



## ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

### ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ต้นแบบของระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อความปลอดภัยทางจุลชีวะวิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853)

Model of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System for Microbial Safety of Salted Crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) Product

นามผู้วิจัย นางสาวเนาวพันธ์ หนูจ้อย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์กังสดาลย์ บุญปราบ, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( อาจารย์สุวิมล กิระติวิริยาภรณ์, B.S. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... เดือน..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ต้นแบบของระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อความปลอดภัยทาง  
จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853)

Model of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System for Microbial Safety of  
Salted Crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) Product

โดย

นางสาวเนาวพันธ์ หนูจ้อย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

พ.ศ. 2552

เนาวพันธ์ หนูจ้อย 2552: ต้นแบบของระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์กิ่งสกลชัย บุญปราบ, Ph.D. 180 หน้า

ปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) เป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมในประเทศไทย ซึ่งมีวิธีทำโดยใส่ปูแสมสดในน้ำเกลืออิมตัวทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่เหมาะสม การศึกษานี้มีเพื่อแสดงต้นแบบระบบ HACCP ของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม เพื่อควบคุมความปลอดภัยในการบริโภค โดยศึกษา 1) ธรรมชาติของปัญหาด้านความปลอดภัยในปูเค็ม 2) ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point: HACCP) 3) การจัดเก็บเอกสารเพื่อสร้างต้นแบบ จากผลการทดลองพบว่า 1) ผลของแบบสอบถาม 100 คน โดยสุ่มจากห้างสรรพสินค้าที่นิยม กลุ่มผู้บริโภคที่นิยมเป็นหญิงในช่วงอายุ 20 – 25 ปี วุฒิปริญญาตรี มีปัญหาเจ็บป่วยจากการบริโภค และต้องการให้ควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ มีการบริโภค 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์ผ่านร้านผลิตภัณฑ์สำเร็จ โดยใส่ในส้มตำ จากผลิตภัณฑ์ปูเค็มในตลาดกรุงเทพฯ (50 ตัวอย่าง) จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนคือ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. มีร้อยละที่พบ 100, 100, 30 และ 2.5 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจตามลำดับ ให้ความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดร้อยละ ปริมาณเกลือร้อยละ และค่า  $a_w$  มีค่าเท่ากับ 7.87–8.82, 0.04%–0.11%, 15.05% – 33.95% และ 0.72–0.83 ตามลำดับ ไม่พบการปนเปื้อน *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, yeast และ mold 2) ค่าข้างต้นสอดคล้องกับอันตรายที่พบในการเตรียมปูแสมเค็มในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมตามข้อกำหนดที่ดีในการผลิต (GMP) ยกเว้น *Salmonella* sp. ซึ่งแสดงค่าที่ต้องควบคุมโดยระบบ HACCP หลังจากที่มีการควบคุม GMP ที่ดีแล้ว เกณฑ์การเลือกปูแสมเพื่อควบคุมอันตรายต่อปูเค็มผ่านการควบคุมความปลอดภัย ค่าสมการที่ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาและเกณฑ์ลักษณะทางประสาทสัมผัส, ค่า QIM (Quality Index Method) ตามระบบคะแนนของตารางที่กำหนด, ค่าทางจุลชีววิทยา และดัชนีทางเคมี ที่เก็บรักษา แสดงดังนี้ ณ อุณหภูมิห้อง สมการคือ  $Y = 0.84X - 1.32$  ( $r^2 = 0.96$ );  $X$  = ระยะเวลา (อายุการเก็บรักษา),  $Y$  = คะแนน QIM (Quality Index Method), ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) และจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ  $21.00 \pm 1.00$ ,  $59.56 \pm 5.70$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ  $7.56 \pm 0.25$  logCFU/g ตามลำดับ และในน้ำแข็ง สมการคือ  $Y = 1.44X + 3.57$  ( $r^2 = 0.93$ ); ค่า TVB-N และจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ  $22.00 \pm 1.00$  คะแนน,  $28.99 \pm 0.94$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ  $7.49 \pm 0.16$  log CFU/g ตามลำดับ การวิเคราะห์อันตรายในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ตลอดสายการผลิตในห้องปฏิบัติการ 4 ขั้นตอน [การรับและล้างปูแสม (1), การเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2), การเติมน้ำเกลือ (3) และการหมักปูเค็ม (4)] ในวัตถุดิบ ปูแสมสด ได้แก่ TVC, *E. coli*, *S. aureus* และ Slightly halotrophic bacteria (SHB), เกลีสุมทร ได้แก่ TVC, SHB และ Extremely halotrophic bacteria (EHB), ในสายการผลิต ปูแสมสดล้างน้ำ (1) ได้แก่ TVC, *E. coli*, *S. aureus* และ SHB; น้ำเกลืออิมตัว (2) ได้แก่ TVC และ SHB; ปูแสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง (3) ได้แก่ TVC, *E. coli*, *S. aureus* และ SHB และปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง (4) ได้แก่ TVC, *S. aureus*, SHB, และ EHB การกำหนดจุดวิกฤตโดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ จุดที่ต้องควบคุมคือ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (CCP1) และขั้นตอนการหมักปูเค็ม (CCP2) ขอบเขตของการควบคุมอันตราย ณ CCP1 คือการต้มน้ำเกลืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสให้คงที่ ณ อุณหภูมินี้เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที ปัจจุบันยืนยันการยับยั้งได้โดยใช้กับ SHB บริสุทธิ์จากเกลีสุมทรและน้ำเกลือ ณ CCP2 คือ ปริมาณเกลือในตัวปูเค็มอย่างน้อยร้อยละ 25 ปัจจุบันยืนยันการยับยั้งได้โดยใช้กับเชื้อบริสุทธิ์ *E. coli* และ *S. aureus* และเชื้อบริสุทธิ์ (SHB) จากปูแสมล้างน้ำ และปูแสม การเฝ้าระวัง ณ CCP1 ถูกเสนอว่าเป็นการควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการต้มน้ำเกลืออิมตัวให้ตรวจสอบทุกครั้งที่เกิด มีพนักงานในการผลิตควบคุม ณ CCP2 เป็นการควบคุมปริมาณเกลือในตัวปูเค็ม ทำการตรวจสอบทุกครั้งที่เกิด ผ่านการสุ่มตรวจในตัวปูเค็ม มีพนักงานในการผลิตควบคุม การทานสอบ ณ จุด CCP1 และ 2 และการทวนสอบแผน HACCP ตลอดสายการผลิต โดยตรวจเช็ที่เป็นอันตรายหลังการใช้ HACCP พบว่า เชื้อลดลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ใช้ HACCP 3) จากข้อสรุปทั้งหมดทำให้สามารถเสนอการจัดเก็บเอกสารเพื่อสร้างต้นแบบในการผลิตปูเค็มที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคดังในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

Nowwapan Noojuy 2009: Model of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System for Microbial Safety of Salted Crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) Product. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Kangsadan Boonprab, Ph.D. 180 pages.

Salted crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) is a traditional food which is generally consumed in Thailand. Its production was done by fermentation of fresh crab with salt solution at room temperature for an appropriate time. This work was aimed at proposing the model for the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system for salted crab products for consumer safety through the study on 1) the nature of food safety problem in salted crab products. 2) Hazard Analysis Critical Control Point system (HACCP) of the product 3) establishing document for HACCP model. The results showed that 1) for the consumer behavior study *via* questionnaire for 100 persons at popular shopping malls the data indicated that the most of consumers were women (20-25 years old) with bachelor degree level. They were ill after consuming, thus they need the controlling processing for food safety requirement. The product was consumed once to twice a week *via* ready to eat food shop through papaya salad (Som-tum). From salted crab in local markets in Bangkok the contaminant of total viable count (TVC), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. were 100, 100, 30 and 2.5 % of all samples, respectively. pH, acid concentration, sodium chloride concentration and  $a_w$  were in range of 7.87-8.82, 0.04%-0.11%, 15.05%-33.95% and 0.72-0.83, respectively. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, yeast and mold were not found. 2) These results were correspond to the hazard founded in laboratory salted crab with Good manufacturing practice (GMP) control except *Salmonella* sp. This indicated that the hazard must be controlled *via* HACCP system under GMP management. The criteria of fresh crab for raw material to control hazard of product through the fresh raw material controlling showed, the predicted equation of storage time and sensory character using, QIM (Quality Index Method: sensory evaluation scoring system) according to specific scoring scheme, microbiological index and chemical index of storage time at room temperature were  $Y = 0.84X - 1.32$  ( $r^2 = 0.96$ );  $X =$  time (storage time),  $Y =$  QIM score (Quality Index Method), TVB-N (Total Volatile Basic – Nitrogen) and total mesotrophic bacteria with the lowest criteria acceptability for consuming  $21.00 \pm 1.00$ ,  $59.56 \pm 5.70$  mg/100 g sample,  $7.56 \pm 0.25$  log CFU/g, respectively, and at iced storage, the predicted equation was  $Y = 1.44 X + 3.57$  ( $r^2 = 0.93$ ); QIM, TVB-N and total psychrotrophic bacteria with the lowest criteria acceptability for consuming were  $22.00 \pm 1.00$  score,  $28.99 \pm 0.94$  mg/100g sample and  $7.49 \pm 0.16$  log CFU/g, respectively. For the hazard analysis in raw material and product through 4 steps of the processing line [Receiving and washing crab (1), Saturated salt solution preparation (2), Salt addition (3), and Crab fermentation (4)], in raw material: fresh crab had TVC, *E. coli*, *S. aureus* and Slightly halotrophic bacteria (SHB), salt (from the sea) had TVC, SHB and Extremely halotrophic bacteria (EHB), in processing line; washing fresh crab (1) had TVC, *E. coli*, *S. aureus* and SHB, saturated salt (2) had TVC and SHB, crab with saturated salt at 0 hour (3) had TVC, *E. coli*, *S. aureus* and SHB and crab with saturated salt at 24 hour. (4) had TVC, *S. aureus*, SHB and EHB. For the determination of the critical control point (CCPs) using decision tree, the CCP demonstrated as saturated salt preparation step (CCP1) and crab fermentation step (CCP2). The critical limits at CCP1 was boiling unsaturated salt at 100°C for at least 20 minute. This condition was confirmed through the decreasing of pure isolated SHBs from solar salt and saturated salt solution. The critical limits at CCP2 was salt concentration in salted crab at least 25% of NaCl. This was confirmed by the decreasing a number of the pure culture of *E. coli* and *S. aureus* and pure isolated culture (SHB) from washed fresh crab and fresh crab. The monitoring at CCP1 and CCP2 were proposed for the controlling of temperature and time to boil saturated salt through checking every lot of the processing by production team and the controlling of salt concentrate in salted crab through randomized checking in salted crab every lot by production team, respectively. The validation at CCP1 and 2 and the verification of HACCP plan of processing line by the comparison between with and without HACCP plan application using enumeration the microbiological hazards in raw material and product through processing line was performed. The decreasing of them in the processing with HACCP plan from the treatment without HACCP plan was shown. From all of results and conclusion, the establishment of HACCP plan model of Thai salted crab processing to conduct food safety of salted crab product to consume has been proposed in the thesis.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กังสดาลย์ บุญปราบ อาจารย์ที่  
ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และอาจารย์สุวิมล กิรติวิริยาภรณ์ (กรมประมง) อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี  
ตลอดมา และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์มัทนา แสงจินดาวงษ์ ประธานการสอบปาก  
เปล่าขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์ ดร. วรพจน์ สุนทรสุข (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอม  
เกล้าธนบุรี) ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ให้คำแนะนำและตรวจวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และรอง  
ศาสตราจารย์แสงเทียน อัจฉิมารกูร (ภาควิชาการจัดการประมง คณะประมง) ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย  
ในการสอบประมวลความรู้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย  
ระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและระดับนานาชาติ ประจำปีงบประมาณ  
2551 ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนกำลังใจจาก  
คณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้แก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด และขอขอบคุณสถาบันคั้นคว่ำและพัฒนา  
ผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือวิเคราะห์ water activity  
( $a_w$ ) เพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างบางส่วน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะ  
ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และทุกท่าน ทุกหน่วยงานที่ไม่ได้กล่าวนามถึง ที่ได้ให้ความ  
ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยและรวมถึงเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ปริญญาโทและ  
ปริญญาเอก ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่านที่มอบน้ำใจ ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านและให้  
กำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแต่ คุณพ่อคุณแม่  
คุณแม่สาตี หนูจ้อย และทุกคนในครอบครัวที่มอบความรัก ความห่วงใย กำลังใจ ให้การสนับสนุน  
ในการศึกษาและเสียดสละเพื่อข้าพเจ้าตลอดมา ตลอดจนครูอาจารย์ที่ได้อบรมบ่มนิสัยให้ความรู้จน  
ประสบความสำเร็จ ณ วันนี้

เนาวพันธ์ หนูจ้อย

มิถุนายน 2552

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์	29
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์	40
สรุปและข้อเสนอแนะ	131
สรุป	131
ข้อเสนอแนะ	141
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	142
ภาคผนวก	151
ภาคผนวก ก แบบสอบถาม	152
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางจุลชีววิทยา	157
ภาคผนวก ค วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	167
ภาคผนวก ง วิธีการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย	175
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	179

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แหล่งที่มาของปูเค็มที่บริโภคในประเทศไทย	10
2	มูลค่าการนำเข้าส่งออกของปูแสมเค็มในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2544-2549	10
3	มาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปูเค็มจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง	15
4	ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร	22
5	อันตรายจากปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่ก่อให้เกิดโรค	23
6	ข้อมูลทั่วไป ความคิดเห็นและพฤติกรรมของผู้บริโภคปูเค็ม	42
7	ลักษณะทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็มจำนวน 50 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่าย 23 แห่ง ในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ	47
8	ลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปูเค็มจำนวน 50 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่าย 23 แห่ง ในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ	51
9	ลักษณะทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์จากแหล่งอ้างอิง	53
10	ลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ	54
11	ลักษณะทางเคมีและจุลชีววิทยาของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853), ปูแสมที่เน่าเสีย และปูเค็มที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ตามสายการผลิตในภาพที่ 7	56
12	ดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) ที่เสนอเพื่อใช้ประเมินลักษณะของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	60
13	ลักษณะทางเคมี จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลา 30 ชั่วโมง	62

### สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	Coefficient of determination ( $r^2$ ) ของดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) กับลักษณะอื่นของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลา 30 ชั่วโมง	63
15	ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method:QIM) ดัชนีทางเคมี (Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N) ที่เปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว 30 ชั่วโมง ของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง	64
16	ลักษณะทางเคมี จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งตลอดระยะเวลา 15 วัน	71
17	Coefficient of determination ( $r^2$ ) ของดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) กับลักษณะอื่นของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาในน้ำแข็งตลอดระยะเวลา 15 วัน	72
18	ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method:QIM) ดัชนีทางเคมี (Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N) และดัชนีทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ) ที่เปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในสภาวะการเก็บรักษาในน้ำแข็ง	73
19	ชนิดและปริมาณของลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีของวัตถุดิบผลิตภัณฑ์แต่ละขั้นตอน ตลอดสายการผลิตดังภาพที่ 7	77
20	การกำหนดจุดวิกฤต (Critical Control Point: CCP) ทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree)	80

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
21	ความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จากเกลือเม็ดและปริมาณเกลือของน้ำเกลืออิมตัวที่ไม่ให้ความร้อน ณ เวลา 0 นาที และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 80, 100 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที	82
22	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อบริสุทธิ์ชนิด Slightly halotrophic bacteria ที่แยกจากเกลือเม็ดและน้ำเกลืออิมตัว เพื่อยืนยันสถานะการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 1	88
23	ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และปริมาณเกลือในน้ำเกลืออิมตัวที่ให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่ต่างกัน	90
24	ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี	95
25	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อบริสุทธิ์ชนิด Slightly halotrophic bacteria ที่แยกจากปุ๋ยแสม เพื่อยืนยันสถานะการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับโซเดียมคลอไรด์เพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 2	96
26	ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลาที่ 0 และ 24 ชั่วโมง	98
27	ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ก่อโรค ( <i>Escherichia coli</i> TISTR 780, <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 1466 และ <i>Staphylococcus aureus</i> จากปุ๋ยแสมน้ำเสีย) ในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างกัน โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลาที่ 0 และ 24 ชั่วโมง	99
28	ชนิดและปริมาณของลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีในวัตถุดิบและกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี โดยการควบคุมด้วยระบบ Hazard analysis critical control point เพื่อใช้ข้อมูลประกอบการทานสอบ (Validation) ณ จุดวิกฤตและการทวนสอบ (Verification) กระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี	105

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
29	HACCP plan ของการผลิตปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ตามแผนภูมิการไหลของกระบวนการผลิต (Process flow diagram) ผลิตกุ้งแช่เค็มด้วยการควบคุม โดยระบบ HACCP	138

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปูแสม <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853	4
2	ลักษณะโครงสร้างของปูทั่วไป	5
3	ลักษณะของปูเค็มที่มาจากปูแสม หรือ <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853 (ปูเค็มจากตลาดสด)	9
4	ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า ส่งออกปูเค็มของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2544-2549	11
5	แบบการผลิตปูเค็ม (ก) ปูเค็มน้ำปลา (ข) ปูเค็มน้ำเกลือเพื่อการบริโภคในครัวเรือนของประเทศไทย (ค) ปูเค็มน้ำเกลือเพื่อการจัดจำหน่ายของประเทศเพื่อนบ้าน	14
6	ผังการตัดสินใจ Decision tree	26
7	ขั้นตอนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ	33
8	ความสัมพันธ์ของคะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) จากการประเมินทางประสาทสัมผัสของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลา 0, 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง	63
9	ความสัมพันธ์ของคะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) จากการประเมินทางประสาทสัมผัสของปูแสมสด ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ณ เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน	72
10	ปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ในน้ำเกลืออิมตัวที่ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 50 (☞), 70 (☛), 80 (☞) และ 100 (☛) องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที	85

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	<p>ความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (เชื้อแบคทีเรียรหัส SHB010, SHB009, SHB008.1, SHB008.2, SHB006, SHB004.1, SHB001) ในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (□), เชื้อแบคทีเรียจากน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเกลือนิ่งมาเชื้อที่อ้อมตัวที่อุณหภูมิห้อง (■) และเชื้อแบคทีเรียจากน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเกลือนิ่งมาเชื้อที่อ้อมตัวที่อุณหภูมิห้องที่ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (▣) ที่ระยะเวลา 0 (A), 10 (B), 20, (C), 30 (D), 40 (E) และ 50 (F) นาที</p>	91
12	<p>ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างค่า log ของปริมาณจุลินทรีย์ที่ 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ณ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ต่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25 ของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> TISTR780 (A), เชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR1466 (B) และ เชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> จากปุ๋ยแสมเน่าเสีย (C)</p>	100
13	<p>ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างค่า log ของปริมาณจุลินทรีย์ที่ 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ณ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ต่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25 ของเชื้อ SHB002 (A) และ เชื้อ SHB007 (B)</p>	101
14	<p>แผนภูมิการไหลของกระบวนการผลิต (Process flow diagram) ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมี ด้วยการควบคุมโดยระบบ HACCP</p>	137
15	<p>ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมี</p>	140

ต้นแบบของระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) เพื่อความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม

(*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853)

Model of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System for Microbial Safety of Salted Crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) Product

คำนำ

ผลิตภัณฑ์ปูเค็มเป็นอาหารหมักดองพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่ได้จากการนำปู เช่น ปูแสม ปูเปี้ยว ปูเปี้ยว หรือปูนา มาล้างให้สะอาด นำไปคลุกเคล้ากับเกลือหรือแช่ในน้ำปรุงรส เช่น น้ำเกลือ น้ำปลา เก็บไว้ในระยะเวลาที่เหมาะสม [มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปูเค็ม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549)] ได้รับความนิยมในการบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศแถบเอเชีย ซึ่งนำไปปรุงรสได้หลายรายการอาหาร โดยเฉพาะการนำมาเป็นส่วนประกอบในส้มตำ (บรรจง, 2548) รวมถึงในปัจจุบันมีการนำเข้าและส่งออกปูเค็มเพิ่มสูงมากขึ้น โดยจากการรายงานในปี พ.ศ. 2549 ประเทศไทยมีการส่งออกปูเค็มปริมาณ 169.695 ตัน มูลค่า 29.856 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2550) และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นทุกปี ดังนั้นการศึกษาความปลอดภัยในการบริโภคโดยใช้ข้อมูลสนับสนุนเชิงวิทยาศาสตร์ และการสร้างต้นแบบระบบควบคุมคุณภาพ เช่น การใช้ระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) จึงเป็นสิ่งจำเป็น

การผลิตปูเค็มอาจมีโอกาสนปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระหว่างขั้นตอนการผลิตที่เกิดจากการควบคุมการผลิตที่ไม่ดี ดังการศึกษาของ Malechual *et al.* (1997) ซึ่งมีรายงานการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในตัวอย่างปูเค็ม ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ส่วนอรุณ และคณะ (2547) ตรวจพบจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรค *Salmonella sp.* และ *Vibrio parahaemolyticus* และสิทธิชัย (2547) รายงานการปนเปื้อนของ *Salmonella typhimurium* และปริมาณจุลินทรีย์สร้างกรดในช่วง  $10^3 - 10^7$  CFU/g จากงานทั้งหมดดังกล่าวแสดงสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ปูเค็มไม่มีคุณภาพเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งอาจส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยในการบริโภค จึงควรให้ความสำคัญในการควบคุมกระบวนการผลิตปูเค็ม

ดังนั้นการศึกษารั้วนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาความต้องการและพฤติกรรมของผู้บริโภคเรื่องความปลอดภัยในการบริโภคปูเค็ม อันตรายทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม วิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีโอกาสปนเปื้อนสูง และเสนอปัจจัยที่จะเฝ้าระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อน โดยศึกษาทั้งในตัวอย่างจากท้องตลาดและตัวอย่างที่เตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการระบบการเฝ้าระวัง (monitoring) ระบบทานสอบ (validation) ระบบการทวนสอบ (verification) และการสร้างต้นแบบระบบ HACCP รวมถึงระบบ Prerequisite Program [Standard Sanitation และ Good Manufacturing Practice (GMP)] เพื่อประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ในกระบวนการผลิตเพื่อสร้างต้นแบบของระบบ HACCP ในการผลิตปูเค็มให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคที่ปราศจากจุลินทรีย์ก่อเกิดโรค

## วัตถุประสงค์

เพื่อแสดงต้นแบบระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) ของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในการควบคุมอันตรายทางจุลชีววิทยา

## การตรวจเอกสาร

### ปูแสม

#### อนุกรมวิธานของปูแสม

ปูแสมเป็นสัตว์น้ำที่อาศัยในน้ำที่มีระดับความเค็มระหว่าง 20-25 ส่วนในพัน (บรรจง, 2548) จัดเป็นน้ำกร่อย [ระดับความเค็มระหว่าง 0.5-30 ส่วนในพัน (ประวิทย์, 2531)] ปูแสมในประเทศไทยพบปูในครอบครัวนี้มีอยู่ 9 ชนิด สำหรับปูแสมที่นำมาศึกษามีอนุกรมวิธาน (เฉลิมวิไล, 2525; จิตติมา, 2544) ดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Malacostraca

Order Decapoda

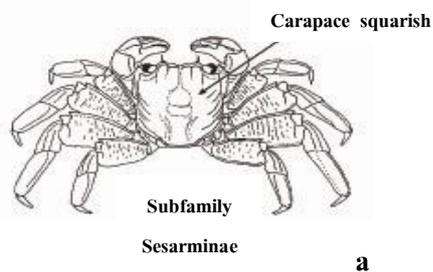
Family Grapsidae

Subfamily Sesarminae

Genus *Neoepisesarma*

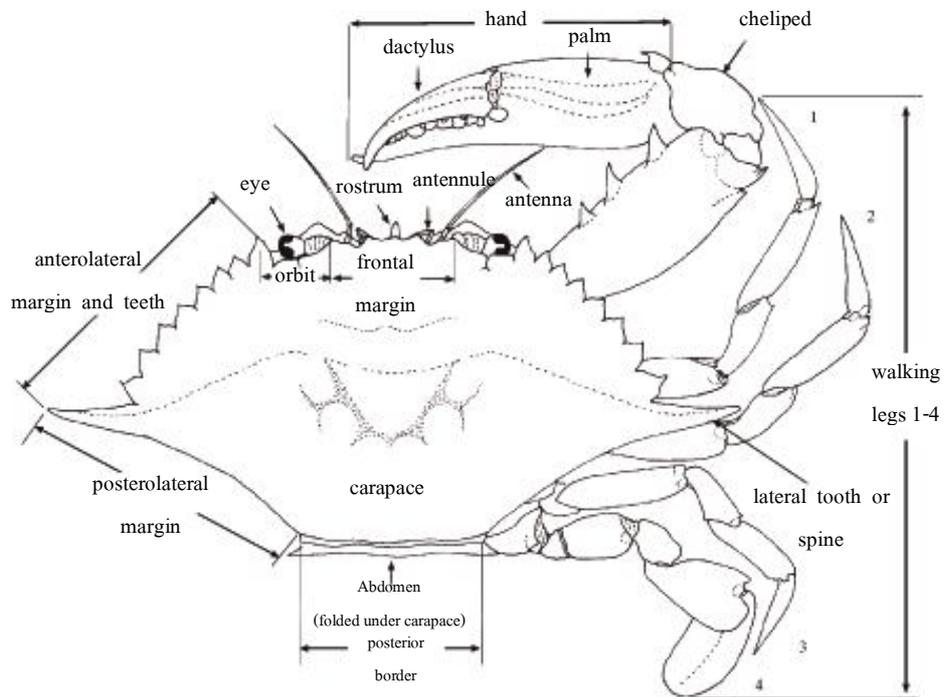
Species *mederi*

(H. Milne Edwards 1853)

