

2. มีเอกสารและบันทึก ต่อไปนี้ อยู่ในห้องปฏิบัติการ หรือบริเวณที่ผู้ปฏิบัติการทุกคนสามารถเข้าถึงได้

- [X] เอกสารนโยบาย แผน และโครงสร้างบริหารด้านความปลอดภัย
- [X] ระเบียบและข้อกำหนดความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ
- [X] เอกสารข้อมูลความปลอดภัย (SDS)
- [X] คู่มือการปฏิบัติงาน (SOP)
- [] รายงานอุบัติเหตุในห้องปฏิบัติการ
- [] รายงานเชิงวิเคราะห์/ถอดบทเรียน
- [] ข้อมูลของเสียอันตราย และการส่งกำจัด
- [] ประวัติการศึกษาและคุณสมบัติ
- [] ประวัติการได้รับการอบรมด้านความปลอดภัย
- [] ประวัติเกี่ยวกับสุขภาพ
- [] เอกสารตรวจประเมินด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ
- [X] ข้อมูลการบำรุงรักษาองค์ประกอบทางกายภาพ อุปกรณ์ และเครื่องมือ
- [X] เอกสารความรู้เกี่ยวกับความปลอดภัย
- [X] คู่มือการใช้เครื่องมือ

ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิธีการปฏิบัติงาน (work instruction) เรื่อง การใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ ยี่ห้อ proline®				
รหัสเอกสาร	ฉบับที่แก้ไข	อนุมัติใช้โดย	วันที่เริ่มใช้	หน้าที่
W-009	00			1/3

1. วัตถุประสงค์

เพื่อเป็นคู่มือในการใช้ ดูแลและบำรุงรักษาปิเปตต์อัตโนมัติ ยี่ห้อ proline® ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. ขอบข่าย

วิธีการใช้งานและบำรุงรักษาปิเปตต์อัตโนมัติ

3. หลักการและทฤษฎี

ปิเปตต์เป็นอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโดยใช้ในการวัดและจ่ายปริมาณสารที่เป็นของเหลว มีสเกลการวัดที่ละเอียดและมีความแม่นยำสูง โดยช่วงปริมาณที่สามารถวัด-จ่ายได้ อยู่ระหว่าง 100 ไมโครลิตรถึง 1 มิลลิลิตร ใช้หลักการ air displacement ส่วน pipette tip โดยทำมาจาก polypropylene สามารถฆ่าเชื้อได้ก่อนใช้งาน เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการใช้งาน

4. ความรับผิดชอบ

นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการ มีหน้าที่ควบคุม ดูแลการใช้งาน กรณีที่นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการไม่สามารถปฏิบัติงานได้ ให้มีนักวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปฏิบัติงานแทน

5. เอกสารอ้างอิง

คู่มือการใช้ proline® pipette

6. อุปกรณ์และเครื่องมือ

proline® pipette จัดจำหน่ายโดย Sartorius

7. วิธีการปฏิบัติงาน

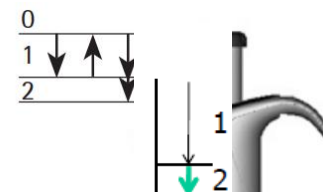
การใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ

1. การปรับปริมาตร จะมีการแสดงปริมาตรบนช่อง หากต้องการปรับปริมาตรให้หมุนปุ่มที่อยู่ด้านบน โดยหมุนตามเข็มนาฬิกา หรือทวนเข็มนาฬิกา โดยเมื่อตั้งค่าปริมาตร ต้องแน่ใจว่า หมุนปรับปริมาตรตามที่ต้องการซึ่งจะแสดงในช่องบอกปริมาตร โดยปริมาตรที่ปรับต้องมี ปริมาตรไม่เกินช่วงที่ปิเปตต์สามารถปรับได้ เนื่องจากจะทำให้ปิเปตต์เสียหาย
2. เลือก tip ให้เหมาะสมโดย proline® pipette สามารถใช้ได้กับ tip ขนาด 100-1000 ul และการที่จะสวม tip เข้ากับ ปิเปตต์ ต้องมั่นใจก่อนว่า tip สะอาด
3. เลือก tip ให้เหมาะสมโดย proline® pipette สามารถใช้ได้กับ tip ขนาด 100-1000 ul และการที่จะสวม tip เข้ากับ ปิเปตต์ ต้องมั่นใจก่อนว่า tip สะอาด