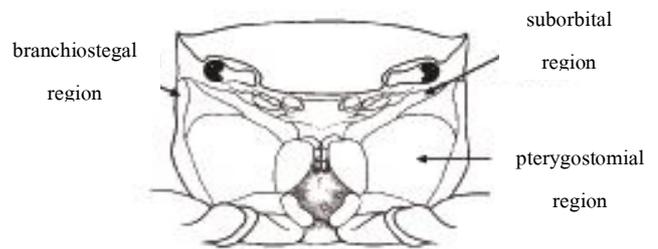
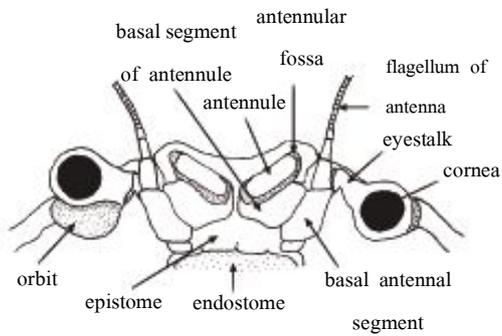


ภาพที่ 1 ปูแสม *Neoepisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853

ที่มา: (1a) Ng (1998)



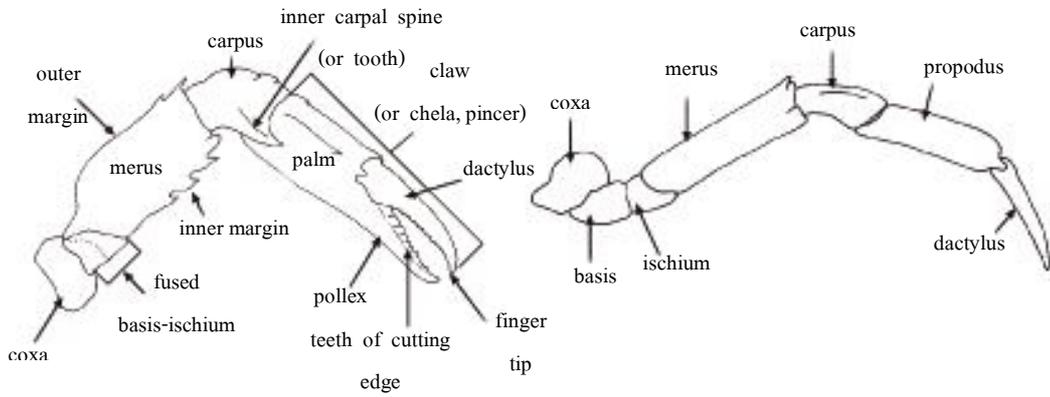
ลักษณะทั่วไป (ด้านหลัง) ของปู (family Portunidae)



ตา (eyes), หนวดบน (antennae)  
และหนวดเล็ก ๆ (antennules)

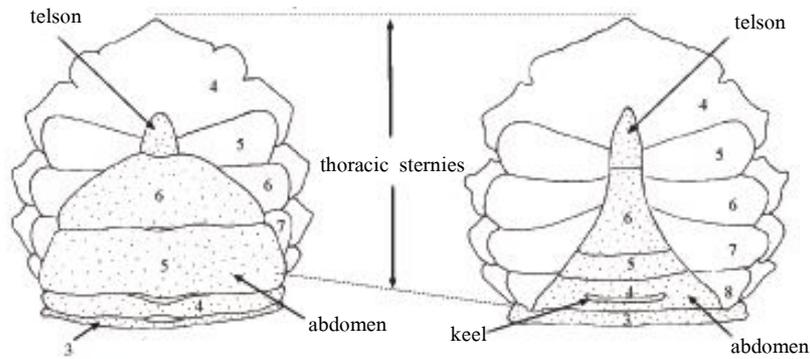
ด้านหน้าของลำตัว (frontal view of body)

ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของปูทั่วไป



ก้ามปู (cheliped)

ขาเดินของปู (walking leg)



จับปิ้งของปูเพศเมีย (abdomen of female)

จับปิ้งของปูเพศผู้ (abdomen of male)

ลักษณะกระดูกสันอกและจับปิ้งของปู  
(thoracic sternum and abdomen)

ภาพที่ 2 (ต่อ)

ที่มา: Ng (1998)

ลักษณะทั่วไป

สมโภชน์ (2545) ได้อธิบายไว้ดังนี้ ก้ามมีสีแดงปนม่วง กระดองเกือบจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส มีความกว้างมากกว่าความยาวเล็กน้อย มีกลุ่มขนสั้น ๆ กระจัดกระจายอยู่บนกระดอง ขอบ

บนด้านข้างกระดองยกเป็นสันเกือบตรง มีรอยหยักเหมือนฟัน 2 ซี่ ที่มุมนอกของเบ้าตาตอนกลาง กระดองซึ่งอยู่ตรงกันข้ามกับปากมีลักษณะโค้งนูนปลายแหลมเห็นได้ชัด สันข้างปากมีขนาดใกล้เคียงกันทั้งสองคู่ ร่องอกไม่ชัด แต่ร่องกันหัวใจเห็นได้ชัดบริเวณเหนืออกมีสันเล็ก ๆ เรียงอยู่ข้างละ 5-6 สัน ขอบหลังตาโค้งนูน ก้ามทั้งสองข้างมีขนาดใกล้เคียงกัน ปูเพศผู้จะมีปล้องท้องปล้องรองสุดท้ายยาวกว่าปล้องสุดท้ายเล็กน้อย แต่กว้างกว่าประมาณ 2 เท่าในเพศเมีย

#### การแพร่กระจาย

บรรจง (2546) ได้อธิบายไว้ว่า มีปูแสมชุกชุมในป่าชายเลนของจังหวัดชายทะเลต่าง ๆ ของประเทศไทย เช่น จังหวัดสมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี จันทบุรี ตราด ระยอง สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง และระนอง

บรรจง (2548) อธิบายเพิ่มเติมว่า มีโครงการปลูกป่าชายเลนที่ภาคเอกชนและภาครัฐได้ร่วมมือกันทำหลายแห่ง เช่น จังหวัดสมุทรสงคราม ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง กระบี่ และระนอง โดยในโครงการนี้จะเป็นการแพร่กระจายการเติบโตของปูแสมด้วย ซึ่งหลังจากการปลูกป่าชายเลน 2-4 ปีขึ้นไป ปูแสมจะช่วยให้ระบบนิเวศน์ของป่าสมบูรณ์มากขึ้น

#### วงจรชีวิตของปูแสม

บรรจง (2546) ได้อธิบายไว้ดังนี้ ปูแสมเป็นสัตว์ที่กินได้ทั้งพืชและเนื้อสัตว์ ถ้าไม่มีเนื้อสัตว์ปูแสมก็จะกินใบไม้ โดยเฉพาะใบแสม โกงกางปูแสมช่วยย่อยใบแสมให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก ที่จุลินทรีย์ต่าง ๆ สามารถนำไปใช้เป็นอาหารได้ ปูแสมจึงมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศน์ป่าชายเลนอย่างมาก ในธรรมชาตินั้น ในเวลากลางวันปูแสมส่วนใหญ่ จะอยู่ในรู จะออกมาจากรูก็ตอนหัวหรือเมื่อปลอดคน ปูแสมจะออกจากรูมาหากินในเวลากลางคืน ปูแสมปูเพศเมียเมื่อได้รับการผสมกับปูเพศผู้แล้ว ไข่จะเจริญอยู่ภายในกระดอง เมื่อไข่แก่เต็มที่จะถูกส่งมาเก็บไว้ที่ได้จับบึงบริเวณหน้าอก

ฤดูที่ปูแสมวางไข่มี 2 ช่วง ช่วงแรกอยู่เดือนเมษายน-กรกฎาคม ช่วงที่สองอยู่ระหว่างเดือนกันยายน-พฤศจิกายน ไข่จะอยู่นอกกระดองประมาณ 14 วัน ก็จะฟักเป็นตัว แม่ปูที่ขนาดความยาวกระดองระหว่าง 3.0-3.5 เซนติเมตร (น้ำหนักประมาณ 20-40 กรัม) มีไข่เฉลี่ยประมาณ 23,000-55,000 ฟอง ไข่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 360 ไมครอน ปูแสมที่มีไข่นอกกระดอง เมื่อถึงฤดู

วางไข่ ปูแสมจะเดินทางลงไปวางไข่ในน้ำ ในบริเวณปากแม่น้ำ ในป่าแสม โกงกาง ที่มีความเค็มระหว่าง 5-20 ส่วนในพัน อย่างที่ชาวบ้านเรียกว่า ฤดูแล้งไข่ ไข่เมื่อฟักเป็นตัวแล้วก็จะพัฒนาผ่านขั้นตอน 2 ระยะ ระยะแรกคือ Zoea เป็นระยะที่ลูกปูจะดำรงชีวิตคล้ายแพลงก์ตอนสัตว์อื่น ๆ (planktonic life) ลูกปูจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 10-15 วัน ก็จะเปลี่ยนรูปเป็น ลูกปูวัยอ่อนระยะที่สอง ที่มีชื่อเฉพาะว่า Megalopa ลูกปูในระยะนี้จะเริ่มว่ายน้ำแข็ง เปลี่ยนนิสัยการกินและความเป็นอยู่จากที่เคยคล่องลอยไปตามกระแสน้ำ ก็จะว่ายน้ำไปอาศัยหากินตามพื้นดิน บรรจง (2548) ได้อธิบายเพิ่มเติมว่า ลูกปูจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 10-15 วันก็พัฒนาเป็นลูกปูขนาดเล็ก สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 20-25 ส่วนในพัน

### การจับปูแสม

บรรจง (2548) ได้อธิบายว่า สมัยก่อนการจับปูแสมนิยมจับในเวลากลางคืนในช่วงเดือนมีด เพราะถ้าเดือนหงายปูจะเปรี้ยวจับยาก อุปกรณ์ในการจับปูมีตะเกียง และขังใส่ปู การจับปูมีหลายวิธีแต่นิยมเป็นแบบพื้นบ้านที่นิยมจับจากรู โดยใช้มือซึ่งต้องใช้ความเร็วในการจับหรือใช้ไฟเลี้ยวปลายแหลมเป็นรูปปากเป็ดคดักแทงรูกันปูหนี ส่วนในช่วงเดือนเมษายนถึงกรกฎาคมจะเป็นเดือนที่ชาวประมงมีการจับปูแสมกันมากและเป็นช่วงที่ปูมีรสมันเป็นพิเศษนิยมจับโดยใช้อวน หรือ โพงพาง

### ปูเค็ม

#### ความสำคัญและการบริโภค

ปูเค็มตามความหมายของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.1334/2549) ให้คำนิยามไว้ว่า ปูเค็ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำปู เช่น ปูแสม ปูเป๊าะ ปูเปี้ยว ปูนา มาล้างให้สะอาด นำไปคลุกเคล้ากับเกลือหรือแช่ในน้ำปรุงรส เช่น น้ำเกลือ น้ำปลา เก็บไว้ในระยะเวลาที่เหมาะสม ก่อนบริโภคควรนำไปทำให้สุก (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549)

ปูเค็มเป็นอาหารหมักสัตัวน้ำ ที่เกิดจากการถนอมอาหารแบบที่ไม่ใช้ความร้อน (non-thermal food preservation) ผ่านกระบวนการหมัก (fermentation) โดยใช้เกลือหรือน้ำเกลือลงในวัตถุดิบปูทั้งตัวทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการหมักจนเกิดกลิ่นและรสชาติที่จำเพาะเจาะจงของผลิตภัณฑ์

เกลือที่เติมลงไปในการผลิตภัณฑ์ทำหน้าที่เป็นแหล่งของรสชาติ (รสชาติเค็ม) คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมเพื่อทำหน้าที่ในกระบวนการหมัก เพื่อทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติในผลิตภัณฑ์และยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดและจุลินทรีย์และจุลินทรีย์ก่อโรค (Frazier, 1958) ตัวอย่างลักษณะของผลิตภัณฑ์ปูเค็มที่มาจากปูแสมแสดงได้ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ลักษณะของปูเค็มที่มาจากปูแสม หรือ *Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853 (ปูเค็มจากตลาดสด)

ปูเค็มใช้ชื่อเรียกอื่นหลายชื่อในไทย ได้แก่ ปูแสมคอง เปรี้ยวคอง กระแตมาแซงคอง (Phithakpol *et al.*, 1995) ปูแห้งใส่เกลือหรือแช่เกลือ (กรมศุลกากร, 2550) ปูดอง ปูเปรี้ยว เป็นที่สังเกตว่าการเรียกชื่อขึ้นอยู่กับท้องถิ่นของชุมชน ชนิดของปู ที่นำมาทำปูเค็มหรือเรียกตามกลวิธีการถนอม การเรียกปูเค็มเป็นการเรียกโดยรวมโดยไม่เจาะจงชนิดของปู แต่เนื่องจากปูเค็มส่วนใหญ่ นิยมใช้ปูแสม เมื่อเรียกชื่อนี้จึงหมายถึงปูเค็มที่ทำจากปูแสมเสมอ

ปูเค็มนำมาบริโภค ในอดีตโดยการใช้ประกอบอาหารได้หลายรายการ บรรจง (2546) ได้อธิบายว่า สามารถนำมาปรุงเป็นอาหารไทยพื้นบ้าน เช่น ปูแสมหน้านววิธีการทำ คือยำกับน้ำตาล น้ำปลา พริกและมะนาว หรือปรุงด้วยหอม กระเทียม มะดัน พริก มะกรูด ส้ม มะขามเปียก น้ำตาล แล้วราดกะทิ น้ำพริกปูเค็มปรุงด้วยกุ้งแห้ง มะขาม พริก กระเทียม กะปิ น้ำตาล น้ำปลา มะนาว และเมนูที่รู้จักกันดีคือการปรุงในส้มตำ บรรจง (2548) ได้อธิบายเพิ่มเติมว่า มีการปรุงเป็นปูเค็มหลน และปูเค็มต้มกะทิกับเปลือกแตงโม

ปริมาณการจับปูแสมที่ได้ไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ และมีต้นทุนการผลิตที่สูง จึงทำให้ต้องนำเข้าปูแสมเค็มจากประเทศเพื่อนบ้าน เช่น พม่า เวียดนามและกัมพูชา เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 1 แล้วนำไปจำหน่ายในตลาดสดในจังหวัดใหญ่ ๆ เช่น กรุงเทพฯ และหลาย ๆ จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นต้น (ทรงกรด, 2547)

**ตารางที่ 1** แหล่งที่มาของปุ๋ยเคมีที่บริโภคในประเทศไทย

อันดับ	แหล่งผลิต	ปริมาณร้อยละ
1	พม่า	70
2	เวียดนามและกัมพูชา	20
3	ไทย	10
รวม		100

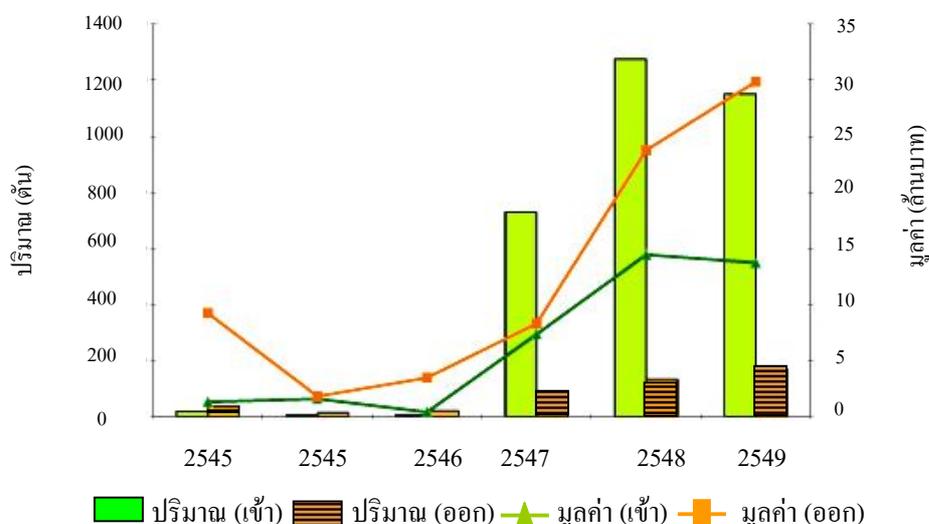
ที่มา: ทรงกรด (2547)

ปริมาณมูลค่าการนำเข้าส่งออกปุ๋ยเคมีของประเทศไทย มีแนวโน้มสูงขึ้นดังตารางที่ 2 และภาพที่ 4 ซึ่งแสดงถึงความสำคัญในความต้องการบริโภคมากขึ้นในประเทศและต่างประเทศ

**ตารางที่ 2** มูลค่าการนำเข้าส่งออกของปุ๋ยเคมีในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2544-2549

ปี พ.ศ.	2544	2545	2546	2547	2548	2549
มูลค่า (บาท)						
มูลค่าการนำเข้า	1,291,528	1,559,361	381,832	7,320,122	14,423,925	13,708,256
มูลค่าการส่งออก	9,211,280	1,793,516	3,446,643	8,278,122	23,741,341	29,856,133

ที่มา: กรมศุลกากร (2550)



ภาพที่ 4 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า ส่งออกบวบเค็มของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2544-2549

ที่มา: เผด็จศึกดี (2550)

#### การผลิตบวบเค็ม

บรรจง (2548) ได้อธิบายไว้ว่า วิธีการดองบวบเค็มที่ชาวบ้านทำอยู่ทุกวันนี้เป็นวิธีเดียวกันกับที่เคยทำมาตั้งแต่ในอดีต ขั้นแรกก่อนที่จะนำบวบมาดองเค็มต้องมีกรรมวิธีทำให้บวบสลบเสียก่อน หรือเรียกว่าอัดน้ำ คือเทบวบที่จะดองใส่ตุ่มน้ำเค็มเมื่อบวบถูกอัดในน้ำเค็มนาน ๆ ก็จะสลบ ต่อมาใช้น้ำเกลือที่อิมตัวในการดองในตุ่มมังกร ใส่น้ำประมาณครึ่งโอ่งใส่น้ำเกลือ 1 ใน 3 ของน้ำ ใช้ไม้พายคนให้เกลือละลาย โดยการดองใส่บวบลงในโอ่งถ้าบวบแฉกแสดงว่าน้ำเกลือนั้นอิมตัวสามารถใช้ในการดองได้ก็ให้ใส่บวบลงไป ในโอ่งในปริมาณที่พอดีใช้ไม้ไผ่สานขัดปิดปากตุ่มเพื่อกักบวบไม่ให้ไหลดองทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน ส่วนในปัจจุบันมีการดัดแปลงเล็กน้อย โดยใช้เกลือ 200 กิโลกรัม ละลายน้ำประมาณ 400 ลิตร และทดลองว่าน้ำเกลือนั้นอิมตัวหรือไม่ให้สังเกตจากการลอยหรือจมของบวบแฉก ถ้าบวบแฉกยังจมอยู่ให้เติมเกลือเพิ่มอีกเป็นวิธีที่มีการทำกันในจังหวัดสมุทรสงคราม ส่วนการสังเกตของคนระนองจะใช้ข้าวสุกแทนบวบแฉก เมื่อน้ำเกลืออิมตัวแล้วในบางรายจะมีการเติมน้ำส้ม และน้ำปูนขาวลงไปเพื่อให้ได้บวบที่มีสีสวย ไม่มีกลิ่น ต่อจากนั้นนำน้ำเกลืออิมตัวใส่ในบวบที่เตรียมไว้ในภาชนะ และดองประมาณ 24 ชั่วโมง วิธีการดูว่าบวบดองใช้ได้หรือไม่ให้ลองหักขาบวบดูถ้าเนื้อบวบแข็ง ค้างออกจากขาได้ง่าย รสชาติเค็มเล็กน้อย แสดงว่าบวบเค็ม

สิทธิชัย (2547) กล่าวว่าการผลิตปูเค็มในประเทศเพื่อนบ้าน เช่น พม่าและเวียดนามนั้น มักทำคราวละมาก ๆ เพื่อการจำหน่ายโดยกลุ่มชาวประมง ไปจับปูแสมบริเวณพื้นที่ป่าชายเลนและเกาะต่าง ๆ ไล่ลงในภาชนะสำหรับจับปู เมื่อได้ในปริมาณที่ต้องการแล้ว ใส่น้ำทะเลที่สะอาดให้ท่วมตัวปู เพื่อให้ปูสลบ นำไปจำหน่ายที่แพปู คนงานที่แพทำการคัดเลือกปูแสมตามขนาด แบ่งออกเป็น 2 ขนาด คือ ขนาดใหญ่และขนาดเล็ก ล้างน้ำสะอาด ชั่งน้ำหนักบรรจุในปิ๊บซึ่งมีถุงพลาสติกกรองไว้ ใส่น้ำเกลือเข้มข้นและปิดทับด้วยเกลือ รวบรวมเพื่อให้ได้จำนวนที่ต้องการ จัดส่งมาทางเรือให้กับตัวแทนจำหน่ายตามตลาดสดในประเทศไทย ส่วนการผลิตปูเค็มน้ำปลา การผลิตเช่นเดียวกันกับการผลิตน้ำเกลือเพียงแต่ใส่น้ำปลาแทนหรือน้ำปลาผสมลงไปแทนน้ำปลา ดังแสดงในภาพที่ 5

Maleehual *et al.* (1997) อธิบายเกี่ยวกับการผลิตปูเค็มไว้ว่า เตรียมปูโดยการล้างน้ำ ให้สะอาดและใสในภาชนะ เติมเกลือร้อยละ 15 หมักทิ้งไว้ข้ามคืน ได้เป็นปูเค็ม

Phithakpol *et al.* (1995) แสดงวิธีการผลิตปูเค็มไว้ว่า วิธีการผลิตปูเค็มใช้ปูที่มีชีวิต ทำให้สลบและล้างด้วยน้ำ ไล่ลงในภาชนะ เติมเกลือปิดฝาภาชนะ หมักข้ามคืนและจะได้เป็นปูเค็ม ปูเค็มที่ได้มีอายุการเก็บรักษา 7 วัน สามารถผลิตได้จากปูแสม (*Neopisesarma mederi*) หรือ ปูม้า (*Somaniathelpusa* sp.)

จากการสัมภาษณ์ชุมชนอำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี กล่าวถึงการผลิตปูเค็มไว้ว่า การผลิตในแบบแห้ง คือการนำปูแสมมาทำให้สลบและคลุกเคล้าด้วยเกลือเม็ด หมักเป็นเวลาประมาณ 3-4 วันจะได้เป็นปูเค็ม

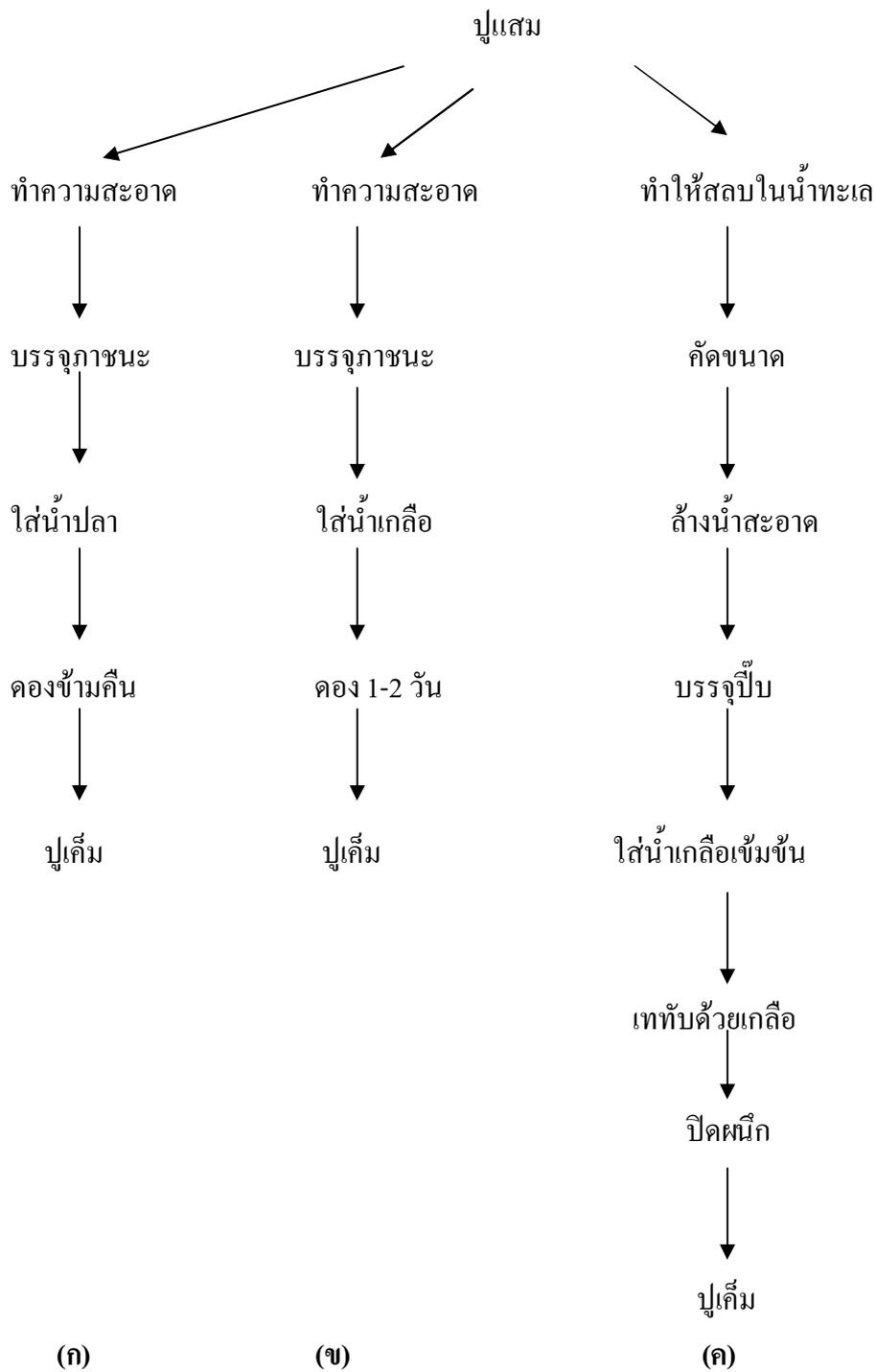
บริษัททีวีบูรพา ผู้ผลิตรายการกบนอกกะลาผ่านสื่อโทรทัศน์ และวีซีดี เรื่องเส้นทางปูเค็ม ในปี 2548 ได้กล่าวถึงการผลิตปูเค็มหรือที่เรียกว่าปูปิ๊บ เริ่มการผลิตปูเค็มโดยการจับปูแสมมา คัดแยกขนาด ล้างทำความสะอาด ไล่ลงในปิ๊บซึ่งมีถุงพลาสติกในปิ๊บ เติมน้ำและเกลือเม็ดลงไปผูกปากถุงและปิดฝาปิ๊บ และนำปูปิ๊บส่งจำหน่ายในจังหวัดต่าง ๆ เช่น กรุงเทพฯ หรือตลาดสดในจังหวัดต่าง ๆ (บริษัททีวีบูรพา, 2548)

#### มาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม

หน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปูเค็ม เพื่อเป็นเกณฑ์กำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในการส่งออกหรือการจำหน่ายภายในประเทศ เป็นการสร้าง

ความมั่นใจและเกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค มี 3 หน่วยงาน ได้แก่ กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ความแตกต่างของค่ากำหนดทางจุลินทรีย์ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3

มาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับการผลิตปุ๋ยมุ่และผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมุ่ได้แก่ มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางจุลชีวะวิทยา (Microbiological reference criteria for fishery products August 2004; Revision II) (กรมประมง, 2549) มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปุ๋ยมุ่ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549) เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีวะวิทยาของอาหาร และภาชนะและผู้สัมผัสอาหาร หัวข้อ 2.2.2 อาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้แก่ แหนม กะปิ ปลา ร้า ปลาจ่อม ส้มฟัก บูด เป็นต้น (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2536) หลักเกณฑ์ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมสำหรับโรงงานผลิตอาหารสัตว์น้ำ มาตรฐานสุขลักษณะการดูแลรักษาสัตว์น้ำหลังการจับและการขนส่ง มาตรฐานสุขลักษณะสถานแปรรูปผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำพื้นเมือง มาตรฐานสุขลักษณะสถานแปรรูปเบื้องต้น มาตรฐานสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง และหลักเกณฑ์การจัดระบบการวิเคราะห์อันตรายควบคุมจุดวิกฤตในโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์ประมง (กรมประมง, 2546)



ภาพที่ 5 แบบการผลิตปุ๋ยม (ก) ปุ๋มน้ำปลา (ข) ปุ๋มน้ำเกลือเพื่อการบริโภคในครัวเรือนของประเทศไทย (ค) ปุ๋มน้ำเกลือเพื่อการจัดจำหน่ายของประเทศเพื่อนบ้าน

ที่มา: สิริรัชช (2547)

ตารางที่ 3 มาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปูเค็มจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

ลำดับที่	หน่วยงาน	จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	จุลินทรีย์ที่สร้างกรด (CFU/g)	Yeast/ Mold (CFU/g)	<i>Bacillus cereus</i> (CFU/g)	<i>Escheri chia coli</i> (MPN/g)	<i>Staphylo aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> sp. /25 กรัม	<i>Vibrio cholerae</i> /25 กรัม	<i>Vibrio parahae molyticus</i> /25 กรัม	<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/g)
1	กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (กรมประมง, 2549) <sup>1</sup>	< 1 x 10 <sup>6</sup>	-	< 200	-	-	< 100	ND	-	-	-
2	สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549) <sup>2</sup>	< 1 x 10 <sup>6</sup>	-	< 500	-	-	< 100	ND	-	< 100	-
3	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2536) <sup>3</sup>	-	-	< 1 x 10 <sup>4</sup> /< 500	< 100	< 10	< 100	ND	-	-	ND

หมายเหตุ: ND คือ ต้องไม่พบเชื้อในปูเค็ม, - ไม่มีการกำหนดไว้, <sup>1</sup> มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางจุลชีววิทยา (Microbiological reference criteria for fishery products August 2004; Revision II), <sup>2</sup> มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปูเค็ม, <sup>3</sup> เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะและผู้สัมผัสอาหาร หัวข้อ 2.2.2 อาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้แก่ แหนม กะปิ ปลา ร้า ปลาจ่อม ส้มผัก บูด เป็นต้น

## จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคอาหารหมัก

Beumer (2001) อ้างถึงชนิดจุลินทรีย์ที่มีบทบาทเป็นอันตรายก่อโรค และจุลินทรีย์ที่สำคัญในอาหารหมัก (ในส่วนที่สอดคล้องกับวิทยานิพนธ์) ไว้ดังนี้

### 1. เชื้อ *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเติบโต แกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ มีรูปร่างแบบแท่ง เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (อาการท้องร่วง) และสร้างสารพิษ การสร้างสปอร์ของแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทุกที่และอาจจะพบได้ในอาหารพวกธัญพืช หรือผลิตภัณฑ์จากธัญพืช เช่น ข้าว แป้ง และเครื่องเทศ มีอาหารอีกบางชนิดที่ยังไม่มีการศึกษาความแตกต่าง จากการศึกษาการทำงานของ *Bacillus cereus* จะเกิดในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น มากูล น้ำข้าวโพดรสเปรี้ยว ถั่วหมัก (Nout *et al.*, 1998) สลัด และไส้กรอกปลา การลดค่าความเป็นกรด-เบสเป็น 4.5 จะสามารถป้องกันการเติบโตของ *Bacillus cereus* (Beumer, 2001)

### 2. เชื้อ *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่ง หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น (สุมณฑา, 2545) แหล่งที่พบแบคทีเรียในกลุ่ม Staphylococci คือ อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหารต่าง ๆ ส่วนใหญ่จะพบตามร่างกายคน เสื้อผ้า บริเวณจมูก ลำคอ ผิวหนัง ตา หู เป็นต้น (ศิวาพร, 2536) เป็นแบคทีเรียมีแกรมบวก สามารถสร้างสารพิษได้ ในการผลิตสารพิษของเชื้อนี้ เกิดได้ในผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่มีโปรตีนเพียงเล็กน้อย (เช่น วิปิ้งครีม ผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลารมควัน) (Beumer, 2001) แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตบนอาหารที่มีเกลือแคงและ/หรือมีน้ำตาลสูง (สุมณฑา, 2543)

อุณหภูมิสูงสุดของการเติบโต คือ 44.4 ถึง 46.6 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร และสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ ความเป็นกรด-เบสต่ำที่สุดของการเติบโตในสภาวะอากาศ มีค่าต่ำกว่าสภาวะที่ไม่มีอากาศ จากการทดลองสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อ *Staphylococcus aureus* ที่อุณหภูมิ 59-60 องศาเซลเซียส จะทำกิจกรรมภายในเซลล์หยุดภายใน 4-24 นาที (Bergdoll, 1989 อ้างโดย มัทนา, 2545) สามารถเจริญได้ในช่วงค่าความเป็นกรด-เบสกว้างตั้งแต่ 4.0-9.8 แต่ที่

เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6-7 (สุมนธา, 2545) ส่วนค่า  $a_w$  เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่ไม่ชอบเค็มอื่น ๆ ปรากฏว่า เชื้อนี้สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่า  $a_w$  ต่ำกว่า และเจริญได้ดีที่สุดที่ 0.86 ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปและนำมาใช้อ้างอิงในการประเมินความเสี่ยง

ปริมาณของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค ได้ทำการสำรวจการแพร่กระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ชนิดที่ให้เอนไซม์โคแอกกูเลส จำนวน 286 ตัวอย่าง พบอัตราการปนเปื้อนร้อยละ 23.4 ปริมาณของเชื้อที่พบอยู่ระหว่าง  $10^2$ - $10^6$  CFU/g (ในกรณีที่เกิดโรคอาหารเป็นพิษพบปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง  $4.00 \times 10^5$ - $4.55 \times 10^5$  CFU/g) (สุมนธา, 2543) ระยะที่แสดงอาการของโรคอาจอยู่ในช่วง 1 ถึง 6 ชั่วโมง แต่ตามปกติอยู่ในช่วง 2 ถึง 3 ชั่วโมง ระยะที่แสดงอาการของโรคนี้แตกต่างจากโรคอาหารเป็นพิษชนิดอื่น ๆ ที่ตามปกติมีระยะแสดงอาการนานกว่า อาการของโรคโดยทั่วไปคือน้ำลายออกมาก ตัวเย็น อ่อนเพลีย หมดสติ และอาจเกิดการหายใจไม่ปกติ ตามปกติอุณหภูมิร่างกายลดลงมากกว่าเดิมอาการไข้ทั่วไป อาจมีอาการอยู่ในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งตามปกติ 1 ถึง 2 วัน และจะเป็นปกติ อัตราการตายต่ำส่วนมากไม่ต้องรักษายกเว้นในกรณีรุนแรงอาจให้น้ำเกลือเพื่อทดแทนน้ำ และเกลือแร่ที่เสียไปเนื่องจากอุจจาระร่วง (โครงการตำราของศูนย์วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย, ม.ป.ป.)

### 3. เชื้อ *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* เป็นแบคทีเรีย แกรมบวก รูปท่อน เจริญได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน สร้างสปอร์ ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร (NACMCF, 1997) เป็นจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในดิน ในทางเดินอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้สร้างสารพิษที่ขับออกมาภายนอกเซลล์ จำแนกออกเป็น 5 ชนิด คือ Type A ถึง Type E สารพิษที่ *Clostridium perfringens* Type A สร้างขึ้นเป็นสารพิษชนิดแอลฟา (ใช้สัญลักษณ์ว่า  $\alpha$ ) เป็นสารพิษที่ทนความร้อน และมีสมบัติของเอนไซม์ฟอสโฟไลเฟสซีที่สามารถย่อยสลายประเภทของลิพิดได้

แบคทีเรียนี้เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 12-50 องศาเซลเซียส แต่ที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส การเติบโตจะช้ามาก ค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6.0-7.5 โดยมีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำสุดประมาณ 5.0 และ  $a_w$  ต่ำสุดอยู่ในช่วง 0.95-0.97 ทั้งนี้ขึ้นกับสารที่ใช้ปรับ  $a_w$  (เช่น ถ้าใช้กลีเซอรอลปรับ  $a_w$  แบคทีเรียเจริญได้ที่  $a_w$  ต่ำกว่าการใช้เกลือแกงหรือน้ำตาลทรายปรับค่าดังกล่าว) ในสภาวะที่มีเกลือแกงร้อยละ 6 ขึ้นไป แบคทีเรียนี้จะไม่เจริญ (สุมนธา, 2545)

การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากแบคทีเรียชนิดนี้ เกิดจากการบริโภคเซลล์ที่มีชีวิตเข้าไปเป็นจำนวนมาก ประมาณ  $10^6$ - $10^8$  CFU/g มีอาการคือ คลื่นไส้ ท้องเสียและถ่ายท้อง ส่วนมากไม่อาเจียน อาการเกิดขึ้นประมาณ 8-24 ชั่วโมงหลังบริโภคอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียนี้ปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก แต่อาการป่วยไม่รุนแรงถึงชีวิต ยกเว้นผู้สูงอายุหรือผู้ที่อ่อนแอ อาจจำเป็นต้องให้การรักษาบ้าง (สุมณฑา, 2545)

#### 4. เชื้อ *Salmonella*

เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถอยู่ได้ในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แกรมลบ มีรูปร่างแท่งสั้น จะทำงานได้ดีในการหมักกลูโคส แหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อ *Salmonella* อยู่ในเครื่องในหรือทางเดินอาหารของคนและสัตว์ โดยพบได้บ่อยในอาหารพวกเนื้อ (เนื้อไก่) เชื้อนี้จะแพร่ได้ง่ายกับน้ำ อาหาร และสิ่งแวดล้อม สาเหตุที่เชื้อนี้อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์จึงออกจากร่างกายของคนและสัตว์ทางอุจจาระ และปนเปื้อนกลับเข้ามาอีกทางสิ่งแวดล้อม ในอาหารหมักจะได้รับเชื้อนี้จากในวัตถุดิบ เช่น ไข่กรอกและเนยแข็ง (Beumer, 2001) ดังนั้นการผลิตอาหารจึงต้องผลิตตามกรรมวิธีผลิตที่ดีและจะต้องมีการดูแลสภาพอนามัยของบุคลากรด้วย (สุมณฑา, 2543) ด้วยเหตุนี้การล้างมือและฆ่าเชื้อโรคก่อนปฏิบัติงานที่ต้องมีการสัมผัสกับอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อลดโอกาสการแพร่เชื้อ

เชื้อ *Salmonella* เจริญในช่วงความเป็นกรด-เบสเป็นกลางระหว่าง 4.0-9.0 ค่าความเป็นกรด-เบสต่ำสุดที่เชื้อนี้เจริญได้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดที่ใช้ปรับ เช่น ความเป็นกรด-เบสต่ำสุดอยู่ที่ 4.05 ถ้าใช้กรดเกลือและกรดซิตริกปรับ แต่ถ้าใช้กรดน้ำส้มและกรดแล็กติกปรับความเป็นกรด-เบสต่ำสุดจะอยู่ที่ 5.5 (Chung and Goepfert, 1970)

อาการของโรคผู้ที่ได้รับเชื้อโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella* ตามปกติจะแสดงอาการป่วยภายหลังจากได้รับเชื้อ 6-48 ชั่วโมง โดยเกิดความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร คือ ผู้ป่วยมีอาการท้องเสีย ปวดท้อง และบ่อยครั้งที่มีอาการคลื่นไส้และอาเจียนในวันแรกที่ป่วย จากนั้นจะมีไข้เล็กน้อย และบางทีอาจเป็นอยู่หลายวัน (Beumer, 2001)

## 5. เชื้อ *Escherichia coli*

*Escherichia coli* อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นดัชนีชี้ให้เห็นว่าอาหารนั้นอาจมีการปนเปื้อนจากอุจจาระ เป็นการแสดงให้เห็นว่าโรงงานมีการสุขาภิบาลไม่ดีหรือไม่ถูกต้อง

แบคทีเรียชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม Coliforms เซลล์มีลักษณะเป็นท่อนสั้น แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ พบอยู่เฉพาะในลำไส้ของคน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของอุจจาระ จึงจัดอยู่ในกลุ่ม Fecal coliform คุณสมบัติพิเศษและแตกต่างจาก โคลิฟอร์มแบคทีเรียแหล่งอื่น คือ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 44.5-45.5 องศาเซลเซียส (ศิวาพร, 2536)

*Escherichia coli* ชนิดที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียในคนเป็น Enteropathogenic *Escherichia coli* โรคที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของ Enteropathogenic *Escherichia coli* สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ กลุ่มแรกประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ผลิตสารพิษในบริเวณลำไส้เล็กตอนบน จะทำให้เกิดอาการท้องเสียคล้ายอหิวาตกโรค ปริมาณเชื้อที่บริโภคเข้าไปแล้วทำให้เกิดโรค จะอยู่ในช่วง  $10^7$  ถึง  $10^8$  เซลล์ต่อกรัมของอาหาร ส่วนกลุ่มที่สองจะประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการคล้ายโรคบิดโดยไม่มีการสร้างสารพิษ เชื้อจะเจริญในลำไส้ใหญ่และแทรกตัวไปที่เยื่อบุผนังลำไส้ ปริมาณเชื้อที่บริโภคเข้าไปแล้วทำให้เกิดโรค จะอยู่ในช่วง  $10^6$  ถึง  $10^7$  เซลล์ต่อกรัมของอาหาร มีระยะฟักตัวประมาณ 6-36 ชั่วโมง ซึ่งเชื้อในกลุ่มที่สอง จะมีระยะฟักตัวยาวกว่ากลุ่มแรก (Dupont *et al.*, 1971) อาการส่วนใหญ่คือ ท้องเดินในระดับปานกลางจนถึงรุนแรง อาจมีการสูญเสียน้ำและหมดสติร่วมด้วย ผู้ป่วยตามปกติจะไม่มีไข้ อาการท้องร่วงจะหยุดภายในเวลา 30 ชั่วโมง แต่ในกรณีที่รุนแรง การเสียน้ำ อ่อนเพลีย และหัวใจทำงานผิดปกติหรือหยุดทำงานอาจเกิดขึ้นได้ อาการของโรคคล้ายกับอาการของผู้ป่วยจากเชื้ออหิวาต์ แต่อาจจะไม่รุนแรงเท่ากับเชื้ออหิวาต์และระยะเวลาป่วยก็สั้นกว่า (สุมนทนา, 2543)

## 6. เชื้อ *Vibrio* spp.

ไวรัสชนิดต่างๆ เป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ตามความเหมาะสมของแต่ละชนิดใน family Vibrionaceae และปกติจะพบในสภาวะแวดล้อมที่สัตว์น้ำอาศัย

*V. cholerae* เป็นแบคทีเรียก่อโรครอหิวตศุคโรคมียผลต่อกระเพาะและลำไส้อักเสบ การเกิดโรคมียขึ้นมายุั้งแต่อดีตจนถึงบัดนี้ที่ทالميการป่วยกันทั่วโลก ปกติจะพบเชื่อนี้ในแหล่งน้ำและสัตว์น้ำตามชายฝั่งทะเล สัตว์น้ำที่มีเปลือกหุ้มและสัตว์น้ำอื่น ๆ ทالميส่งผลต่อการปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ปลาหมักการล้างหรือการล้างผ่านน้ำไหลอาจช่วยลดการปนเปื้อนที่ทالميเป็นสาเหตุของโรคนในฝัก การเก็บรักษาแบบแช่เย็นหรือแช่แข็งของอาหารที่มียการปนเปื้อนจะไมเป็นที่ยอมรับทางด้านความปลอดภัย เพราะเชื่อนี้สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ (Corrales *et al.*, 1994)

*V. parahaemolyticus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่ขอบเกลือ โดยปกติจะพบในสัตว์น้ำที่ใกล้ชายฝั่งทะเลเขตนน้ำอุ่น และพบมากในปลาและสัตว์น้ำที่มีเปลือกหุ้ม

เชื่อไวรัสโอ ส่วนใหญ่เป็นพวกไมทนต่อกรด ในผลิตภัณฑ์ปลาหมักมีจุลินทรีย์สร้างกรด (Lactic acid bacteria: LAB) ที่ยับยั้งการเติบโตได้ทั้งในเชื่อ *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* แสดงให้เห็นว่า กิจกรรมนี้ต่อต้านการเติบโตของจุลินทรีย์ดังกล่าว ซึ่งจะเป็ประโยชน์ที่สำคัญในการยอมรับทางด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Ostergaard *et al.*, 1998)

## 7. เชื่อแบคทีเรียกลุ่ม Halophilic

Baross and Lenovich (1992) ได้อธิบายไว้ดังนี้ การเติบโตของจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่างกัน มีบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญในลักษณะที่มีแรงดันของสารละลายที่ซึมผ่านสูงจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นน้ำเกลือและความเข้มข้นของน้ำตาล (เพื่อลดค่า  $a_w$ ) อย่างไรก็ตาม สาเหตุของการเติบโตของจุลินทรีย์เนื่องจากความต้องการความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมจึงเรียกจุลินทรีย์พวกนี้ว่า Halophiles ความต้องการเกลือในระดับต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ Halophiles จะสามารถแยกเป็นกลุ่ม ได้แก

- Slight halophiles เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือร้อยละ 0.5–3
- Moderate halophiles เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือร้อยละ 3–15
- Extreme halophiles เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือร้อยละ 15–30

Food and Agriculture Organization (1992) กล่าวว่ากลุ่มแบคทีเรีย Halophiles เจริญได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงกว่าร้อยละ 17 มีค่า  $a_w$  ระหว่าง 0.85–0.60 ในผลิตภัณฑ์ปลา

เต็ม และในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหมักคงจะเกิดการเสื่อมเสียจากแบคทีเรีย Halophilic สีสชมพูถึงแดง ในระดับ Extreme halophiles ที่อุณหภูมิ 15–55 องศาเซลเซียส

มัทนา (2525) กล่าวว่าจำนวนแบคทีเรียที่แยกเชื้อได้จากเกลือเม็ดพบว่ามีจำนวนมากกว่าในเกลือป่นและตรวจพบพวก Slightly halophilic bacteria มากกว่าเกลือป่น ตรวจไม่พบแบคทีเรียพวก Moderately halophiles ในทั้งเกลือป่นและเกลือเม็ด

เชื้อทั้งหมดได้ถูกเสนอการควบคุมและแสดงการเติบโตที่สัมพันธ์กับค่าร้อยละของเกลือและค่าอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องได้ดังตารางที่ 4 (ดัดแปลงจาก Snyder, 1995; Beumer, 2001) ส่วนปริมาณของจุลินทรีย์ที่สามารถทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์ได้นั้นนำเสนอดังตารางที่ 5 (ดัดแปลงจาก Snyder, 1995)