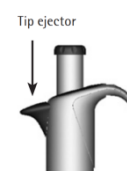


ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิธีการปฏิบัติงาน (work instruction) เรื่อง การใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ ยี่ห้อ proline®				
รหัสเอกสาร	ฉบับที่แก้ไข	อนุมัติใช้โดย	วันที่เริ่มใช้	หน้าที่
W-009	00			2/3

4. กด plunger จนรู้สึกถึงแรงต้าน จังหวะที่ 1 เพื่อทำให้เกิดภาวะสุญญากาศในปิเปตต์ โดยกดค้างไว้ลักษณะปิเปตต์ตั้งฉากกับพื้น จุ่มปลาย tip ให้ปลายอยู่ต่ำกว่าระดับผิวเพียงเล็กน้อย ค่อยๆ



- ปล่อย plunger ถอยกลับคืนตำแหน่งเดิม จุ่มปลาย tip ค้างไว้ 3 ประมาณวินาที (เวลาขึ้นอยู่กับความหนืดของสาร) เพื่อให้ของเหลวไหลเข้า tip จนครบตามปริมาตรที่ตั้งไว้
5. ปล่อยของเหลวโดย จังหวะที่ 1 และปลาย tip กับภาชนะรับ แล้วกด plunger ไปจนถึงระดับที่ 2 จะทำให้ของเหลวจาก pipette tip ไหลลงสู่ภาชนะรองรับ จังหวะที่ 2 รอเป็นเวลา 1-2 วินาที ก่อนที่จะกด plunger ลงไปจนสุด (ระดับที่ 2) ซึ่งจะเป็นการไล่ของเหลวที่เหลืออยู่ใน pipette tip ลงสู่ภาชนะรับจนหมด



6. หลังจากปล่อยน้ำยาแล้ว ค่อยๆปล่อย plunger อย่างช้าๆจนสุด
7. ปลด tip ออกจาก pipette ลงสู่ภาชนะรองรับ ด้วยการกดปุ่ม ejector

การบำรุงรักษาเครื่องมือ

การเก็บ

เมื่อไม่ใช้ให้เก็บในลักษณะแนวตั้ง บนที่วาง



8. การควบคุมคุณภาพ

การทดสอบประสิทธิภาพและการสอบเทียบปิเปตต์

แนะนำให้มีการตรวจสอบคุณภาพของปิเปตต์เป็นประจำ (เช่น ทุก 3 เดือน) และตรวจสอบประสิทธิภาพอยู่เสมอ

การทดสอบประสิทธิภาพ ; เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15-30 +/- 5 C และมีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ที่ 50% ใช้วิธีการชั่งน้ำหนัก (Gravimetric Method) โดยมีหลักการ ดังนี้ ปริมาตรของของเหลวที่ปิเปตต์ดูดเข้าไปและปล่อยออกมา สามารถคำนวณได้จากการชั่งน้ำหนักของน้ำกลั่นที่ปิเปตต์ดูดเข้าแล้วปล่อยออกมา แล้วจึงเปลี่ยนน้ำหนักให้เป็นปริมาตรของน้ำกลั่น ณ ที่อุณหภูมิต่างๆ

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักภาชนะและบันทึกผลไว้
2. วัดอุณหภูมิของน้ำกลั่นและบันทึกผลไว้ (t)
3. ดูดน้ำกลั่นตามเทคนิคการใช้งานที่ถูกต้อง
4. เช็ดปิเปตต์ที่ภายนอกให้แห้ง (ถ้าเปียกมาก)
5. ปล่อยน้ำกลั่นลงในภาชนะโดยการแตะปลายปิเปตต์ที่ปาดานในภาชนะ

ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิธีการปฏิบัติงาน (work instruction) เรื่อง การใช้ปิเปตต์อัตโนมัติ ยี่ห้อ proline®				
รหัสเอกสาร	ฉบับที่แก้ไข	อนุมัติใช้โดย	วันที่เริ่มใช้	หน้าที่
W-009	00			3/3

6. บันทึกผลน้ำหนักของน้ำกลั่น โดยหักน้ำหนักภาชนะออกจากน้ำหนักรวม
7. เปลี่ยนปิเปตต์ทุกครั้งที่เราทำการตรวจสอบความถูกต้องของปิเปตต์
8. ทำซ้ำขั้นตอนในข้อ 1-7 อย่างน้อย 9-19 ครั้ง
9. คำนวณหาน้ำหนักเฉลี่ยของน้ำกลั่น (W)