ตารางที่ 4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

ชนิดของจุลินทรีย์	ช่วงอุณหภูมิในการเติบโต	ช่วงความเป็นกรด-เบส (pH) และ ค่า $a_w$ ต่ำสุดในการเติบโต	ร้อยละของเกลือ (NaCl) สูงสุดในการเติบโต
1. <i>Yersinia enterocolitica</i>	32–111 องศาฟาเรนไฮต์ (0–44 องศาเซลเซียส)	pH 4.6–9.0	> ร้อยละ 5- < ร้อยละ 7
2. <i>Listeria monocytogenes</i>	32–112 องศาฟาเรนไฮต์ (0–44 องศาเซลเซียส)	pH 4.5–9.5 $a_w$ 0.93	
3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	41–109 องศาฟาเรนไฮต์ (5–43 องศาเซลเซียส)	pH 4.5–11.0 $a_w$ 0.937	ร้อยละ 10
4. <i>Vibrio cholerae</i>	อุณหภูมิต่ำสุดในการเติบโต (10 องศาเซลเซียส)	pH 5.0 $a_w$ 0.97	ร้อยละ 4
5. <i>Salmonella</i> spp.	41.5–114 องศาฟาเรนไฮต์ (5.5–45.6 องศาเซลเซียส)	pH 4.1–9.0 $a_w$ 0.95	ร้อยละ 3.78–5.18
6. <i>Campylobacter jejuni</i>	90–113 องศาฟาเรนไฮต์ (32.2–45 องศาเซลเซียส)	pH 4.9–8.0	ร้อยละ 1.5
7. <i>Clostridium botulinum</i> , (Type E และ nonproteolytic)	38–113 องศาฟาเรนไฮต์ (3.3–45 องศาเซลเซียส)	pH 5.0–9.0 $a_w$ 0.97	ร้อยละ 5
8. <i>Staphylococcus aureus</i>	43.8–122 องศาฟาเรนไฮต์ (6.5–50 องศาเซลเซียส)	pH 4.5–9.3 $a_w$ 0.83	ร้อยละ 4
9. <i>Bacillus cereus</i>	39.2–122 องศาฟาเรนไฮต์ (4.0–50 องศาเซลเซียส)	pH 4.3–9.0 $a_w$ 0.912	ร้อยละ 1.5
10. <i>Clostridium botulinum</i> , (Type A และ Proteolytic B)	50–118 องศาฟาเรนไฮต์ (10–47.8 องศาเซลเซียส)	pH 4.6–9.0 $a_w$ 0.94	ร้อยละ 10
11. <i>Clostridium perfringens</i>	59–127.5 องศาฟาเรนไฮต์ (15–52.3 องศาเซลเซียส)	pH 5.0–9.0 $a_w$ 0.95	
12. <i>Escherichia coli</i>	อุณหภูมิต่ำสุดในการเติบโต (7–8 องศาเซลเซียส)	pH 4.4 $a_w$ 0.95	ร้อยละ 3.78–5.18

ที่มา: ดัดแปลงจาก Snyder (1995) และ Beumer (2001)

ตารางที่ 5 อัตราจากปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่ก่อให้เกิดโรค

ชนิดของจุลินทรีย์	ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้บุคคลที่มีสุขภาพแข็งแรงเจ็บป่วย (Number of microorganisms)	มาตรฐานคุณภาพของจุลินทรีย์ในอาหาร* (Number of microorganisms)
<i>Bacillus cereus</i>	3.4 x 10 <sup>4</sup> ถึง 9.5 x 10 <sup>8</sup> /g	< 10 <sup>2</sup> /g
<i>Clostridium botulinum</i>	3 x 10 <sup>3</sup>	< 1 /g
<i>Clostridium perfringens</i>	10 <sup>6</sup> ถึง 10 <sup>7</sup> /g	< 10 <sup>2</sup> /g
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>6</sup> ถึง > 10 <sup>7</sup> (dose)	< 10/g
<i>Escherichia coli</i> 0157: H7	10 organisms	< 1 /g
<i>Campylobacter jejuni</i>	5 x 10 <sup>2</sup> / 180 ml ในนม	< 1 /g
<i>Salmonella</i> spp.		
<i>S. anatum</i>	10 <sup>5</sup> ถึง > 10 <sup>8</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. bareilly</i>	10 <sup>5</sup> ถึง > 10 <sup>6</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. derby</i>	10 <sup>7</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. meleagridis</i>	10 <sup>7</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. newport</i>	10 <sup>5</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. pullorum</i>	10 <sup>9</sup> ถึง > 10 <sup>10</sup> (dose)	< 10/g
<i>S. typhi</i>	10 <sup>4</sup> ถึง > 10 <sup>8</sup> (dose)	< 10/g
<i>Shigella</i> spp.		
<i>S. flexneri</i>	10 <sup>2</sup> ถึง > 10 <sup>9</sup> (dose)	< 1 /g
<i>S. dysenteriae</i>	10 ถึง > 10 <sup>4</sup> (dose)	< 1 /g
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>5</sup> ถึง > 10 <sup>6</sup> /g	< 10 <sup>2</sup> /g
<i>Vibrio cholerae</i>	10 <sup>3</sup> (dose)	< 1 /g
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10 <sup>6</sup> ถึง > 10 <sup>9</sup> (dose)	< 10/g
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3.9 x 10 <sup>7</sup> (dose)	< 10 <sup>2</sup> /g
<i>Listeria monocytogenes</i>	probably > 1000	< 10/g

หมายเหตุ: \* เสนอโดย Hospitality Institute of Technology and Management (HITM) St. Paul, Minnesota, USA

ที่มา: คัดแปลงจาก Snyder (1995)

## ลักษณะทางจุลินทรีย์และเคมีในปูเค็ม

ลีทริชชั (2547) รายงานการปนเปื้อนของ *Salmonella typhimurium* และปริมาณ จุลินทรีย์สร้างกรดในช่วง  $10^3$ – $10^7$  CFU/g

อรุณ และคณะ. (2547) ตรวจสอบจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคในกลุ่ม *Salmonella* sp. พบจำนวน 4 ตัวอย่างและเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* พบจำนวน 6 ตัวอย่าง ไม่พบ (ค่าการรายงานเป็น 0) *Shigella* sp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* O157:H7 ในปูเค็มจากตลาดในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรีจากทั้งหมด 100 ตัวอย่าง และค่าร้อยละของเกลือมีค่าเฉลี่ยและช่วงเท่ากับ 15.23 และ 1.37-17.52 ตามลำดับ และความชื้นกรด-เบสมีค่าเฉลี่ยและช่วงเท่ากับ 7.44 และ 6.87-8.36 ตามลำดับ

Maleehual *et al.* (1997) มีรายงานการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ในปูเค็มทั้งหมด 108 ตัวอย่างจากตัวอย่างทุกภาคของประเทศไทย ในช่วงเท่ากับ  $1.2 \times 10^2$ – $4.4 \times 10^2$  CFU/g (maximum values), (+1)-(+9), none– $3.8 \times 10^2$  CFU/g (maximum values) และ (+4)-(+35) ตามลำดับ

Phithakpol *et al.* (1995) รายงานจากการวิเคราะห์คุณภาพของปูเค็มโดยทั่วไป พบว่ามีความชื้น โปรตีนและไขมันอยู่ระหว่าง 31.2-70.5, 2.5-13.3 และ 0-1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารเยื่อใย ใย โขเดียมคลอไรด์ และกรดแล็กติกอยู่ระหว่าง 0-7.9, 15.7-26.2, 7.8-17.3 และ 0-1.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-เบสอยู่ระหว่าง 7.2-7.8 และค่าออกเตอร์แอกติวิตี ประมาณ 0.76

## ระบบ HACCP

ระบบ HACCP มีขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1960 โดย The Pillsbury Co., the U.S. Army Natick Research and Development Laboratories and Space Administration ซึ่งได้นำระบบ HACCP มาใช้ในโครงการความร่วมมือพัฒนาด้านอาหารสำหรับนักบินอวกาศ เนื่องจากเห็นว่ากฎเกณฑ์ที่บังคับให้อาหารต้องไม่มีเชื้อโรคที่เป็นอันตรายนั้นไม่อาจทำได้ด้วยการทดสอบจากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

ขั้นสุดท้ายเพียงอย่างเดียว จึงมีความจำเป็นที่จะต้องออกแบบวิธีการผลิตที่สามารถจัดอันตรายที่มีอยู่นั้นออกไปในระหว่างการผลิต และในปี 1974 ได้ตกลงให้มีการใช้หลัก HACCP ในพระราชบัญญัติเกี่ยวกับกฎระเบียบของอาหารที่มีความเป็นกรด-เบสต่ำ และหลังจากนั้น National Marine Fisheries Service ได้นำหลักการ HACCP ไปประยุกต์ใช้กับงานด้วยความสมัครใจ ขณะเดียวกัน U.S. Department of Agriculture ก็ได้เริ่มใช้ HACCP กับหน่วยงานตนเองด้วย เช่นเดียวกันต่อจากนั้น HACCP ก็ได้รับการยอมรับมากขึ้นตามลำดับ และอุตสาหกรรมอาหารก็ให้ความสนใจในระบบนี้ด้วย

การออกแบบในการใช้ระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) ในอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญในการนำมาใช้ เพื่อพิสูจน์ข้อกำหนดในการรับรองเกี่ยวกับแต่ละขั้นตอนในกระบวนการผลิตทั้งสายการผลิต (ICMSF, 1988)

หลักการของระบบ HACCP มี 7 ประการมีดังนี้ (Eleftherios and Siana, 2007)

หลักการที่ 1 การวิเคราะห์อันตราย (Hazard Analysis)

หลักการที่ 2 ระบุจุดควบคุมวิกฤต (Determination of Critical control point: CCP)

หลักการที่ 3 กำหนดค่าวิกฤต หรือขอบเขตการควบคุม (Establishment of Critical Limits)

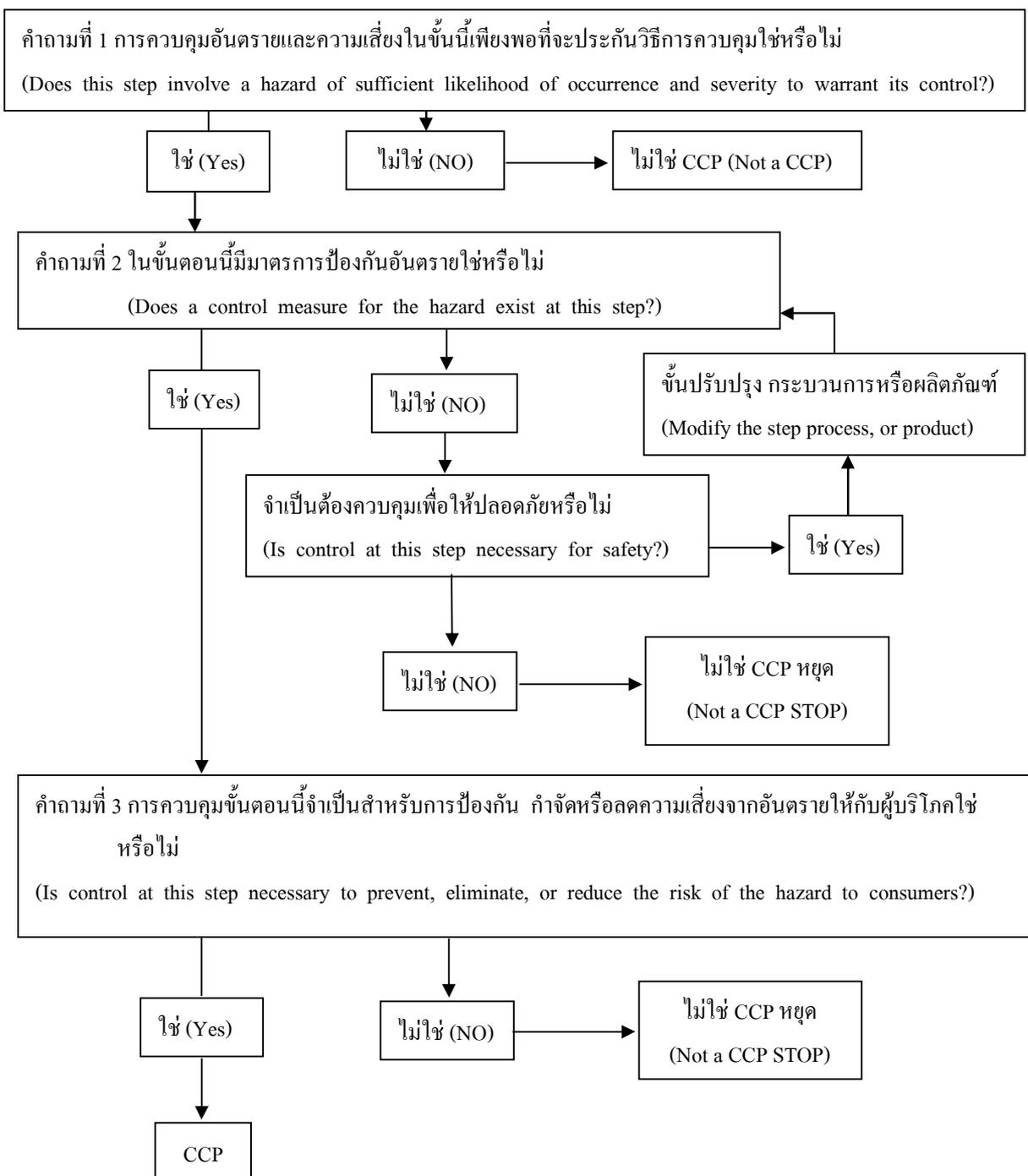
หลักการที่ 4 กำหนดการตรวจติดตาม (Establishment of monitoring procedures)

หลักการที่ 5 กำหนดวิธีการแก้ไขเพื่อให้เกิดความถูกต้อง (Establishment of corrective action)

หลักการที่ 6 กำหนดข้อมูลและจัดเก็บเอกสารของกระบวนการผลิต (Establishment of record keeping and documentation procedures)

หลักการที่ 7 กำหนดการทวนสอบกระบวนการผลิต (Establishment of verification procedures)

การใช้แผนผังการตัดสินใจ (Decision tree) ในภาพที่ 6 ใช้เพื่อวิเคราะห์จุดควบคุมวิกฤต ผู้ปฏิบัติจะต้องตอบคำถามเรียงลำดับโดยไล่ตามคำตอบไปในทิศทางที่ถูกสรุขึ้น ซึ่งจะช่วยให้ตัดสินใจได้ว่า ขั้นตอนใดบ้างในกระบวนการผลิตที่จัดเป็นจุดควบคุมวิกฤต (NACMCF, 1998; สุมณฑา, 2543)



ภาพที่ 6 ฟังการตัดสินใจ Decision tree

ที่มา: ดัดแปลงจากNACMCF (1998) และ สุขุมณา (2543)

## แนวทางการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP

การประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ในผลิตภัณฑ์ประมงมีหลายชนิดโดยส่วนใหญ่มีการนำระบบมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก ตัวอย่างการศึกษาการนำระบบ HACCP มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ประมง ได้แก่ ปลาและผลิตภัณฑ์จากปลา (Huss *et al.*, 2000), ปลาพอร์แลคแล่ชุบเกร็ดขนมปังแช่แข็ง (Chen and chang, 2004) กุ้งดิบ กุ้งแห้ง กุ้งชุบเกร็ดขนมปังทอด กุ้งกระป๋อง (Kanduri and Eckhardt, 2002) กุ้งแช่แข็ง (Hatha *et al.*, 1998, 2003; Higuera-Ciapara *et al.*, 1996) กุ้งต้ม (Hatha *et al.*, 1998; 2003) ซูริมิจากสัตว์น้ำ (Himelbloom *et al.*, 2000) และปูนึ่งแช่แข็ง (Lawlor *et al.*, 1997) ผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีการประยุกต์ใช้ระบบที่คล้ายกันซึ่งเป็นไปตามหลักการของ FAO/WHO (Codex) (1996) โดยเริ่มต้นจากการสร้างโปรแกรมเบื้องต้น (prerequisite) เป็นการนำหลักการ Good Manufacturing Practice (GMP), Good Hygienic Practice (GHP) (Huss *et al.*, 2000), Standard sanitation operation procedure (SSOP) (Lawlor *et al.*, 1997) แล้วออกแบบระบบ HACCP

สมณฑา (2545) อ้างว่าการปฏิบัติการในการออกแบบระบบ HACCP แบ่งเป็น 2 ส่วน

ส่วนแรกเป็นการเตรียมความพร้อมมีการปฏิบัติทั้งหมด 5 ขั้นตอนตามการรายงาน ดังนี้

1. จัดตั้งทีมงานที่รับผิดชอบ
2. อธิบายรายละเอียดของผลิตภัณฑ์
3. สร้างแผนภูมิกระบวนการผลิตจนกระทั่งผู้บริโภค
4. พัฒนาแผนภูมิการผลิต
5. ยืนยันความถูกต้องของแผนภูมิการผลิตให้ตรงกับการปฏิบัติจริง

ส่วนที่สองเป็นการสร้างระบบ HACCP มี 7 ขั้นตอน คือ

1. การวิเคราะห์อันตราย
2. ป่งชี้จุดวิกฤตควบคุม (CCP)
3. สร้างขอบเขตของแต่ละจุดวิกฤต
4. ทำการเฝ้าระวังในกระบวนการผลิต
5. วิธีการแก้ไข

6. จัดเก็บเอกสาร

7. การทวนสอบกระบวนการผลิต

ในประเทศไทย Suwanrangsri (2000) ได้อธิบายเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ไว้ว่า ระดับอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ประมงของไทยได้มีการใช้ระบบ HACCP เป็นข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกเริ่มต้นเมื่อปี ค.ศ. 1991 ถึง 1998 เป็นจำนวนทั้งหมด 141 โรงงาน โดยมีกรมประมงซึ่งเป็นหน่วยงานของรัฐในการควบคุม มีการดำเนินการดังนี้ เริ่มจากการให้โรงงานผลิตภัณฑ์ประมงจัดมาตรฐานเบื้องต้นก่อน ได้แก่ หลักการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practices: GMP) หลักสุขลักษณะในการผลิต ซึ่งจะเป็น โปรแกรมพื้นฐานสู่การเข้าระบบ HACCP แล้วเริ่มนำ HACCP เข้าไปใช้งาน โดยมีกรมประมงเป็นผู้ตรวจสอบระบบ HACCP และออกหนังสือรับรอง

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

### 1. วัสดุดิบ

- 1.1 ตัวอย่างปุ๋ยคอก จากตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ
- 1.2 ตัวอย่างปุ๋ยผสมสด จากตลาดสดบางกะปิ เขตบึงกุ่ม กรุงเทพฯ
- 1.3 ตัวอย่างปุ๋ยผสมที่มีชีวิต ป่าชายเลน ตำบลบางหญ้าแพรก อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร

### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด
- 2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Salmonella*
- 2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Clostridium perfringens*
- 2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus*
- 2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Escherichia coli*
- 2.6 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ Yeast and Mold
- 2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Vibrio cholerae*
- 2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Vibrio parahaemolyticus*
- 2.9 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Bacillus cereus*
- 2.10 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรด
- 2.11 อาหารเลี้ยงเชื้อกลุ่ม Halotrophic bacteria
- 2.12 สารละลาย Silver nitrate
- 2.13 สารละลาย Ammonium thiocyanate
- 2.14 สารละลาย Nitric acid กับน้ำกลั่น อัตราส่วน 1:1
- 2.15 สารละลาย Ferric indicator
- 2.16 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
- 2.17 สารละลายฟีนอล์ฟธาไลน์
- 2.18 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ร้อยละ 4

- 2.19 สารละลายผสมอินดิเคเตอร์: สารละลายบรอมครีซอลกรีนและสารละลายเมทิวเรด
- 2.20 สารละลายกรดบอริก ร้อยละ 1
- 2.21 สารละลายอิมัลชันโพแทสเซียมคาร์บอเนต
- 2.22 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 นอร์มัล

### 3. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1 เครื่องแก้วที่จำเป็นในการทดลอง เช่น หลอดทดลอง จานเพาะเชื้อ ปิเปตต์
- 3.2 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (Seward รุ่น BA 7021)
- 3.3 เครื่องผสมอาหารในหลอดทดลอง (Vortex genie 2 รุ่น G 560 E)
- 3.4 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP 3100 S)
- 3.5 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น 2462)
- 3.6 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (Metrohm รุ่น 744)
- 3.7 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Sibata รุ่น SAO-600)
- 3.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อระบบความดัน (Hirayama รุ่น 240/300 MIV)
- 3.9 ตู้บ่มเชื้อ (Memmert รุ่น Model 600)
- 3.10 เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Suntex รุ่น 560)
- 3.11 เครื่องวัดค่า  $a_w$  (Novaina รุ่น TH 200)
- 3.12 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, UV-1700 CE)
- 3.13 กล้องจุลทรรศน์ (Olympus รุ่น CH-2)
- 3.14 เครื่องปั่นตัวอย่างสแตนเลส
- 3.15 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert WB 14)
- 3.16 ชุด Conway's unit

## วิธีการ

### 1. ศึกษาธรรมชาติของปัญหาด้านความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีบริเวณกรุงเทพฯ

1.1 การศึกษาความคิดเห็นและพฤติกรรมของผู้บริโภคต่อความปลอดภัยในการบริโภคปุ๋ยเคมี

1.1.1 กำหนดพื้นที่ในการสำรวจ ได้แก่ ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัล สาขาลาดพร้าว ห้างสรรพสินค้าเดอะมอลล์ สาขาบางกะปิ ห้างสรรพสินค้าเมเจอร์ สาขารัชโยธิน ห้างสรรพสินค้าบิ๊กซี สาขาลาดพร้าว จำนวน 4 แห่ง ในเขตกรุงเทพฯ

1.1.2 กำหนดให้แต่ละแห่งสำรวจจำนวน 25 คน รวมเป็นจำนวน 100 คน โดยสุ่มจากคนเข้าในห้างสรรพสินค้า ภายในหนึ่งชั่วโมงละ 10 คน จนกระทั่งครบ 25 คน

1.1.3 ทำการสำรวจข้อมูลและพฤติกรรมของผู้บริโภคปุ๋ยเคมีตามพื้นที่ที่กำหนด โดยใช้แบบสอบถามตามภาคผนวก ก1 จำนวน 100 คน

1.2 การศึกษาอันตรายของปุ๋ยเคมีทางด้านจุลชีววิทยาและลักษณะทางเคมีที่วางจำหน่ายบริเวณตลาดสดกรุงเทพฯ

1.2.1 วิเคราะห์อันตรายทางจุลชีววิทยาของปุ๋ยเคมีที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุงเทพฯ

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุงเทพฯ ทั้งหมด 23 แห่ง จำนวน 50 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนมิถุนายน 2550 ถึงมกราคม 2551 โดยนำตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก โพลีเอทิลีนแยกแต่ละร้านผูกถุงเรียบร้อยและใส่ถังโฟมที่มีเจลเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิ และนำมาตรวจสอบทางจุลชีววิทยา ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างปุ๋ยเคมีมาตรวจสอบทางจุลชีววิทยา ดังนี้

### การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

- วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Total viable count (TVC) โดยวิธี AOAC official method 988.18 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ Yeast และ Mold โดยวิธี AOAC official method 995.21 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี AOAC official method 987.09 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* โดยวิธี AOAC official method 967.25 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Vibrio cholerae* โดยวิธี AOAC official method 988.20 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* โดยวิธี AOAC official method 988.20 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Clostridium perfringens* โดยวิธี AOAC official method 976.30 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Escherichia coli* โดยวิธี AOAC official method 992.30 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณ *Bacillus cereus* โดยวิธี AOAC official method 980.31 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่สร้างกรด
- การนับค่าโคโลนีรายงานผลตามวิธีของ Swanson *et al.* (1992)

#### 1.2.2 วิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของปุ๋ยมูลที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุงเทพฯ

นำตัวอย่างปุ๋ยมูลที่สุ่มเก็บมาตามข้อ 2.1 ทำการบดให้ละเอียด และนำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี ดังนี้

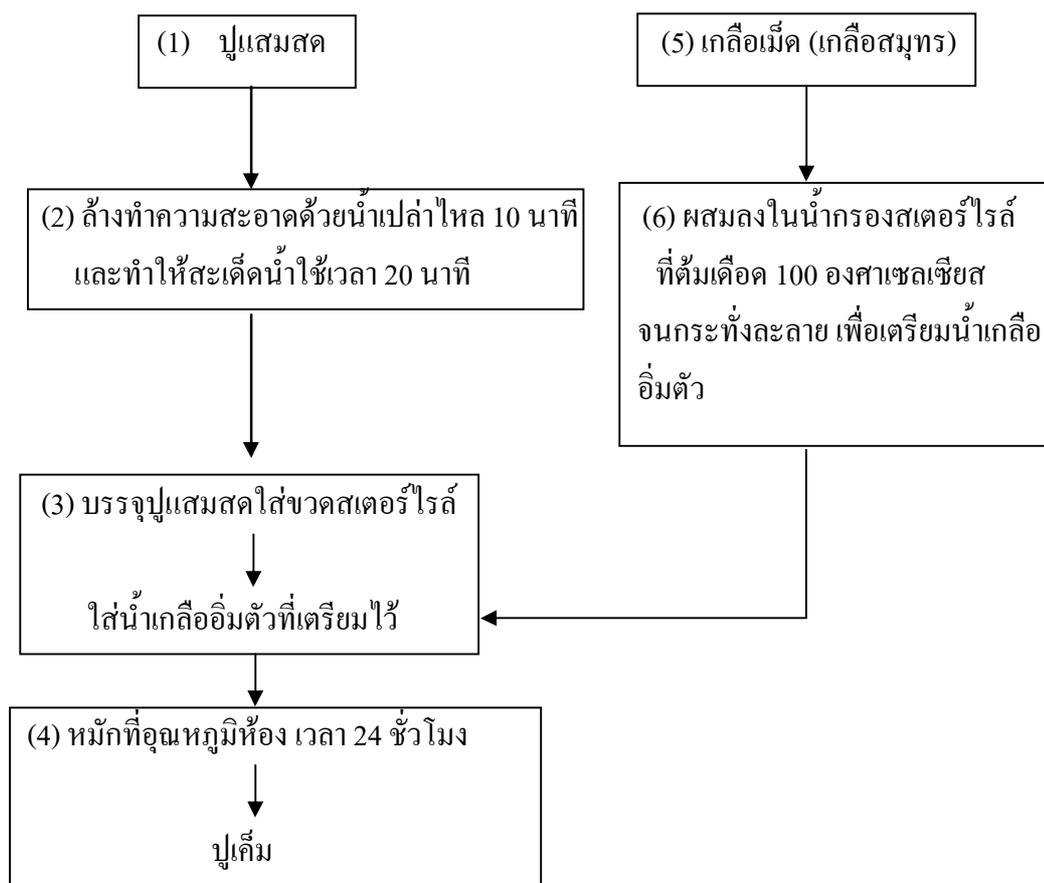
- วิเคราะห์ปริมาณเกลือ โดยวิธี AOAC official method 937.09 (2000)
- วิเคราะห์ค่า  $a_w$  ด้วยเครื่องวัด  $a_w$  (Novaina รุ่น TH200)
- วิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส โดยวิธี AOAC official method 981.12 (2000)
- วิเคราะห์ปริมาณกรด โดยวิธี AOAC official method 937.05 (2000)

## 2. ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point System: HACCP) ในปูเค็ม

### 2.1 การวิเคราะห์อันตรายและกำหนดจุดวิกฤตในกระบวนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ

#### 2.1.1 การศึกษาอันตรายในผลิตภัณฑ์ปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ

เตรียมตัวอย่าง 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ปูแสมสด ปูเค็ม และปูแสมที่เน่าเสีย โดยมีขั้นตอนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการดังภาพที่ 7 สูตรการผลิตปูเค็มมีดังนี้ ปูแสมสดร้อยละ 30.61 ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) ใส่สารละลายเกลือสมุทรร้อยละ 27.15 ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) และน้ำสเตอร์ไรล์ร้อยละ 42.24 ขององค์ประกอบทั้งหมด (v/v) สุ่มตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาตามข้อ 1.2.1 และคุณสมบัติทางเคมีตามข้อ 1.2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยทางจุลินทรีย์ที่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการผลิตปูเค็ม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ



ภาพที่ 7 ขั้นตอนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ

## 2.1.2 การศึกษาคุณภาพของปูแสมสดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปูเค็ม

นำปูแสมที่มีชีวิตจากป่าชายเลน ตำบลบางหญ้าแพรก อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร (ช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงมิถุนายน 2551) และนำมาทำให้สลบโดยการอัดน้ำแข็ง ล้างทำความสะอาด ให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 15 นาที และบรรจุใส่ถุงปิดผลึก (zip lock) ขนาด 10 x 7 เซนติเมตร ทำการเก็บรักษาเป็น 2 วิธี คือ

2.1.2.1 การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 18, 24 และ 30 ของการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้อง

2.1.2.2 การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากเก็บรักษาอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสในน้ำแข็ง (น้ำแข็ง 3 กิโลกรัม/ปูแสม 1 กิโลกรัม) เปลี่ยนน้ำแข็งทุกวัน สุ่มตัวอย่างทุกวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

นำตัวอย่างจากการสุ่มทั้งหมดวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-เบส (AOAC official method 981.12, 2000) ค่า  $a_w$  และปริมาณต่างที่ระเหยได้ทั้งหมด Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N (Siang and Kim, 1992) วิเคราะห์ลักษณะทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (AOAC official method 988.18, 2000) และ จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Cousin *et al.*, 1992) และวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสใช้การทดสอบแบบ Quality Index Method (QIM) ซึ่งใช้ผู้ทดสอบอย่างน้อย 4 คนต่อการทดสอบหนึ่งครั้ง โดยประเมินคุณภาพของปูแสมทั้งตัวทั้งหมด 8 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ ตา ขา และก้าม จับปิ้ง (ด้านหลัง) เนื้อและกลิ่นของเนื้อ การยึดติดของกระดองและร่างกายส่วนใต้กระดอง และการยึดติดของกล้ามเนื้อบริเวณขาและกระดอง ทำการศึกษาข้อ 2.1.2 ซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

2.1.3 การศึกษาอันตรายจากวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ตลอดขั้นตอนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ

เตรียมตัวอย่างจากขั้นตอนการผลิตปูเค็ม โดยนำปูแสมสดจากตลาดบางกะปิ กรุงเทพฯ (เดือนมกราคม 2551) ใส่ถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนลงในกล่องโฟมซึ่งมีน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง ทำการแปรรูปโดยใช้หลักการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practice: GMP) ในห้องปฏิบัติการภาคิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใน

24 ชั่วโมง มีสูตรการผลิตตามข้อ 2.1.1 สุ่มตัวอย่างตลอดขั้นตอนการผลิต ได้แก่ ปูแสมสด เปลือกเม็ดเกลือเม็ดผสมน้ำสเตอร์ไรล์ (น้ำเกลืออิมัตัว) ปูแสมสดล้างน้ำ ปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง และปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างทั้งหมดตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา [ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC official method 988.18, 2000), *Escherichia coli* (AOAC official method 992.30, 2000), *Staphylococcus aureus* (AOAC official method 987.09, 2000), Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria (Baross and Lenovich, 1992)] และคุณสมบัติทางเคมี ตามข้อ 1.2.2 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.1.4 การกำหนดจุดวิกฤต (Critical Control Point: CCP) ทางจุลชีววิทยาที่ได้จากการวิเคราะห์อันตรายในข้อ 2.1.1 และ 2.1.3 โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree)

นำข้อมูลจากการศึกษาในข้อ 2.1.1 และข้อ 2.1.3 เพื่อกำหนดจุดวิกฤตในขั้นตอนการผลิตซึ่งวิเคราะห์ร่วมกับแผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree) ตามภาพที่ 6 จากจุดวิกฤตที่ได้จะนำไปสู่การศึกษาขอบเขตของการควบคุมและเฝ้าระวังของแต่ละจุดในขั้นต่อไป

2.2 การศึกษาขอบเขตของการควบคุมและการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ควบคุมในกระบวนการผลิตปูเค็ม ณ ห้องปฏิบัติการ (Critical limit และ Monitoring procedure)

2.2.1 ลำดับจุดวิกฤตที่ 1: ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมัตัว การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือ เพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 1

2.2.1.1 การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการเตรียมน้ำเกลืออิมัตัวเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง

การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวังเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด Slightly halotrophic bacteria จากขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลือ โดยมีการเตรียมตัวอย่างดังนี้ นำน้ำกรองสเตอร์ไรล์ในหลอดฝาเกลียวขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เดิมเกลือเม็ด 6.5 กรัมเมื่อมีระดับอุณหภูมิตามกำหนด สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที และตัวอย่างน้ำเกลืออิมัตัวที่ไม่ให้ความร้อน (ชุดควบคุม) นำตัวอย่างทั้งหมดตรวจวิเคราะห์ปริมาณ

จุลินทรีย์ทั้งหมด Slightly halotrophic bacteria ตามวิธีข้อ 2.1.3 พร้อมทั้งวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเกลือ ตามวิธี AOAC official method 937.09 (2000) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

### 2.2.1.2 การยืนยันสถานะการศึกษา 2.2.1.1 โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อน

#### 1.) การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองในข้อนี้ ได้แก่ เชื้อที่ต้องเฝ้าระวังจากการศึกษาในข้อ 2.1.4 ได้แก่ เชื้อ Slightly halotrophic bacteria ที่แยกจากสายการผลิตน้ำเกลือมีเชื้อบริสุทธิ์ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ในการทดลอง โดยมีการเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์แต่ละเชื้อทำการถ่ายเชื้อปริมาณ 1 ลูก ลงในหลอดที่บรรจุ TSB ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงคัดสารละลายที่มีเชื้อเจริญอยู่ต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร อัตราส่วน 1:100 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ได้เชื้อที่อยู่ในช่วง log phase มีปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ที่  $10^7$  CFU/ml และล้างเซลล์ของเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ทั้งหมด 2 ครั้ง จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 พร้อมในการทดลองลำดับต่อไป

การศึกษาลักษณะเชื้อและการจัดจำแนกเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ใช้วิธีการของ Buchanan and Gibbons (1974) ดังภาคผนวก ง

#### 2.) การทดลองการยืนยันสถานะการศึกษา 2.2.1.1 โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อน

การเตรียมตัวอย่างดังนี้ นำน้ำกรองสเตอร์ไรล์ในหลอดฝาเกลียวขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เดิมเกลือเม็ด 6.5 กรัมเมื่อมีระดับอุณหภูมิตามกำหนด สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที และตัวอย่างน้ำเกลืออ้อมตัวที่ไม่ให้ความร้อน (ชุดควบคุม) นำตัวอย่างทั้งหมดตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด Slightly halotrophic bacteria ตามวิธีข้อ 2.1.3 พร้อมทั้งวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเกลือ ตามวิธี AOAC official method 937.09 (2000) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

2.2.2 ลำดับจุดวิกฤตที่ 2: ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี การศึกษาระดับโซเดียมคลอไรด์ใน  
ตัวปุ๋ยเคมี เพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องควบคุมและการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 2

2.2.2.1 ความสัมพันธ์ของระดับโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะทางจุลชีววิทยาและ  
เคมีบางลักษณะของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ

เตรียมตัวอย่าง 4 ชุดการทดลองที่มีปริมาณเกลือในปุ๋ยเคมีที่แตกต่างกัน  
ได้แก่ ที่มีปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมีร้อยละ 9.50, 11.33, 15.46 และ 21.59 แต่ละชุดการทดลองมี  
ตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ 3 ตัวอย่างได้แก่ ปุ๋ยผสมสด ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยผสมที่นำเข้า (ชุดควบคุม) โดย  
มีขั้นตอนการผลิตปุ๋ยเคมี ณ ห้องปฏิบัติการดังภาพที่ 7 สุ่มตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา  
[ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC official method 988.18, 2000), *Escherichia coli* (AOAC  
official method 992.30, 2000), *Staphylococcus aureus* (AOAC official method 987.09, 2000)  
ตามวิธีข้อ 1.2.1 และคุณสมบัติทางเคมีตามข้อ 1.2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ โซเดียมคลอไรด์

2.2.2.2 การกำหนดขอบเขตการเฝ้าระวังและการยืนยันสถานะการศึกษา โดย  
ใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีศักยภาพในการเสี่ยงต่อโรค

#### 1.) การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองข้อนี้ ได้แก่ เชื้อที่ต้องเฝ้าระวังจาก  
การศึกษาในข้อ 2.1.4 ได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly  
halotrophic bacteria ที่แยกจากสายของวัตถุดิบมีเชื้อบริสุทธิ์ Slightly halotrophic bacteria ทั้งหมด  
3 สายพันธุ์ในการทดลอง โดยมีการเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์แต่ละเชื้อทำโดยการถ่ายเชื้อ  
ปริมาณ 1 ลูบ ลงในหลอดที่บรรจุ TSB ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง  
จากนั้นจึงคัดสารละลายที่มีเชื้อเจริญอยู่ต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ขนาด 250  
มิลลิลิตร อัตราส่วน 1:100 เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ได้เชื้อที่อยู่ในช่วง  
log phase มีปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ที่  $10^7$  CFU/ml และล้างเซลล์ของเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ด้วยสารละลาย  
โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ทั้งหมด 2 ครั้ง จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ในสารละลาย  
โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 พร้อมใช้ในการทดลองลำดับต่อไป

เชื้อบริสุทธิ์ที่นำมาใช้ทำการศึกษาลักษณะ และแยกชนิดตามวิธีการของ Buchanan and Gibbons (1974) ดังภาคผนวก ง

เชื้อบริสุทธิ์ที่ก่อโรค *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) หรือ Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) รหัส TISTR780 และ TISTR1466 ตามลำดับ

2.) การทดลองการกำหนดขอบเขตการเฝ้าระวังและการยืนยันสถานะการศึกษา โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีศักยภาพในการเสี่ยงต่อโรค

การเตรียมตัวอย่างดังนี้ เตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในหลอดฝาเกลียวขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร 9 มิลลิลิตร ที่มีระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25 ใส่เชื้อบริสุทธิ์จากการเตรียม 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างที่บ่มในเวลา 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตรวจวิเคราะห์ห้ปริมาณจุลินทรีย์ดังกล่าวตามวิธีข้อ 2.1.3 พร้อมทั้งวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเกลือ ตามวิธี (AOAC official method 937.09, 2000) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ

2.3 การศึกษาการทานสอบ (Validation) จุดวิกฤตที่ควบคุมและการทวนสอบ (Verification) กระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีที่ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

2.3.1 การศึกษาการทานสอบ (Validation) จุดวิกฤตที่ควบคุมการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ

เพื่อยืนยันความถูกต้อง ณ จุดวิกฤตที่ควบคุมการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ โดยนำปุ๋ยผสมสดทำการผลิตปุ๋ยเคมีตามขั้นตอนการผลิตข้อ 2.1.2 โดยการเตรียมน้ำเกลืออิมิตัวตามระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณของจุลินทรีย์ได้ตามข้อการศึกษาที่ 2.2 และสุ่มตัวอย่างขั้นตอนการรับและล้างปุ๋ยผสม ปุ๋ยเคมี และน้ำเกลืออิมิตัว เพื่อวิเคราะห์ทางลักษณะทางจุลชีววิทยา [จุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธีการตามข้อ 1.2.1 Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria (Baross and

Lenovich, 1992)] และทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-เบส ค่า $a_w$  และปริมาณร้อยละเกลือ) ตามวิธีการข้อ 1.2.2 บันทึกผลและเปรียบเทียบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละขั้นตอน

2.3.2 การทวนสอบ (Verification) ระบบ HACCP ที่เสนอในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี เพื่อยืนยันความถูกต้องในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการที่ได้นำเสนอ

โดยทำการทดลองเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อันตรายทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธีการตามข้อ 1.2.1 Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria (Baross and Lenovich, 1992)) และทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-เบส ค่า $a_w$  และปริมาณร้อยละเกลือ) ตามวิธีการของ AOAC ในข้อ 1.2.2 จากกระบวนการผลิตที่มีการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP กับกระบวนการผลิตที่ไม่มีการใช้ระบบ HACCP โดยสุ่มตัวอย่างจากปุ๋ยผสมสดและปุ๋ยเคมีในการวิเคราะห์อันตราย เพื่อยืนยันความถูกต้องในการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์และสภาวะทางเคมีที่ส่งเสริมหรือยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์จากกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีทั้งหมด

### 3. การจัดทำเอกสารเพื่อสร้างต้นแบบในการผลิตปุ๋ยเคมีที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

รวบรวมข้อมูลจากการศึกษาข้อ 2 เพื่อจัดทำเป็นเอกสารในการเป็นต้นแบบการผลิตปุ๋ยเคมี โดยคำนึงถึงข้อกำหนดในการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practice: GMP) และ สุขลักษณะที่ดี เพื่อนำไปสู่การประยุกต์ใช้ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point System: HACCP) ในการผลิตปุ๋ยเคมี และเสนอต้นแบบระบบ HACCP

## ผลและวิจารณ์

### 1. การศึกษาธรรมชาติของปัญหาด้านความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีบริเวณกรุงเทพฯ

#### 1.1 การศึกษาความคิดเห็นและพฤติกรรมของผู้บริโภคต่อความปลอดภัยในการบริโภคปุ๋ยเคมี

การศึกษาหัวข้อนี้มีเป้าหมายเพื่อแสดงธรรมชาติ ความสัมพันธ์และความต้องการของผู้บริโภคในแง่ความปลอดภัยในการรับประทานปุ๋ยเคมี เพื่อสรุปสถานการณ์ของปัญหา ข้อมูลพื้นฐานและแสดงถึงความต้องการในการใช้ระบบคุณภาพในการจัดการเรื่องความปลอดภัยในการบริโภคปุ๋ยเคมี โดยศึกษาผ่านการทำแบบสอบถาม จากสถานที่ 4 แห่ง ในเขตกรุงเทพฯ ได้แก่ ห้างสรรพสินค้าเซ็นทรัล สาขาลาดพร้าว (25 คน) เมเจอร์ สาขารัชโยธิน (25 คน) บิ๊กซี สาขาลาดพร้าว (25 คน) และเดอะมอลล์ สาขาบางกะปิ (25 คน) รวมจำนวน 100 คน โดยการสุ่มจากทางเข้าของแต่ละห้างสรรพสินค้าภายในเวลา 1 ชั่วโมง สำหรับการสุ่มจำนวน 10 คน ทำเช่นนี้จนกระทั่งครบ 25 คน

ผลที่ได้จากการศึกษา (ตารางที่ 6) ข้อมูลเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถามพบว่า มีจำนวนเพศชาย 44 คน เพศหญิง 56 คน ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุ 20 – 25 ปี จำนวน 49 คน วุฒิการศึกษาส่วนใหญ่ระดับปริญญาตรีร้อยละ 64 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด และมีอาชีพนิสิต/นักเรียนร้อยละ 46 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด จำนวนของผู้ที่บริโภคปุ๋ยเคมีคิดเป็นร้อยละ 84 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด ซึ่งมีการบริโภคจากร้านส้มตำร้อยละ 97.62 ของจำนวนผู้บริโภคที่ถูกสอบถาม มีความบ่อยในการบริโภค 1 – 2 ครั้ง/สัปดาห์ร้อยละ 47.62 ของจำนวนผู้บริโภคที่ถูกสอบถาม ผู้บริโภคซื้อปุ๋ยเคมีจากร้านส้มตำ (รับประทานใส่ในส้มตำ) ร้อยละ 80 ของจำนวนผู้บริโภคที่ถูกสอบถาม มีผู้ที่เคยท้องเสียหรือเจ็บป่วยจากการบริโภคปุ๋ยเคมีร้อยละ 46.43 ของจำนวนผู้บริโภคที่ถูกสอบถาม ผู้ตอบแบบสอบถามคิดว่าการวางจำหน่ายปุ๋ยเคมีมีความสปรกและมีโอกาสปนเปื้อนร้อยละ 81 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด และคิดว่าจะมีโอกาสทำให้เกิดการเจ็บป่วยหรือท้องเสียจากการบริโภคปุ๋ยเคมีร้อยละ 94 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด คิดว่าควรมีการควบคุมความปลอดภัยในปุ๋ยเคมีส่วนใหญ่ผู้ตอบแบบสอบถามร้อยละ 99 ของผู้ถูกสอบถามทั้งหมด ไม่ได้เป็นผู้ปรุงปุ๋ยเคมีเอง และเคยกับไม่เคยท้องเสียหรือเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคปุ๋ยเคมี (หรือใส่ในส้มตำ) ในปริมาณใกล้เคียงกันคือร้อยละ 46.43 กับ 53.57 ของจำนวนผู้บริโภคที่ถูกสอบถาม

การทดลองข้างต้นนำไปสู่ข้อสรุปว่า ผู้บริโภคปุ๋ยมัมีปัญหาสถานะการเจ็บป่วย หลังจากการบริโภคปุ๋ยมั ต้องการให้มีการควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมั ผู้บริโภคมีการบริโภคคิดเป็น 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์ การบริโภคไม่ได้ปรุงเอง แต่รับประทานผ่านร้านที่ปรุง ผลิตภัณฑ์สำเร็จ ส่วนใหญ่รับประทานโดยใส่ในส้มตำ กลุ่มผู้บริโภคที่นิยมบริโภคปุ๋ยมัเป็นเพศหญิงในช่วงอายุ 20–25 ปีระดับวุฒิการศึกษาปริญญาตรีซึ่งยังเป็นนิสิตหรือนักศึกษา ผู้บริโภคมีความคิดว่าปุ๋ยมัที่วางจำหน่ายในปัจจุบันสกปรกและ/หรือมีโอกาสปนเปื้อน ข้อสรุปทั้งหมดเป็นภาพของผู้บริโภคปุ๋ยมั ภาพแสดงคือ ผู้บริโภคมีความต้องการในการจัดการการควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ และควรใช้ระบบการจัดการความปลอดภัยเข้าไปแก้ไข ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะใช้ระบบ HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) เพื่อจัดการควบคุมคุณภาพต่อกระบวนการผลิตปุ๋ยมั ซึ่งจะแสดงการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 6 ข้อมูลทั่วไป ความคิดเห็นและพฤติกรรมของผู้บริโภคบูเคียม

ข้อมูล	จำนวน (คน)	ร้อยละ	หมายเหตุ
<b>ส่วนที่ 1</b> ข้อมูลเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม			
1. เพศ			
ชาย	44	44.00	
หญิง	56	56.00	
รวม	100	100	
2. อายุ			
ต่ำกว่า 20 ปี	16	16.00	ช. 8 ญ. 8
20 – 25 ปี	49	49.00	ช. 20 ญ. 29
26 – 30 ปี	15	15.00	ช. 10 ญ. 5
31 – 35 ปี	7	7.00	ช. 2 ญ. 5
41 – 45 ปี	4	4.00	ญ. 4
46 – 50 ปี	3	3.00	ช. 1 ญ. 2
มากกว่า 50 ปี	6	6.00	ช. 3 ญ. 3
รวม	100	100	
3. วุฒิการศึกษา			
ต่ำกว่ามัธยมศึกษา	2	2.00	ญ. 2
มัธยมศึกษาตอนต้น	7	7.00	ช. 3 ญ. 4
มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช.	16	16.00	ช. 7 ญ. 9
อนุปริญญา/ปวส.	3	3.00	ช. 1 ญ. 2
ปริญญาตรี	64	64.00	ช. 29 ญ. 35
สูงกว่าปริญญาตรี	8	8.00	ช. 4 ญ. 4
รวม	100	100	
4. อาชีพ			
นิสิต/นักศึกษา	46	46.00	ช. 23 ญ. 23
พนักงานบริษัทเอกชน/รับจ้าง	29	29.00	ช. 10 ญ. 19
ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ	9	9.00	ช. 6 ญ. 3
แม่บ้าน / พ่อบ้าน	7	7.00	ญ. 7
ธุรกิจส่วนตัว	7	7.00	ช. 4 ญ. 3
ว่างงาน	2	2.00	ช. 1 ญ. 1
รวม	100	100	

## ตารางที่ 6 (ต่อ)

ข้อมูล	จำนวน (คน)	ร้อยละ	หมายเหตุ
<b>ส่วนที่ 2</b> ข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคปุ๋ยเคมี			
5. ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีหรือไม่			
บริโภค	84	84.00	ช. 35 ญ. 49
ไม่บริโภค	16	16.00	ช. 9 ญ. 7
รวม	100	100	
6. ส่วนใหญ่ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีอย่างไร			
ใส่ในสัปดาห์	82	97.62	ช. 34 ญ. 48
ใส่ในสัปดาห์ และขำปุ๋ยเคมี	2	2.38	ช. 1 ญ. 1
อื่น ๆ	0	0	
รวม	84	100	
7. ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีบ่อยแค่ไหน (หรือใส่ในสัปดาห์)			
1-2 ครั้ง/สัปดาห์	40	47.62	ช. 14 ญ. 26
1-2 ครั้ง/เดือน	33	39.28	ช. 17 ญ. 16
2-3 เดือน/ครั้ง	7	8.34	ช. 3 ญ. 4
1-2 ครั้ง/ปี	2	2.38	ช. 1 ญ. 1
3-4 ครั้งต่อสัปดาห์	2	2.38	ญ. 2
รวม	84	100	
8. ท่านซื้อปุ๋ยเคมีบริโภคจากแหล่งใด			
ตลาด	4	4.76	ช. 3 ญ. 1
จากร้านสัปดาห์ (รับประทานใส่ในสัปดาห์)	80	95.24	ช. 32 ญ. 48
รวม	84	100	
9. ท่านเคยท้องเสียหรือเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคปุ๋ย เคมีหรือไม่ (หรือใส่ในสัปดาห์)			
เคย	39	46.43	ช.18 ญ. 21
ไม่เคย	45	53.57	ช.17 ญ. 28
รวม	84	100	
10.ท่านได้มีการปรับปรุงปุ๋ยเคมีเองหรือเคยปรุงหรือไม่			
ไม่ได้ปรุงเอง	99	99.00	ช.44 ญ. 55
ปรุงรับประทานเอง (ตอบข้อ11)	1	1.00	ญ. 1
รวม	100	100	