การคำนวณ

1. การคำนวณหาค่าแตกต่างไปจากค่าที่กำหนดดังนี้

1.1 คำนวณหาปริมาตรของน้ำกลั่น โดยการคิดจากน้ำหนักเฉลี่ยที่คำนวณได้ เทียบกับ ความสัมพันธ์ของน้ำหนักและปริมาตรของน้ำกลั่น 1 กรัม ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาตร (มล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาตร(มล.)
10	1.0016	22	1.0032
11	1.0017	23	1.0034
12	1.0018	24	1.0036
13	1.0019	25	1.0038
14	1.0020	26	1.0041
15	1.0021	27	1.0043
46	1.0022	28	1.0046
17	1.0023	29	1.0048
18	1.0025	30	1.0051
19	1.0026	31	1.0054
20	1.0028	32	1.0057
21	1.0030	33	1.0060

- 1.2 คำนวณค่าแตกต่างจากสูตร

$$\% \text{ Deviation} = \frac{\text{Expected volume} - \text{Delivered volume}}{\text{Expected volume}}$$

2. คำนวณความแม่นยำ (%CV) จากสูตร

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\%CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

9. บันทึกและเอกสารประกอบ

- ตารางบันทึกผล รหัสเอกสาร T34-001

ห้องปฏิบัติการกลาง	วิธีการปฏิบัติงาน	รหัสเอกสาร W49-001
กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข	(Work Instruction)	ฉบับที่แก้ไข
คณะสัตวแพทยศาสตร์	เรื่อง การทดสอบการสูญเสีย	อนุมัติใช้โดย
มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ปริมาตรของของเหลวหลังจาก	วันที่เริ่มใช้
	ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย	หน้าที่ จาก หน้า
	AUTOCLAVE	

1. วัตถุประสงค์

เพื่อคงปริมาตรสารให้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

2. ขอบข่าย

ทดสอบหาปริมาตรที่หายไปของของเหลวที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วย AUTOCLAVE โดยการชั่งน้ำหนักที่สูญเสียไป

3. ความรับผิดชอบ

นักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลรับผิดชอบเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (AUTOCLAVE) ต้องทำเป็นประจำทุกครั้งที่มีการซ่อมบำรุงเครื่อง หรือมีการร้องเรียน

4. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ภาชนะที่ต้องการทดสอบพร้อมฝา
2. น้ำบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบ
3. ตาชั่งที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว

5. วิธีการปฏิบัติงาน

1. ใส่น้ำลงในภาชนะที่ต้องการทดสอบ
2. ทำการชั่งน้ำหนักภาชนะที่พร้อมใส่เข้านึ่งฆ่าเชื้อแล้วจดบันทึก (น้ำหนักก่อน)
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ
4. ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (น้ำหนักหลัง)
5. น้ำหนักก่อนลบด้วยน้ำหนักหลัง เท่ากับ น้ำหนักที่สูญเสีย
6. น้ำหนักที่สูญเสียหารด้วยน้ำหนักก่อน คูณ 100 เท่ากับ เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย

ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	วิธีการปฏิบัติงาน (Work Instruction)	รหัสเอกสาร W49-001
		ฉบับที่แก้ไข
	เรื่อง การทดสอบการสูญเสีย ปริมาตรของของเหลวหลังจาก ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย AUTOCLAVE	อนุมัติใช้โดย
		วันที่เริ่มใช้
		หน้าที่ จาก หน้า

ผลที่ยอมรับได้

หลังจากผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตรสุดท้าย (Final volume) ควรจะเปลี่ยนแปลงไม่เกิน $\pm 2\%$ ¹

การแก้ไข

เพิ่มปริมาตรตามเปอร์เซ็นต์ที่หายไป เช่น ปริมาตรสูญเสีย 5% และต้องการเตรียมสาร 10 มิลลิลิตร ดังนั้นต้องใส่ปริมาตรก่อนนึ่งฆ่าเชื้อ 10.5 มิลลิลิตร

6. บันทึกและเอกสารประกอบ

¹ ISO 6887-1 first edition 1999-02-15 Microbiology of food and animal-feeding stuffs- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination- part 1 : General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. P.3 (5.4)

ตารางบันทึกผล รหัสเอกสาร T49-001

นักศึกษาสามารถทำแบบฝึกหัดด้วยตนเอง

เพื่อเป็นคะแนนการจัดการด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ ที่ kku-elearning