## ตารางที่ 6 (ต่อ)

ข้อมูล	จำนวน (คน)	ร้อยละ	หมายเหตุ
11. ท่านมีขั้นตอนเตรียมก่อนการปรุงอย่างไร			
ล้างทำความสะอาดก่อน	1	100	ญ. 1
รวม	1	100	
12. ท่านคิดว่าปูเค็มที่วางจำหน่ายในปัจจุบันเป็นอย่างไร			
สะอาดถูกสุขลักษณะ	7	7.00	ช. 3 ญ. 4
สกปรก/มีโอกาสดการปนเปื้อน	81	81.00	ช. 33 ญ. 48
ไม่แน่ใจขึ้นอยู่กับร้าน	12	12.00	ช. 8 ญ. 4
รวม	100	100	
13. ท่านคิดว่าการบริโภคปูเค็มมีโอกาสทำให้เกิดการเจ็บป่วย ท้องเสียหรือไม่ปลอดภัยหรือไม่			
มีโอกาส	94	94.00	ช. 43 ญ. 51
ไม่มีโอกาส	6	6.00	ช. 1 ญ. 5
รวม	100	100	
14. ท่านคิดว่าควรควบคุมความปลอดภัยในปูเค็มเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคหรือไม่			
ควร	99	99.00	ช. 43 ญ. 56
ไม่ควร	1	1.00	ช. 1
รวม	100	100	

หมายเหตุ: ช. หมายถึง เพศชาย

ญ. หมายถึง เพศหญิง

## 1.2 การศึกษาอันตรายของปูเค็มทางด้านจุลชีววิทยาและลักษณะทางเคมีที่วางจำหน่าย บริเวณตลาดสดกรุงเทพฯ

การศึกษาอันตรายของปูเค็มทางด้านจุลชีววิทยาและลักษณะทางเคมีที่วางจำหน่าย บริเวณตลาดสดกรุงเทพฯ มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงธรรมชาติที่เป็นอันตรายของผลิตภัณฑ์จากแหล่งจำหน่ายในบริเวณศึกษา และแสดงสถานะทางจุลชีววิทยาที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่ปลอดภัย โดยพิจารณาร้อยละของการปนเปื้อนซึ่งแสดงความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากผลิตภัณฑ์ปูเค็ม โดยศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยา ร่วมกับลักษณะทางเคมี เพื่อจะแสดงสถานะแวดล้อมของอาหารที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ผ่านการตรวจสอบในผลิตภัณฑ์ซึ่งให้ผลการทดลองดังนี้

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ จำนวน 50 ตัวอย่าง จากตลาดสด 23 แห่ง ดังแสดงในตารางที่ 7 และ 9 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, ปริมาณจุลินทรีย์สร้างกรด, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยอยู่ในช่วง  $3.5 \times 10^2 - 1.7 \times 10^5$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $1.6 \times 10^4$  CFU/g),  $1.0 \times 10^4 - 1.15 \times 10^4$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $1.2 \times 10^3$  CFU/g),  $< 3 - 23$  MPN/g และ  $1.0 \times 10^2 - 2.14 \times 10^4$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $8.55 \times 10^2$  CFU/g) ค่าส่วนใหญ่อยู่ในค่ากำหนดของมาตรฐานของทุกแห่งอ้างอิงยกเว้น *Escherichia coli* ที่เกินข้อกำหนดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) จำนวน 1 ตัวอย่าง ปริมาณของ *Staphylococcus aureus* ที่เกินข้อกำหนดของทั้งสามแห่งอ้างอิงมีจำนวน 10 ตัวอย่าง ซึ่งปริมาณของ *S. aureus* ตรวจพบจำนวน 15 ตัวอย่างจากทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 30 ของตัวอย่างทั้งหมด โดยอยู่ในช่วง  $1.0 \times 10^2 - 2.14 \times 10^4$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $8.55 \times 10^2$  CFU/g) และปริมาณของ *Salmonella* sp. พบ 1 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 2.5 ของตัวอย่างทั้งหมด สำหรับเชื้อ *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, Yeast และ Mold รายงานว่าไม่พบ [ค่าการตรวจนับมีปริมาณน้อยกว่า 100 Est. โดยใช้เกณฑ์การรายงานตามวิธีของ Swanson *et al.* (1992)] จากทั้งหมด 50 ตัวอย่าง

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงผลสรุปว่า ปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดจากแหล่งดังกล่าวส่วนใหญ่มีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค มีจำนวนที่เกินกำหนดมาตรฐานในระดับต่ำ (1-10 ตัวอย่าง จากจำนวนการสุ่มตรวจทั้งหมด 50 ตัวอย่าง) ซึ่งน่าจะมาจากการปฏิบัติในการผลิตและการวางขายที่ดี อย่างไรก็ตามในผลการทดลองได้ให้ข้อสังเกตว่า ค่าที่เกินมาตรฐานแสดงโอกาสในการปนเปื้อนต่อผลิตภัณฑ์และสามารถเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะทำการศึกษาในหัวข้อต่อไป จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดอันตรายและมีโอกาสทำให้เกิดการปนเปื้อนพิจารณาจากปริมาณร้อยละที่พบจากตัวอย่างทั้งหมดมากขึ้นตามลำดับ ได้แก่ *Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. (ร้อยละ 100, 30 และ 2.5) จุลินทรีย์ที่มีโอกาสพบได้ต่ำกว่าโดยพิจารณาโดยใช้เกณฑ์เดียวกัน ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, Yeast และ Mold (ร้อยละ 0 ในทุกเชื้อ) จากการศึกษาขั้นตอนนี้สามารถให้ข้อสรุปได้ว่า *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. ควรจะเป็นอันตรายทางจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีซึ่งจำเป็นต้องมีการพิสูจน์ในการศึกษาลำดับต่อไป

การศึกษาลักษณะทางเคมีเพื่อให้สอดคล้องกับการศึกษาอันตรายทางจุลชีววิทยาและแสดงสภาวะธรรมชาติทางเคมีของผลิตภัณฑ์ที่ส่งเสริมและ/หรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค จึงตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างเดียวกันกับการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ซึ่งลักษณะทางเคมีที่ตรวจได้แก่ ค่า  $a_w$ , ปริมาณเกลือ ปริมาณกรด และความเป็นกรด-เบส ดังแสดงในตารางที่ 8 และ 10 ซึ่งให้ค่าอยู่ในช่วงตามลำดับดังนี้  $0.72 \pm 0.01$ - $0.83 \pm 0.01$  (ค่าเฉลี่ย  $0.75 \pm 0.02$ ), ร้อยละ  $15.05 \pm 1.25$ - $33.95 \pm 0.25$  (ค่าเฉลี่ยร้อยละ  $25.21 \pm 5.78$ ), ร้อยละ  $0.04 \pm 0.01$ - $0.11 \pm 0.02$  (ค่าเฉลี่ยร้อยละ  $0.08 \pm 0.09$ ) และ  $7.87 \pm 0.06$ - $8.82 \pm 0.11$  (ค่าเฉลี่ย  $8.09 \pm 0.14$ ) การศึกษาครั้งนี้เป็นไปในทางเดียวกับการศึกษาของ อรุณ และคณะ (2547) ซึ่งพบว่า มีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 3.06-8.36 และการศึกษาของ Phithakpol *et al.* (1995) พบว่ามีค่า  $a_w$  ปริมาณเกลือ ปริมาณกรด และความเป็นกรด-เบส มีค่าอยู่ในช่วง 0.76, 7.8-17.3, 0-1.8 และ 7.2-7.8 ตามลำดับ ซึ่งค่าดังกล่าวอาจแสดงสภาวะที่ส่งเสริมการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในการศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยา คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. (Beumer, 2001) ในทางตรงข้ามสภาวะดังกล่าวอาจไม่เหมาะสมกับการเติบโตของ *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, Yeast และ Mold จึงตรวจไม่พบในตัวอย่างปุ๋ยเคมีจากตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ

ตารางที่ 7 ลักษณะทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีจำนวน 50 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่าย 23 แห่งในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ

ลำดับที่	ตลาดสดบริเวณ กรุงเทพฯ	TVC (CFU/g)	TVC + NaCl (CFU/g)	Lactics (CFU/g)	Lactics +NaCl (CFU/g)	Yeast/ Mold (CFU/g)	<i>Bacillus</i> <i>cereus</i> (CFU/g)	<i>Escheric</i> <i>hia coli</i> (MPN/g)	<i>Staphylo</i> <i>coccus</i> <i>aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> <i>sp. /</i> 25 กรัม	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (CFU/g)	<i>Vibrio</i> <i>cholerae</i> / 25 กรัม	<i>Vibrio</i> <i>parahaemo</i> <i>lyticus</i> / 25 กรัม
1	อมรพันธ์	3.35x10 <sup>3</sup>	-	2.65x10 <sup>2</sup>	-	-	-	23	-	-	-	-	-
2	อมรพันธ์	2.25x10 <sup>3</sup>	-	2.30x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
3	วังหิน	3.70x10 <sup>3</sup>	-	2.20x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
4	วังหิน	4.20x10 <sup>3</sup>	-	1.95x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
5	บางเขน	1.35x10 <sup>3</sup>	-	2.00x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	2.00x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
6	บางเขน	1.36x10 <sup>3</sup>	-	1.55x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	3.00x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
7	ประชานิเวศ 3	3.20x10 <sup>3</sup>	-	2.2x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	3.00x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
8	ประชานิเวศ 3	3.95x10 <sup>3</sup>	-	3.15x10 <sup>3</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
9	บางกะปิ	8.10x10 <sup>4</sup>	-	4.15x10 <sup>4</sup>	-	-	-	9.1	1.50x10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
10	บางกะปิ	1.05x10 <sup>5</sup>	-	2.45x10 <sup>3</sup>	-	-	-	< 3	1.24x10 <sup>4</sup>	พบ	-	-	-
11	บางกะปิ	3.45x10 <sup>4</sup>	-	1.45x10 <sup>3</sup>	-	-	-	< 3	2.14x10 <sup>4</sup>	-	-	-	-
12	ทรัพย์จันทร์ผัสดัน	6.45x10 <sup>4</sup>	-	1.40x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
13	ทรัพย์จันทร์ผัสดัน	4.65x10 <sup>3</sup>	-	1.00x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับ ที่	ตลาดสด บริเวณ กรุงเทพฯ	TVC (CFU/g)	TVC + NaCl (CFU/g)	Lactics (CFU/g)	Lactics +NaCl (CFU/g)	Yeast/ Mold (CFU/g)	<i>Bacillus</i> <i>cereus</i> (CFU/g)	<i>Escheric</i> <i>hia coli</i> (MPN/g)	<i>Staphyloc</i> <i>occus</i> <i>aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonel</i> <i>la sp. /</i> 25 กรัม	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (CFU/g)	<i>Vibrio</i> <i>cholerae</i> / 25 กรัม	<i>Vibrio</i> <i>parahae</i> <i>molyticus</i> / 25 กรัม
14	ทรัพย์จันทร์ผัสด	2.65x10 <sup>3</sup>	-	1.30x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
15	โชคชัย 4	3.50x10 <sup>2</sup>	-	5.50x10	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
16	โชคชัย 4	1.30x10 <sup>3</sup>	-	5.0x10	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
17	โชคชัย 4	3.20x10 <sup>3</sup>	-	2.65x10 <sup>2</sup>	-	-	-	3.6	5.50x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
18	ยิ่งเจริญ	4.60x10 <sup>4</sup>	-	1.65x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
19	ยิ่งเจริญ	3.60x10 <sup>4</sup>	-	1.9x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
20	ยิ่งเจริญ	1.13x10 <sup>4</sup>	-	1.65x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
22	บางซื่อ	2.49x10 <sup>4</sup>	-	5.5x10	-	-	-	< 3	4.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
23	วัดสะพานสูง	2.9x10 <sup>3</sup>	-	5.0x10	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
24	วัดสะพานสูง	1.92x10 <sup>4</sup>	-	1.75x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	1.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
25	ประชานิเวศ1	6.3x10 <sup>3</sup>	-	1.5x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
26	ประชานิเวศ1	2.87x10 <sup>4</sup>	-	6.0x10	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
27	พงษ์เพชร	5.55x10 <sup>3</sup>	-	2.5x10	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-
28	พงษ์เพชร	3.8x10 <sup>3</sup>	-	3.35x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	1.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
29	กม. 8	1.81x10 <sup>4</sup>	-	3.15x10 <sup>2</sup>	-	-	-	< 3	-	-	-	-	-

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับที่	ตลาดสดบริเวณ กรุงเทพฯ	TVC (CFU/g)	TVC + NaCl (CFU/g)	Lactics (CFU/g)	Lactics +NaCl (CFU/g)	Yeast/ Mold (CFU/g)	<i>Bacillus</i> <i>cereus</i> (CFU/g)	<i>Escheric</i> <i>hia coli</i> (MPN/g)	<i>Staphylo</i> <i>coccus</i> <i>aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> <i>sp. /</i> 25 กรัม	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (CFU/g)	<i>Vibrio</i> <i>cholera</i> <i>e / 25</i> กรัม	<i>Vibrio</i> <i>parahaem</i> <i>olyticus /</i> 25 กรัม
30	กม. 8	3.15x10 <sup>3</sup>	-	4.0x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
31	ปิ่นทอง	1.55x10 <sup>3</sup>	-	1.6x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
32	ปิ่นทอง	5.9x10 <sup>3</sup>	-	2.35x10 <sup>3</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
33	มีนบุรี	9.5x10 <sup>3</sup>	-	3.35x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
34	มีนบุรี	3.16x10 <sup>4</sup>	-	1.25x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
35	หนองจอก	3.2x10 <sup>3</sup>	-	7.0x10	-	-	-	<3	1.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
36	หนองจอก	8.5x10 <sup>2</sup>	-	1.0x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
37	โพธิ์สุวรรณ	6.5x10 <sup>2</sup>	-	6.0x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
38	โพธิ์สุวรรณ	1.35x10 <sup>3</sup>	-	2.5x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
39	ปัฐวิกรณ์	2.55x10 <sup>3</sup>	-	1.0x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
40	ปัฐวิกรณ์	8.5x10 <sup>2</sup>	-	2.85x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
41	ไต้รุ่งหัวหมาก	2.31x10 <sup>3</sup>	-	3.5x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
42	ไต้รุ่งหัวหมาก	1.82x10 <sup>3</sup>	-	4.0x10	-	-	-	<3	1.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
43	คลองตัน	5.1x10 <sup>3</sup>	-	6.0x10	-	-	-	<3	1.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับที่	ตลาดสด บริเวณ กรุงเทพฯ	TVC (CFU/g)	TVC + NaCl (CFU/g)	Lactics (CFU/g)	Lactics +NaCl (CFU/g)	Yeast/ Mold (CFU/g)	<i>Bacillus</i> <i>cereus</i> (CFU/g)	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> (MPN/g)	<i>Staphylo</i> <i>coccus</i> <i>aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> sp. / 25 กรัม	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (CFU/g)	<i>Vibrio</i> <i>cholerae</i> / 25 กรัม	<i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i> / 25 กรัม
44	คลองตัน	1.8x10 <sup>3</sup>	-	6.0x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
45	ศรีคินแดง	4.0x10 <sup>3</sup>	-	2.2x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
46	ศรีคินแดง	6.75x10 <sup>2</sup>	-	7.5x10	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
47	พรานนก	1.46x10 <sup>3</sup>	-	1.6x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	2.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
48	พรานนก	1.70x10 <sup>5</sup>	-	4.4x10 <sup>3</sup>	-	-	-	<3	5.0x10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
49	กรุงธน	1.21x10 <sup>4</sup>	-	2.1x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
50	กรุงธน	1.62x10 <sup>4</sup>	-	1.25x10 <sup>2</sup>	-	-	-	<3	-	-	-	-	-
	ค่าเฉลี่ย	1.6x10 <sup>4</sup>	-	1.2x10 <sup>3</sup>	-	-	-		8.55x10 <sup>2</sup>	1คย.	-	-	-
	ช่วงของ	3.50x10 <sup>2</sup> -	-	1x10 -	-	-	-	<3 - 23	1.0x10 <sup>2</sup> -		-	-	-
	ปริมาณ	1.70x10 <sup>5</sup>		4.15x10 <sup>4</sup>					2.14x10 <sup>4</sup>				

หมายเหตุ: TVC คือ จุลินทรีย์ทั้งหมด TVC+NaCl คือ จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เติม โซเดียมคลอไรด์ตามปริมาณเกลือของแต่ละตัวอย่างในอาหารที่ใช้ตรวจนับ  
Lactics คือ จุลินทรีย์สร้างกรด Lactics+NaCl คือ จุลินทรีย์สร้างกรดที่เติม โซเดียมคลอไรด์ตามปริมาณเกลือของแต่ละตัวอย่างในอาหารที่ตรวจนับ  
- คือ ไม่พบจุลินทรีย์

ตารางที่ 8 ลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีจำนวน 50 ตัวอย่าง จากแหล่งจำหน่าย 23 แห่งใน ตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ

ลำดับที่	ตลาดสดบริเวณ กรุงเทพฯ	ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณกรด (ร้อยละ)	ค่าความเป็น กรด-เบส	ค่า $a_w$
1	อมรพันธ์	19.00	0.107	8.02	0.76
2	อมรพันธ์	18.80	0.107	7.93	0.74
3	วังหิน	15.05	0.084	7.99	0.74
4	วังหิน	15.69	0.067	7.96	0.73
5	บางเขน	24.31	0.073	7.98	0.75
6	บางเขน	21.29	0.050	8.08	0.74
7	ประชานิเวศ 3	23.47	0.064	7.93	0.73
8	ประชานิเวศ 3	24.06	0.076	7.87	0.73
9	บางกะปิ	23.04	0.075	8.18	0.76
10	บางกะปิ	17.02	0.047	8.13	0.83
11	บางกะปิ	18.17	0.043	8.17	0.79
12	ทรัพย์จันทร์ผืน	18.63	0.052	8.09	0.77
13	ทรัพย์จันทร์ผืน	19.17	0.048	8.06	0.75
14	ทรัพย์จันทร์ผืน	19.42	0.064	8.23	0.75
15	โชคชัย 4	23.39	0.086	7.94	0.74
16	โชคชัย 4	23.39	0.086	8.20	0.74
17	โชคชัย 4	20.86	0.063	8.02	0.75
18	ยิ่งเจริญ	17.64	0.064	8.82	0.75
19	ยิ่งเจริญ	15.79	0.067	8.06	0.75
20	ยิ่งเจริญ	15.74	0.067	7.91	0.76
22	บางซื่อ	18.57	0.091	8.057	0.75
23	วัดสะพานสูง	20.76	0.078	8.053	0.75
24	วัดสะพานสูง	22.84	0.094	8.026	0.77
25	ประชานิเวศ1	30.95	0.081	8.10	0.74
26	ประชานิเวศ1	31.35	0.077	8.26	0.74
27	พงษ์เพชร	24.69	0.113	8.05	0.76
28	พงษ์เพชร	24.91	0.078	8.023	0.75
29	กม. 8	29.57	0.109	8.030	0.75

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ลำดับที่	ตลาดสดบริเวณ กรุงเทพฯ	ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณกรด (ร้อยละ)	ค่าความเป็น กรด-เบส	ค่า $a_w$
30	กม. 8	31.07	0.105	8.033	0.75
31	ปิ่นทอง	31.36	0.082	8.15	0.75
32	ปิ่นทอง	28.84	0.068	8.10	0.74
33	มีนบุรี	30.29	0.052	8.06	0.75
34	มีนบุรี	30.75	0.049	8.18	0.74
35	หนองจอก	27.28	0.055	8.19	0.73
36	หนองจอก	32.45	0.056	8.21	0.73
37	โพธิ์สุวรรณ	33.95	0.069	8.05	0.72
38	โพธิ์สุวรรณ	26.05	0.049	8.12	0.74
39	ปัฐวิกรณ์	30.71	0.057	8.19	0.75
40	ปัฐวิกรณ์	30.30	0.062	8.17	0.72
41	ไต้รุ่งหัวหมาก	32.27	0.049	8.06	0.76
42	ไต้รุ่งหัวหมาก	31.95	0.055	8.18	0.76
43	คลองตัน	30.17	0.064	8.13	0.77
44	คลองตัน	30.41	0.066	8.21	0.77
45	ศรีดินแดง	31.63	0.056	8.08	0.76
46	ศรีดินแดง	31.93	0.063	8.176	0.75
47	พรานนก	30.78	0.066	8.04	0.75
48	พรานนก	28.75	0.076	8.08	0.75
49	กรุงธน	28.12	0.078	8.16	0.75
50	กรุงธน	31.44	0.078	8.04	0.74
ค่าเฉลี่ย (Unit±SD; n=50)		25.21±5.73	0.083±0.09	8.09±0.14	0.75±0.02
ช่วงของปริมาณ (Unit±SD; n=3)		15.05±1.25-	0.04±0.01-	7.87±0.06-	0.72±0.01-
		33.95±0.25	0.11±0.02	8.82±0.11	0.83±0.01

ตารางที่ 9 ลักษณะทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์จากแหล่งอ้างอิง

ชนิดของจุลินทรีย์	ปริมาณที่พบ		ค่าการรายงาน		แหล่งอ้างอิงมาตรฐานผลิตภัณฑ์ปูเค็ม		
	จำนวนตัวอย่าง	ร้อยละของจำนวนตัวอย่าง	ช่วงปริมาณ	ค่าเฉลี่ย	กรมประมง <sup>1</sup> (2547)	สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม <sup>2</sup> (2549)	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ <sup>3</sup> (2536)
จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	50	100	3.50x10 <sup>2</sup> -1.70x10 <sup>5</sup>	1.6x10 <sup>4</sup>	น้อยกว่า 1 x 10 <sup>6</sup>	น้อยกว่า 1x10 <sup>6</sup>	*
จุลินทรีย์สร้างกรด (CFU/g)	50	100	1.0x10 – 4.15x10 <sup>4</sup>	1.2x10 <sup>3</sup>	*	*	*
<i>Bacillus cereus</i> (CFU/g)	0	0	ND**	ND	*	*	น้อยกว่า 10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)	50	100	< 3 – 23	-	*	*	น้อยกว่า 10
<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	15	30	1.0x10 <sup>2</sup> - 2.14x10 <sup>4</sup>	8.55x10 <sup>2</sup>	น้อยกว่า 10 <sup>2</sup>	น้อยกว่า 10 <sup>2</sup>	น้อยกว่า 10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> sp./ 25 กรัม	1	2.5	พบ	พบ	ND	ND	ND
<i>Vibrio cholerae</i> / 25 กรัม	0	0	ND	ND	*	*	*
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> / 25 กรัม	0	0	ND	ND	*	น้อยกว่า 10 <sup>2</sup>	*
<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/g)	0	0	ND	ND	*	*	ND
Yeast และ Mold (CFU/g)	0	0	ND	ND	น้อยกว่า 2 x 10 <sup>2</sup>	น้อยกว่า 5 x10 <sup>2</sup>	น้อยกว่า 1x10 <sup>4</sup> และน้อยกว่า 5x 10 <sup>2</sup>

หมายเหตุ: \* ไม่กำหนดค่าไว้ในมาตรฐาน, \*\* ไม่พบจุลินทรีย์ชนิดนั้นโดยให้ค่าการตรวจนับมีปริมาณน้อยกว่า 100 Est. CFU/g โดยใช้เกณฑ์การรายงานตามวิธีของ Swanson *et al.* (1992), <sup>1</sup> มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางจุลชีววิทยา (Microbiological reference criteria for fishery products August 2004; Revision II), <sup>2</sup> มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปูเค็ม, <sup>3</sup> เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะและผู้สัมผัสอาหาร หัวข้อ 2.2.2 อาหารหมักพื้นเมืองที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้แก่ แหนม กะปิ ปลาร้า ปลาจ่อม ส้มปลก บูด เป็นต้น

## ตารางที่ 10 ลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมูลที่วางจำหน่ายในตลาดสดบริเวณกรุงเทพฯ

ลักษณะทางเคมี	ช่วงปริมาณ (Unit±SD; n=3)	ค่าเฉลี่ย (Unit±SD; n=50)
ความเป็นกรด-เบส	7.87±0.06-8.82±0.11	8.09±0.14
ค่า $a_w$	0.72±0.01-0.83±0.01	0.75±0.02
ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	15.05±1.25-33.95±0.25	25.21±5.78
ปริมาณกรด (ร้อยละ)	0.04±0.01-0.11±0.02	0.08±0.09

## 2. ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point System: HACCP) ในปุ๋ยมูล

### 2.1 การวิเคราะห์อันตรายและกำหนดจุดวิกฤตในกระบวนการผลิตปุ๋ยมูล ณ ห้องปฏิบัติการ

#### 2.1.1 การศึกษาอันตรายในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมูล ณ ห้องปฏิบัติการ

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอันตรายจากจุลินทรีย์ก่อโรคในการผลิตปุ๋ยมูล และยืนยันชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้เกิดความไม่ปลอดภัยจากกระบวนการผลิตปุ๋ยมูล เพื่อประยุกต์ใช้ข้อมูลในการควบคุมกระบวนการผลิต โดยการศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยา และทางเคมีของปุ๋ยมูลที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ด้วยการเปรียบเทียบกันระหว่างปุ๋ยมูลสด (ใช้เป็นตัวควบคุมการทดลองเพื่อแสดงลักษณะทางจุลินทรีย์และลักษณะทางเคมีของวัตถุดิบ) ปุ๋ยมูลที่เน่าเสีย (ปุ๋ยมูลสดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงและไม่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสแล้ว) ซึ่งเป็นตัวควบคุมการทดลองเพื่อแสดงลักษณะทางจุลินทรีย์ก่อโรคที่สามารถเจริญได้และลักษณะทางเคมีในวัตถุดิบในระยะเวลาการเก็บเดียวกันกับเวลาการยุติกระบวนการผลิตปุ๋ยมูล) และปุ๋ยมูลที่มีปริมาณเกลือร้อยละในตัวปุ๋ยมูลเทียบเท่ากับค่าเฉลี่ยจากผลิตภัณฑ์ที่สำรวจได้ในท้องตลาดในตารางที่ 7 (ตารางที่ 9) ผลการศึกษาพบว่า จากตารางที่ 11 เมื่อแปรรูปปุ๋ยมูลแล้ว ตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ในปริมาณที่ลดลงเป็น 2 log cycle, 14 MPN/g และ 2 log cycle จากปุ๋ยมูลสด ตามลำดับ และพบว่าเชื่อดังกล่าวมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นเมื่อเป็นปุ๋ยมูลที่เน่าเสีย ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปุ๋ยมูลสดเป็น 2 log cycle, 12 MPN/g และ 4 cycle ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่น (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio*

*parahaemolyticus*, Yeast และ Mold) ตรวจไม่พบเลยทั้งในปูแสมสด ปูแสมที่เน่าเสียและปูเค็ม เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 1.2 จากผลการทดลองได้ชี้ให้เห็นด้วยว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคนิดอื่นที่ไม่พบในปูเค็มเป็นเชื้อที่ไม่พบอยู่แล้วในวัตถุดิบ และมีข้อสังเกตว่า แม้แต่ปูแสมที่เกิดจากการเน่าเสียก็ไม่พบการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่ไม่พบในวัตถุดิบ (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, Yeast และ Mold) เกิดขึ้นเช่นกัน ยกเว้นจุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* การพบและไม่พบจุลินทรีย์ดังกล่าวน่าจะสัมพันธ์กับค่าทางเคมี (ปริมาณเกลือ ปริมาณกรด ความเป็นกรด-เบส และค่า  $a_w$ ) ที่จะป็นปัจจัยหนึ่งที่จะส่งเสริมและ/หรือยับยั้งการเติบโตของเชื้อที่ปรากฏตลอดช่วงเวลาการแปรรูป จากผลการทดลองลักษณะทางเคมีในทั้ง 3 ทริทเมนต์พบว่า ให้ค่าที่ไม่แตกต่างกัน ยกเว้นค่าปริมาณเกลือร้อยละที่เติมลงไปเท่านั้น ที่ให้ค่าความแตกต่างอย่างโดดเด่น ระหว่างปูเค็มและปูแสมสดกับปูแสมที่เน่าเสีย (ร้อยละ 21.59, 0.72 และ 0.62 ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่า การพบหรือไม่พบจุลินทรีย์ขึ้นกับค่าลักษณะทางเคมี (Frazier, 1958) และมีสมมติฐานว่าปริมาณเกลือน่าจะเป็นตัวควบคุมจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่ตรวจพบโดยทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงได้จึงเป็นข้อสังเกตในการศึกษาลำดับต่อไป

จากผลการทดลองนี้มีข้อสังเกตว่าไม่พบ *Salmonella* sp. ในสายการผลิตที่ถูกควบคุม [ปริมาณเกลือ และข้อกำหนดที่ดีในการผลิต (GMP)] แสดงว่า *Salmonella* sp. ไม่ใช่ Natural contaminant ที่จะเกิดขึ้นเสมอในทุกครั้งที่ผลิตที่ได้ถูกควบคุมแล้วด้วย GMP [ซึ่งเป็นผลที่แย้งกับการทดลองข้อที่ 1 ที่พบ 1 ตัวอย่างใน 50 ตัวอย่าง (2.5 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างที่ตรวจ)] และจากความเป็นจริงของผลการทดลองในลำดับที่ 10 ตารางที่ 7 ตัวอย่างมีปริมาณเกลือต่ำ (17.02 เปอร์เซ็นต์) เป็นคำอธิบายของเหตุผลที่พบ *Salmonella* sp. จากข้อสนับสนุนนี้ ในงานวิจัยจึงตัดอันตรายที่เกิดความเสี่ยงและเสนอ *Salmonella* sp. เป็นอันตรายที่มีนัยสำคัญออกจากการศึกษาตามเหตุผลข้างต้น

ดังนั้นผลการทดลองทั้งหมดนำมาสู่ข้อสรุปที่ว่า ชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุมในการผลิตปูเค็มและต้องตรวจสอบตลอดสายการผลิตเพื่อวิเคราะห์อันตรายที่มีนัยสำคัญของแต่ละขั้นตอนคือ กลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* เมื่อใช้ปริมาณเกลือตามสายการผลิตและ GMP ข้อกำหนดในการผลิตที่ถูกควบคุม

การพบจุลินทรีย์ที่มีอันตรายจากการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับ Subramanian (2007) ซึ่งพบจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่มีการปนเปื้อน วัตถุประสงค์ เช่นเดียวกับการรายงานของพิเชษฐ์ (2549) ที่ตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *Escherichia coli* แต่ไม่พบ *Salmonella* sp. และ *Vibrio cholerae* ในปูนี้่ผสม

**ตารางที่ 11** ลักษณะทางเคมีและจุลชีววิทยาของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ปูแสมที่เน่าเสีย และปูแสมที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนสายการผลิต ในภาพที่ 7

ลักษณะ	ชนิดตัวอย่าง		
	ปูแสมสด	ปูแสมที่เน่าเสีย	ปูแสม
1. ทางเคมี			
ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	0.72	0.62	21.59
ปริมาณกรด (ร้อยละ)	0.12	0.09	0.08
ความเป็นกรด-เบส	8.41	8.37	8.05
ค่า $a_w$	0.97	0.97	0.82
2. ทางจุลชีววิทยา			
จุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)	$3.25 \times 10^6$	$2.15 \times 10^8$	$2.51 \times 10^4$
<i>Bacillus cereus</i> (CFU/g)	ND*	ND	ND
<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)	14	36	< 3
<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	$1.1 \times 10^2$	$1.9 \times 10^6$	ND
<i>Salmonella</i> sp./ 25 กรัม	ND	ND	ND
<i>Vibrio cholerae</i> / 25 กรัม	ND	ND	ND
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> / 25 กรัม	ND	ND	ND
<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/g)	ND	ND	ND
Yeast และ Mold (CFU/g)	ND	ND	ND

หมายเหตุ: \* รายงานว่าไม่พบจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 100 Est. (Swanson *et al.*, 1992)

## 2.1.2 การศึกษาคุณภาพของปูแสมสดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปูเค็ม

การศึกษาคุณภาพของปูแสมสดทำเพื่อใช้คัดเลือกวัตถุดิบในการผลิตปูเค็ม เพื่อควบคุมความสดที่ส่งผลต่อการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เบื้องต้น เพื่อผลิตปูเค็มที่ปลอดภัยไม่ทำให้อันตรายที่จะปนเปื้อน ณ จุดรับวัตถุดิบอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีวิธีการศึกษาในการเก็บรักษา 2 แบบ ได้แก่ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องตลอดเวลา 30 ชั่วโมง (เพื่อคัดเลือกวัตถุดิบเมื่อวัตถุดิบที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง) และการเก็บรักษาอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ในน้ำแข็งตลอด 15 วัน (เพื่อคัดเลือกวัตถุดิบเมื่อวัตถุดิบที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ในน้ำแข็ง)

### 2.1.2.1 การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้อง

#### 2.1.2.1.1 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องในคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยการประเมินดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) ที่สอดคล้องกับการให้คะแนนในตารางที่ 12 ของปูแสมทั้งตัวจาก 8 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ ตา ขา และก้าม จับปิ้ง กระจก เนื้อและกลิ่นของเนื้อ การยึดติดของกระจก (ด้านหลัง) และร่างส่วนใต้กระจก (ด้านท้อง) และการยึดติดของกล้ามเนื้อบริเวณขาและกระจก ซึ่งให้ค่า total demerit points อยู่ในช่วง 0-23 จากการทดลองคุณภาพจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องปูแสม พบว่าค่า QIM score มีค่าแปรผันตรงกับเวลาโดยให้ค่า  $0.67 \pm 0.58$ ,  $1.33 \pm 1.15$ ,  $7.33 \pm 3.05$ ,  $14.66 \pm 3.51$ ,  $21.00 \pm 1.00$  และ  $22.67 \pm 0.58$  ตามลำดับ โดยให้ค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.96 (ตารางที่ 13; ลำดับที่ 6) ให้ค่าการไม่ยอมรับ (acceptability level of consumer) ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงขึ้นไป (ตารางที่ 13; ลำดับที่ 7) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ค่า QIM ของปูแสมแปรผันตรงกับเวลาให้ค่าที่ไม่ยอมรับตั้งแต่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเก็บปูแสม ณ อุณหภูมิห้องสอดคล้องกับค่า QIM เท่ากับ  $21.00 \pm 1.00$  คะแนน จึงเสนอเป็นค่าที่แสดงการไม่ยอมรับปูแสมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปคือค่าที่มากกว่าหรือเท่ากับ 21.00 ( $\geq 21.00$  QIM score) เมื่อใช้ตารางที่ 12 (total demerit points ; 0-23) เป็นมาตรฐานการประเมิน

การศึกษาดัชนีประเมินคุณภาพในครั้งนี้สามารถเสนอสมการในการทำนายปูแสมสดที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ของ

คะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ ตามภาพที่ 8 มีสมการเป็น  $Y = 0.84X - 1.32$  ( $r^2 = 0.96$ ) ใช้ในการทำนายวัตถุดิบเมื่อทราบคะแนนประเมินคุณภาพหรือระยะเวลาในการเก็บรักษา

#### 2.1.2.1.2 คุณภาพดัชนีทางเคมี

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปุ๋ยผสมสดจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องในดัชนีทางเคมี (ความเป็นกรด-เบส ค่า  $a_w$  ปริมาณ TVB-N (Total volatile basic nitrogen: ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด) และความชื้น) จากตารางที่ 13 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปุ๋ยผสมสดในค่าทางเคมีจากชั่วโมงที่ 0 เป็น  $7.39 \pm 0.09$ ,  $0.97 \pm 0.01$ ,  $15.03 \pm 1.97$  mg/100 กรัม ตัวอย่าง และร้อยละ  $64.72 \pm 2.15$  ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ผู้บริโภคมองรับ และแสดงการไม่ยอมรับของผู้บริโภคในชั่วโมงที่ 24 ของการเก็บรักษามีค่าทางเคมีเป็น  $7.92 \pm 0.08$ ,  $0.98 \pm 0.01$ ,  $59.56 \pm 5.70$  mg/100 กรัม ตัวอย่าง และร้อยละ  $66.29 \pm 0.99$  ตามลำดับ โดยให้ค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.749, 0.817, 0.965 และ 0.450 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าสหสัมพันธ์ของค่า TVB-N ที่มีประสิทธิภาพสูง ( $r^2 \geq 0.900$ ) จึงพิจารณาให้ค่า TVB-N เป็นเกณฑ์การยอมรับวัตถุดิบปุ๋ยผสมในดัชนีทางเคมี

#### 2.1.2.1.3 คุณภาพดัชนีทางจุลชีววิทยา

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปุ๋ยผสมสดจากการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องในดัชนีทางจุลชีววิทยา (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง) จากตารางที่ 13 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปุ๋ยผสมสดมีค่าแปรผันตรงกับระยะเวลาการเก็บรักษา ในปริมาณที่ยอมรับได้เป็น  $7.56 \pm 0.25$  log CFU/g โดยให้ค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.933 (ตารางที่ 13; ลำดับที่ 5)

เนื่องจากการประเมินทางประสาทสัมผัส มีข้อด้อยในเรื่องความต้องการผู้ประเมินที่มีความชำนาญ ดัชนีทางเคมีและจุลชีววิทยาจึงมีความสำคัญที่นักวิชาการเสนอขึ้นมาเพื่อชดเชยข้อด้อยของวิธีทางประสาทสัมผัส และทดแทนการประเมินที่ต้องใช้ผู้ประเมินที่ชำนาญผ่านการใช้เครื่องมือแทน เพื่อแสดงประสิทธิภาพการเป็นดัชนีชี้บ่งความสดของแต่ละดัชนี (มีเกณฑ์พิจารณาว่าดัชนีที่มีประสิทธิภาพสูงจะมีค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ )  $\geq 0.9000$ ) เมื่อพิจารณาในคุณภาพดัชนีทางเคมีพบว่า ปริมาณ TVB-N ( $r^2 = 0.965$ ) และคุณภาพดัชนีทางจุลชีววิทยาในปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง ( $r^2 = 0.965$ ) และเพื่อยืนยัน

ประสิทธิภาพของดัชนีทั้งสอง จึงศึกษาความสัมพันธ์ของค่าสหสัมพันธ์ระหว่างดัชนี QIM กับดัชนีทางเคมีและดัชนีทางจุลชีววิทยา แสดงได้ดังตารางที่ 14 ดัชนีที่ให้ความแปรผันตรงสูงจะพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) มากกว่าหรือเท่ากับ 0.900 จากผลการทดลองพบว่า ดัชนีความเป็นกรด-เบส TVB-N,  $a_w$ , ความชื้น ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง ให้ค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.74, 0.97, 0.82, 0.45 และ 0.93 ตามลำดับ ดัชนีที่ให้ความแปรผันตรงสูงตามเกณฑ์มีค่าเดียวคือ TVB-N ทำให้นำไปสู่ข้อสรุปได้ว่าดัชนีที่สอดคล้องมีความแปรผันตรงกับดัชนี QIM คือดัชนี TVB-N และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง ข้อสรุปนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นดัชนีบ่งชี้ความสดของวัตถุดิบปูแสม เพื่อตัดสินใจการยอมรับหรือไม่ยอมรับตัวอย่างเพื่อการแปรรูปหรือการจำหน่าย ใช้หเชยหรือยื่นยันกรณีไม่มีผู้ประเมินความสดที่เหมาะสมในการประเมินวัตถุดิบแบบประสาทสัมผัส และค่า TVB-N ที่ควรใช้แสดงเพื่อไม่ยอมรับตัวอย่าง คือค่ามากกว่าหรือเท่ากับ  $59.56 \pm 5.70$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 12 ดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) ที่เสนอเพื่อใช้ประเมินลักษณะของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853)

ปัจจัยกำหนดคุณภาพ	ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนน
ลักษณะปรากฏ	- ลำตัวสีม่วงดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวถึงเทา	0
	- ลำตัวสีดำซีด กระจกแข็ง อวัยวะครบ ส่วนท้องสีเขียว	1
	- ลำตัวไม่มันเงาสีดำซีด มีน้ำออกจากตัวปู กระจกนูนเล็กน้อย อวัยวะครบ	2
	- ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียวคล้ำ กระจกนูนมีน้ำออกมาเมื่อกด	3
ตา	- ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง	0
	- ตาขุ่น ก้านตาอ่อน	1
	- ก้านตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุ่นขาว	2
ขาและก้าม	- ขาสีม่วงดำ ขาแน่น เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว	0
	- ขาสีซีดเล็กน้อย ขาตกลงจากแนวลำตัวเล็กน้อย ขาแน่น	1
	- ขาสีม่วงถึงดำซีด ขาตกลงจากแนวลำตัวมาก ขาและก้ามแน่น	2
	- ขาสีซีดถึงจุดดำ ขาตกลงแนวโค้ง ขานิ่ม	3
จับปิ้ง (ด้านท้อง)	- จับปิ้งสีขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิดกระจกเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิท	0
	- จับปิ้งสีขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่นถึงคล้ำเล็กน้อย มีน้ำสีดำบริเวณฝากระจก ฝาปิดหน้าท้องเปิดเล็กน้อย	1
	- จับปิ้งสีเทาถึงเขียวเล็กน้อยไม่มันเงา ฝาปิดไม่สนิทเปิดเล็กน้อย เหงือกสีน้ำตาลคล้ำ มีน้ำออกจากตัวปูเมื่อกด	2
	- จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะภายในตัวปู ฝาท้องปิดไม่สนิท เหงือกมีสีดำ	3

## ตารางที่ 12 (ต่อ)

ปัจจัยกำหนด คุณภาพ	ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนน
กระดอง (ด้านหลัง)	- กระดองสีดำเป็นเงามัน ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง	0
	- กระดองสีดำ-ม่วง-เหลืองซีดเล็กน้อย ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เนื้อสีเทาเข้ม	1
	- กระดองสีดำ เปิดกระดองมีเมือก อวัยวะภายในสีดำ มีโพรงอากาศบริเวณกระดองบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง	2
	- กระดองสีเทาซีด มีโพรงอากาศบริเวณกระดองบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เมื่อกดมีน้ำออก	3
เนื้อและกลิ่นเนื้อ	- ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น	0
	- กลิ่นคาว เนื้อนุ่มเล็กน้อย	1
	- มีกลิ่นคาวมากถึงมีกลิ่นแอมโมเนียเล็กน้อย เนื้อนุ่ม	2
	- มีกลิ่นแอมโมเนียสูง กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อนุ่มมาก	3
การยึดติดของกระดอง (ด้านหลัง)และ ร่างกายส่วนใต้ กระดอง (ด้านท้อง)	- แน่นทั้งสองด้าน	0
	- ด้านหลัง (กระดอง) แน่น ด้านท้องนุ่มเล็กน้อย	1
	- ด้านหลัง (กระดอง) นุ่มเล็กน้อย ด้านท้องนุ่ม	2
	- นุ่มทั้งสองด้าน	3
การยึดติดของ กล้ามเนื้อ บริเวณขาและ กระดอง	- ยึดติดกันแน่น	0
	- ยึดติดกันแน่น กล้ามเนื้ออ่อนตัวเล็กน้อย	1
	- ยึดติดกันแน่นปานกลาง กล้ามเนื้ออ่อนตัวลงปานกลาง	2
	- การยึดติดขาและกระดองอ่อนตัวมาก กล้ามเนื้ออ่อนตัวมาก	3

หมายเหตุ: คะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ หรือ Total demerit points

(0-23)

ตารางที่ 13 ลักษณะทางเคมี จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลา 30 ชั่วโมง

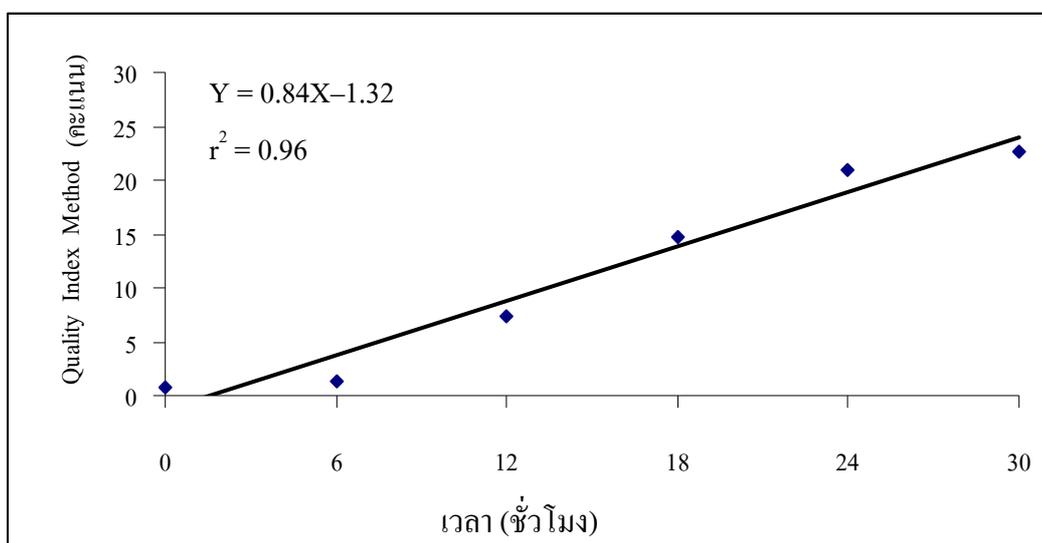
ลำดับ ที่	ลักษณะ (Unit±SD; n=3)	เวลา (ชั่วโมง)						Coefficient of determination (r <sup>2</sup> )
		0	6	12	18	24	30	
<b>ลักษณะทางเคมี</b>								
1	ความเป็นกรด-เบส	7.39±0.09	7.65±0.05	7.91±0.01	7.81±0.05	7.924±0.08	7.94±0.02	0.749
2	ค่า a <sub>w</sub> *	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.98±0.01	0.98±0.01	0.817
3	ปริมาณ TVB-N ** (mg/100 กรัม ตัวอย่าง)	15.03±1.97	18.11±2.52	28.17±1.76	41.36±3.67	59.56±5.70	66.88±5.22	0.965
4	ความชื้น (ร้อยละ)	64.72±2.15	66.23±0.63	67.62±1.76	67.35±2.15	66.29±0.99	67.56±2.32	0.450
<b>ลักษณะทางจุลชีววิทยา</b>								
5	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (Total mesotrophic bacteria) (log CFU/g)	5.65±0.95	6.36±0.71	6.93±0.61	7.52±0.58	7.56±0.25	7.87±0.16	0.933
<b>ลักษณะทางประสาทสัมผัส</b>								
6	ค่าเฉลี่ย QIM *** (คะแนน)	0.67±0.58	1.33±1.15	7.33±3.05	14.66±3.51	21.00±1.00	22.67±0.58	0.960
7	การยอมรับของผู้บริโภค ****	+++	+++	++	++	-	-	

หมายเหตุ: \* Water activity, \*\* Total Volatile Basic Nitrogen, \*\*\* Quality Index Method, \*\*\*\* + การยอมรับของผู้บริโภค; - การไม่ยอมรับของผู้บริโภค

ตารางที่ 14 Coefficient of determination ( $r^2$ ) ของดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) กับลักษณะอื่นของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลา 30 ชั่วโมง

ลักษณะ	Coefficient of determination ( $r^2$ )
ลักษณะทางเคมี	
ความเป็นกรด-เบส	0.74
ปริมาณค่าที่ระเหยทั้งหมด (TVB-N*)	0.97
ค่า $a_w$	0.82
ความชื้น	0.45
ลักษณะทางจุลชีววิทยา	
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (Total mesotrophic bacteria)	0.93

หมายเหตุ: \* Total Volatile Basic Nitrogen



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ของคะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) จากการประเมินทางประสาทสัมผัสของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลา 0, 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

ตารางที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method:QIM) ดัชนีทางเคมี (Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N) ที่เปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว 30 ชั่วโมง ของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (ชั่วโมง)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนนเฉลี่ย $\pm$ SD จากการประเมิน ; n=3	ปริมาณค่าที่ระเหยได้ทั้งหมด: TVB-N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3
0	 	<p>ลำตัวสีม่วง-ดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวถึงเทา ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง ขาสีม่วง-ดำ ขาแน่น เกร็ง ไม่ตกจากแนวลำตัว จับบั้งสีขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิด กระจกเงเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิท กระจกสีดำเป็นเงามัน ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น แน่นทั้งสองด้าน ชิดติดกันแน่น</p>	0.67 $\pm$ 0.58	15.03 $\pm$ 1.97
6	 	<p>ลำตัวสีม่วง-ดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวถึงเทา ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง ขาสีซีดเล็กน้อย ขาดกลางจากแนวลำตัวเล็กน้อย ขาแน่น จับบั้งสีขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิดกระจกเงเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิท กระจกสีดำเป็นเงามัน ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น แน่นทั้งสองด้าน ชิดติดกันแน่น</p>	1.33 $\pm$ 1.15	18.11 $\pm$ 2.52

ตารางที่ 15 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนน เฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน ; n=3	ปริมาณค่าที่ ระเหยได้ทั้งหมด: TVB-N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3
12		<p>ลำตัวสีดำซีด กระดองแข็ง อวัยวะครบ ส่วนท้องสีเขียว ตาขุ่น ก้านตาอ่อน ขาสีซีดเล็กน้อย ขาดกลจากแนวลำตัว เล็กน้อย ขาแน่น จับปิ้งสีขาขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาขุ่น ถึงคล้ำเล็กน้อย มีน้ำสีดำบริเวณฝากระดอง ฝาปิดหน้า ท้องเปิดเล็กน้อย จับปิ้งสีขาขุ่นเป็นเงา กลิ่นคาว เนื้อนุ่ม เล็กน้อย แน่นทั้งสองด้าน ยึดติดกันแน่น</p>	7.33 $\pm$ 3.05	28.17 $\pm$ 1.76
18		<p>ลำตัวไม่มันเงาสีดำซีด มีน้ำออกจากตัวปู กระดองนุ่ม เล็กน้อย อวัยวะครบ ตาขุ่น ก้านตาอ่อน ขาสีม่วงถึงดำซีด ขาดกลจากแนวลำตัวมาก จับปิ้งสีขาขุ่นเป็นเงา เหงือก สีขาขุ่นถึงคล้ำเล็กน้อย มีน้ำสีดำบริเวณฝากระดอง ฝา ปิดหน้าท้องเปิดเล็กน้อย กระดองสีดำ-ม่วง-เหลืองซีด เล็กน้อย ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เนื้อสีเทาเข้ม มีกลิ่นคาวมากถึงมีกลิ่นแอมโมเนียเล็กน้อย เนื้อนุ่ม ด้านหลัง (กระดอง) นุ่มเล็กน้อย ด้านท้องนุ่ม ยึด ติดกันแน่น กล้ามเนื้ออ่อนตัวเล็กน้อย</p>	14.66 $\pm$ 3.51	41.36 $\pm$ 3.67

ตารางที่ 15 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนนเฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน ; n=3	ปริมาณค่าที่ ระเหยได้ ทั้งหมด: TVB- N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3
* 24		<p>ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียว คล้ำ กระจกนัยมีน้ำออกมาเมื่อกด ก้านตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุนขาวขาวสีม่วงถึงดำซีด ขาดกลางจาก แนวลำตัวมาก ขาและก้ามแน่น จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสี ดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะในตัวปู ฟาท้องปิด ไม่สนิท เหงือกมีสีดำ กระจกสีดำ เปิดกระจกมี เมือก อวัยวะภายในสีดำ มีโพรงอากาศบริเวณ กระจกบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง มีกลิ่น แอมโมเนียสูง กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อ นุ่มมากนุ่มทั้งสองด้าน ชีตติดกันแน่นปานกลาง ก้ามเนื้ออ่อนตัวลงปานกลาง</p>	21.00 $\pm$ 1.00	59.56 $\pm$ 5.70

ตารางที่ 15 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนนเฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน ; n=3	ปริมาณต่างที่ ระเหยได้ ทั้งหมด: TVB- N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3
* 30		<p>ลำตัวสีดำเทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียวคล้ำ กระจกนืมน้ำออกมาเมื่อกด ก้นตาอ่อนมาก ขาสีเขียวถึงจุดดำ ขาดกลางแนวตั้ง ขานิ่ม จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะภายในตัวปู ฝาท้องปิดไม่สนิท เหงือกมีสีดำ กระจกสีเทาซีด มีโพรงอากาศบริเวณกระจกบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เมื่อกดมีน้ำออก มีกลิ่นแอมโมเนียสูง กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อนุ่มมาก นิ่มทั้งสองด้าน การยึดติดยาและกระจกอ่อนตัวมาก กล้ามเนื้ออ่อนตัวมาก</p>	22.67 $\pm$ 0.58	66.88 $\pm$ 5.22

หมายเหตุ: \* ระยะเวลาและลักษณะที่ผู้บริโภคนิยมไม่ยอมรับ

## 2.1.2.2 การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษาอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสในน้ำแข็ง

### 2.1.2.2.1 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษาอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสในน้ำแข็งประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยผ่านดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) ที่สอดคล้องกับการให้คะแนนในตารางที่ 12 ของปูแสมทั้งตัวจาก 8 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ ตา ขาและก้าม จับปิ้ง กระจก เนื้อและกลิ่นของเนื้อ การยึดติดของกระจก (ด้านหลัง) และร่องส่วนใต้กระจก (ด้านท้อง) และการยึดติดของกล้ามเนื้อบริเวณขาและกระจก ซึ่งให้ค่า total demerit points อยู่ในช่วง 0-23 จากการนำปูแสมทั้งหมด ผลที่ได้พบว่าค่า QIM score มีค่าแปรผันตรงกับระยะเวลาการเก็บรักษา มีค่าเป็น  $0.67 \pm 0.58$ ,  $10.00 \pm 1.00$ ,  $14.00 \pm 1.00$ ,  $16.00 \pm 1.73$ ,  $22.00 \pm 1.00$  และ  $23.00 \pm 0.00$  ตามลำดับ และมีค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.93 (ตารางที่ 16; ลำดับที่ 7) แสดงการไม่ยอมรับ (acceptability level of consumer) ตั้งแต่ 12 วันขึ้นไป (ตารางที่ 16; ลำดับที่ 8) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ค่า QIM ของปูแสมแปรผันตรงกับเวลาให้ค่าที่ไม่ยอมรับตั้งแต่เวลา 12 วัน เมื่อเก็บปูแสมในน้ำแข็งสอดคล้องกับค่า QIM เท่ากับ  $22.00 \pm 1.00$  จึงใช้เป็นค่าที่เสนอได้ว่า ค่า QIM ในการไม่ยอมรับปูแสมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปคือค่าที่มากกว่าหรือเท่ากับ 22.00 ( $\geq 22.00$  QIM score) เมื่อใช้ตารางที่ 12 (total demerit points; 0-23) เป็นมาตรฐานการประเมิน

การศึกษาดัชนีประเมินคุณภาพในครั้งนี้สามารถเสนอสมการในการทำนายปูแสมสดที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสในน้ำแข็งได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ของคะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ ตามภาพที่ 9 มีสมการเป็น  $Y = 1.44X + 3.57$  ( $r^2 = 0.93$ ) ใช้ในการทำนายวัตถุดิบเมื่อทราบคะแนนประเมินคุณภาพหรือระยะเวลาในการเก็บรักษา

### 2.1.2.1.2 คุณภาพดัชนีทางเคมี

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษาในน้ำแข็งในดัชนีทางเคมี (ความเป็นกรด-เบส ค่า  $a_w$  ปริมาณ TVB-N (Total volatile basic nitrogen: ปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด) และความชื้น จากตารางที่ 16 ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลง

หลังการเก็บเกี่ยวของปูแสมสดในค่าทางเคมีจากวันที่ 0 มีค่าเป็น  $7.31 \pm 0.11$ ,  $0.98 \pm 0.01$ ,  $16.62 \pm 1.49$  mg/100 กรัม ตัวอย่าง และร้อยละ  $64.80 \pm 2.09$  ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ผู้บริโภครับ และการไม่ยอมรับของผู้บริโภคในวันที่ 12 ของการเก็บรักษาเป็นต้น ไปให้ค่าทางเคมีเป็น  $8.17 \pm 0.15$ ,  $0.97 \pm 0.01$ ,  $28.99 \pm 0.94$  mg/100 กรัม ตัวอย่าง และร้อยละ  $68.87 \pm 1.02$  ตามลำดับ โดยให้ค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.607, 0.414, 0.814 และ 0.717 ตามลำดับ

#### 2.1.2.1.4 คุณภาพดัชนีทางจุลชีววิทยา

การศึกษาดัชนีคุณภาพของปูแสมสดจากการเก็บรักษาในน้ำแข็งในดัชนีทางจุลชีววิทยา (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ) จากตารางที่ 16 ผลการทดลองพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำมีการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปูแสมสด ซึ่งให้ค่าที่แปรผันตรงกับระยะเวลาการเก็บรักษา แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำเป็น  $7.49 \pm 0.16$  log CFU/g ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งเป็นระดับที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับ และมีค่าสหสัมพันธ์ [Correlation coefficient ( $r^2$ )] เท่ากับ 0.952 (ตารางที่ 16; ลำดับที่ 5) และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง มีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.007 (ตารางที่ 16; ลำดับที่ 6)

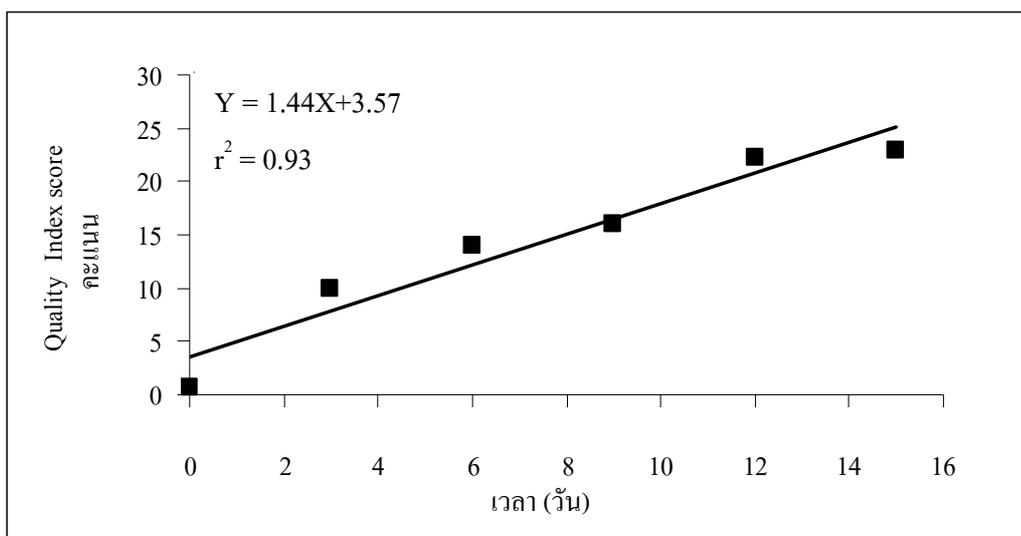
เนื่องจากการประเมินทางประสาทสัมผัส มีข้อด้อยในเรื่องความต้องการผู้ประเมินที่มีความชำนาญ ดัชนีทางเคมีและจุลชีววิทยาจึงมีความสำคัญที่นักวิชาการเสนอขึ้นมาเพื่อชดเชยข้อด้อยของวิธีทางประสาทสัมผัส และทดแทนการประเมินที่ต้องใช้ผู้ประเมินที่ชำนาญผ่านการใช้เครื่องมือแทน เพื่อบ่งชี้ประสิทธิภาพการเป็นดัชนีชี้บ่งความสดของแต่ละดัชนี (มีเกณฑ์พิจารณาว่าดัชนีมีประสิทธิภาพสูงจะมีค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ )  $\geq 0.9000$ ) เมื่อพิจารณาในคุณภาพดัชนีทางจุลชีววิทยาพบว่าในปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ( $r^2 = 0.952$ ) และเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของดัชนีทั้งสอง จึงศึกษาความสัมพันธ์ของค่าสหสัมพันธ์ระหว่างดัชนี QIM กับดัชนีทางเคมีและดัชนีทางจุลชีววิทยา แสดงได้ดังตารางที่ 17 ดัชนีที่ให้ความแปรผันตรงสูงจะพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) มากกว่าหรือเท่ากับ 0.900 จากผลการทดลองพบว่า ดัชนี ความเป็นกรด-เบส TVB-N,  $a_w$ , ความชื้น ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ให้ค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.81, 0.95, 0.38, 0.87, 0.07 และ 0.94 ตามลำดับ ดัชนีที่ให้ความแปรผันตรงสูงตามเกณฑ์ คือ TVB-N และปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้นำไปสู่ข้อสรุปได้ว่าดัชนีที่สอดคล้องมีความแปรผันตรงกับดัชนี QIM คือดัชนี TVB-N และ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ข้อสรุปนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นดัชนีบ่งชี้ความสดของวัตถุดิบปูแสม เพื่อตัดสินใจการยอมรับหรือไม่ยอมรับ

ตัวอย่างเพื่อการแปรรูปหรือการจำหน่าย ใช้ชดเชยหรือยืนยันกรณีไม่มีผู้ประเมินความสดที่เหมาะสมในการประเมินวัตถุดิบแบบประสาทสัมผัส และค่า TVB-N ที่ควรใช้แสดงเพื่อไม่ยอมรับ ตัวอย่าง คือ ค่ามากกว่าหรือเท่ากับ  $28.99 \pm 0.94$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง (ตารางที่ 18) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานของ Subramanian (2007) ซึ่งพบว่าค่า TVB-N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ ( $P < 0.001$ ) เมื่อปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดเน่าเสียเพิ่มในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นในปุศตที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง

ตารางที่ 16 ลักษณะทางเคมี จุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ที่เก็บรักษาในน้ำแข็งตลอดระยะเวลา 15 วัน

ลำดับ ที่	ลักษณะ (Unit±SD; n=3)	เวลา (วัน)						Coefficient of determination (r <sup>2</sup> )
		0	3	6	9	12	15	
<b>ลักษณะทางเคมี</b>								
1	ความเป็นกรด-เบส	7.31±0.11	7.95±0.19	8.08±0.11	8.15±0.02	8.17±0.15	8.12±0.15	0.607
2	ค่า a <sub>w</sub> *	0.98±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.01	0.414
3	ปริมาณ TVB-N ** (mg/100 g ตัวอย่าง)	16.62±1.49	24.20±1.48	26.73±0.49	27.35±0.36	28.99±0.94	30.02±0.74	0.814
4	ความชื้น (ร้อยละ)	64.80±2.09	66.43±2.34	67.33±2.11	66.54±0.76	68.87±1.02	67.94±2.13	0.717
<b>ลักษณะทางจุลชีววิทยา</b>								
5	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (Total mesotrophic bacteria) (log CFU/g)	5.18±0.24	5.71±0.38	5.66±0.26	5.91±0.16	5.57±0.27	5.30±0.31	0.007
6	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Total psychrotrophic bacteria) (log CFU/g)	4.99±0.00	5.83±0.11	6.35±0.16	7.49±0.16	8.14±0.20	8.13±0.30	0.952
<b>ลักษณะทางประสาทสัมผัส</b>								
7	ค่าเฉลี่ย QIM *** (คะแนน)	0.67±0.58	10.00 ± 1.00	14.00 ± 1.00	16.00±1.73	22.00±1.00	23.00±0.00	0.933
8	การยอมรับของผู้บริโภค ****	+++	+++	++	++	-	-	

หมายเหตุ: \* Water activity, \*\* Total Volatile Basic Nitrogen, \*\*\* Quality Index Method, \*\*\*\* + การยอมรับของผู้บริโภค, - การไม่ยอมรับของผู้บริโภค



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ของคะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) จากการประเมินทางประสาทสัมผัสของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ณ เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 วัน

ตารางที่ 17 Coefficient of determination ( $r^2$ ) ของดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) กับลักษณะอื่นของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในการเก็บรักษาในน้ำแข็งตลอดระยะเวลา 15 วัน

ลักษณะ	Coefficient of determination ( $r^2$ )
ลักษณะทางเคมี	
ความเป็นกรด-เบส (pH)	0.81
ปริมาณค่าที่ระเหยทั้งหมด (TVB-N*)	0.95
ค่า $a_w$	0.38
ความชื้น	0.87
ลักษณะทางจุลชีววิทยา	
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (Total mesotrophic bacteria)	0.07
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Total psychrotrophic bacteria)	0.94

หมายเหตุ: \* Total Volatile Basic Nitrogen

**ตารางที่ 18** ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method:QIM) ดัชนีทางเคมี (Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N) และดัชนีทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ) ที่เปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ในสถานะการเก็บรักษาในน้ำแข็ง

ระยะ เวลา หลัง การเก็บ (วัน)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนน เฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน; n=3	ปริมาณค่าที่ ระเหยได้ ทั้งหมด: TVB-N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง) ; n=3	จุลินทรีย์ที่ เจริญได้ที่ อุณหภูมิต่ำ $\pm$ SD (log CFU/g) ; n=3
0		ลำตัวสีม่วง-ดำเป็นเงา กระดองแข็ง ตาใสดำก้ามตาแข็ง ขาแน่นสีม่วง-ดำ เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว จับปิ้งขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น ฝาหน้าท้องปิดสนิท ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น กระดองและท้องแข็ง การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระดองแน่น	0.67 $\pm$ 0.58	16.62 $\pm$ 1.49	4.99 $\pm$ 0.00
3		ลำตัวสีดำซีด ขาซีดเล็กน้อย ขาตกลงจากแนวลำตัวเล็กน้อย กระดองแข็ง ตาขุ่น ก้านตาอ่อน จับปิ้งขาวขุ่นถึงเหลืองเป็นเงา เหงือกขาวขุ่นถึงคล้ำเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นความมากถึงมีกลิ่นแอมโมเนียเล็กน้อย กระดองสีดำ-ม่วงซีดเล็กน้อย นิ่มเล็กน้อยและท้องนิ่ม เมื่อกดมีน้ำออก การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระดองแน่น	10.00 $\pm$ 1.00	24.20 $\pm$ 1.48	5.83 $\pm$ 0.11

ตารางที่ 18 (ต่อ)

ระยะ เวลา หลัง การเก็บ (วัน)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนน เฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน; n=3	ปริมาณค่าที่ ระเหยได้ ทั้งหมด: TVB-N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3	จุลินทรีย์ที่ เจริญได้ที่ อุณหภูมิต่ำ $\pm$ SD (log CFU/g); n=3
6		ลำตัวสีดำซีดไม่เป็นมันเงา กระดองสีดำ นิ่มเล็กน้อย เปิดกระดองมีเมือก ตาขุ่นก้านตาอ่อน ขาดกลางจากแนว ลำตัวมาก ขาสีม่วงถึงดำซีด นิ่มเล็กน้อย จับปิ้งสีเทาถึง เขียวเล็กน้อย ไม่มีเงา เหงือกสีน้ำตาลคล้ำ ฝาปิดไม่สนิท เปิดเล็กน้อย กลิ่นความมากถึงกลิ่นแอมโมเนียเล็กน้อย เนื้อนุ่ม การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระดองแน่น กล้ามเนื้ออ่อนตัวเล็กน้อย	14.00 $\pm$ 1.00	26.73 $\pm$ 0.49	6.35 $\pm$ 0.16
9		ลำตัวสีดำซีด มีน้ำออกจากตัวปู กระดองนุ่มเล็กน้อย อวัยวะครบ ตาขุ่นก้านตาอ่อน ขาดกลางจากแนวลำตัว มาก ขาแน่น สีม่วงถึงดำซีด จับปิ้งสีเทาถึงเขียวเล็กน้อย เหงือกสีน้ำตาลคล้ำ มีกลิ่นความมากถึงมีกลิ่นแอมโมเนีย เล็กน้อย เนื้อนุ่ม ท้องนุ่ม กระดองและขายึดติดกันแน่น กล้ามเนื้ออ่อนตัวเล็กน้อย	16.00 $\pm$ 1.73	27.35 $\pm$ 0.36	7.49 $\pm$ 0.16

ตารางที่ 18 (ต่อ)

ระยะเวลา หลัง การเก็บ (วัน)	ภาพประกอบ	ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส	คะแนน เฉลี่ย $\pm$ SD จากการ ประเมิน; n=3	ปริมาณค่าที่ ระเหยได้ ทั้งหมด: TVB-N $\pm$ SD (mg/100g ตัวอย่าง); n=3	จุลินทรีย์ที่ เจริญได้ที่ อุณหภูมิค่า $\pm$ SD (log CFU/g); n=3
* 12		ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด จับปิ้งสีเขียวคล้ำ เหงือกสีดำ ฝาท้องปิดไม่สนิท มีน้ำออกมาเมื่อกด ก้าน ตาอ่อนมาก ตาสีดำคล้ำถึงขุ่นขาว ขาน้ำมี สีซีดถึงจุดดำ ขาตกลงแนวตั้ง อวัยวะภายในสีดำเยื่อหุ้มขาด มีกลิ่น แอมโมเนียสูง เนื้อนุ่มมาก ข้อต่อก้ามและขาอ่อน มี โพรงอากาศบริเวณกระดองเล็กน้อย	22.00 $\pm$ 1.00	28.99 $\pm$ 0.94	8.14 $\pm$ 0.20
* 15		ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด จับปิ้งสีเขียวคล้ำ เหงือกสีดำ ฝาท้องปิดไม่สนิท มีน้ำออกมาเมื่อกด ก้าน ตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุ่นขาว ขาน้ำมี สีซีดถึงจุดดำ ขา ตกลงแนวตั้ง อวัยวะภายในสีดำเยื่อหุ้มขาด มีกลิ่น แอมโมเนียสูง เนื้อนุ่มมาก ข้อต่อก้ามและขาอ่อน มี โพรงอากาศบริเวณกระดองเล็กน้อย	23.00 $\pm$ 0.00	30.02 $\pm$ 0.74	8.13 $\pm$ 0.30

หมายเหตุ: \* ระยะเวลาและลักษณะที่ผู้บริโภคนำมารับประทาน

### 2.1.3 การศึกษาอันตรายจากวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ตลอดขั้นตอนการผลิต ณ ห้องปฏิบัติการ

ตามการศึกษาข้อ 2.1.2 ได้เสนออันตรายที่นัยสำคัญและต้องตรวจในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปุ๋ยเคมี) ไว้แล้ว การทดลองนี้ทำเพื่อระบุขั้นตอนและวัตถุดิบเพื่อแสดงที่มาชนิดและของจำนวนอันตรายโดยแสดงการศึกษาอันตรายทางจุลชีววิทยาร่วมกับปัจจัยทางเคมีที่มีผลต่อการเติบโตในวัตถุดิบและขั้นตอนการผลิตปุ๋ยเคมี ด้วยการผลิตปุ๋ยเคมีตามภาพที่ 7 ตัวอย่างแต่ละขั้นตอนทำการวิเคราะห์ ได้แก่ ปุ๋ยผสมสด เกลือเม็ด เกลือเม็ดผสมน้ำสเตอร์ไรส์ (น้ำเกลืออิมตัว) ปุ๋ยผสมสดล้างน้ำ ปุ๋ยผสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง และปุ๋ยเคมี ณ เวลา 24 ชั่วโมง จากขั้นตอนการผลิต 4 ขั้นตอน (ขั้นตอนการรับและล้างปุ๋ยผสม ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ และขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี) นำตัวอย่างวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ดังกล่าววิเคราะห์ลักษณะทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria) และลักษณะทางเคมี (ปริมาณเกลือ ปริมาณกรดความเป็นกรด-เบส และค่า  $a_w$ ) ผลจากการทดลองพบว่า จากตารางที่ 19 จุลินทรีย์ทั้งหมดตรวจพบทุกตัวอย่าง, *E. coli* ตรวจพบในปุ๋ยผสมสด, ปุ๋ยผสมล้างน้ำ และปุ๋ยผสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง ( $7.4 \pm 6.59 \times 10^2$ ,  $6.7 \pm 4.61 \times 10^2$  และ  $4.8 \pm 2.08 \times 10^2$  CFU/g ตามลำดับ), *S. aureus* ตรวจพบในปุ๋ยผสมสด ปุ๋ยผสมล้างน้ำ ปุ๋ยผสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง และปุ๋ยเคมี ณ 24 ชั่วโมง ( $5.5 \pm 9.12 \times 10^3$ ,  $1.1 \pm 1.65 \times 10^3$ ,  $3.5 \pm 5.63 \times 10^3$  และ  $1.0 \pm 0.00 \times 10^2$  CFU/g ตามลำดับ), Slightly halotrophic bacteria ตรวจพบทุกตัวอย่าง ( $1.1 \pm 0.23 \times 10^6$ ,  $2.6 \pm 0.17 \times 10^2$ ,  $1.2 \pm 1.68 \times 10^3$ ,  $1.0 \pm 0.25 \times 10^6$ ,  $7.5 \pm 0.81 \times 10^5$  และ  $9.2 \pm 0.68 \times 10^5$  CFU/g ตามลำดับ) และ Extremely halotrophic bacteria ตรวจพบในเกลือเม็ด และปุ๋ยเคมี ณ เวลา 24 ชั่วโมง ( $5.0 \pm 8.66 \times 10^2$  และ  $6.7 \pm 1.15 \times 10^2$  CFU/g ตามลำดับ) จากข้อมูลทั้งหมดนำไปสู่ข้อเสนอก่อนที่อันตรายทางจุลชีววิทยาในสายการผลิตน้ำเกลืออิมตัวในขั้นตอนการได้น้ำเกลืออิมตัว คือ จุลินทรีย์ทั้งหมดและ เชื้อ Slightly halotrophic bacteria และอันตรายทางจุลชีววิทยาจากสายวัตถุดิบ (ปุ๋ยผสม) ในขั้นตอนการได้ปุ๋ยเคมีได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, เชื้อ Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria ซึ่งสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปประกอบการพิจารณาการกำหนดจุดวิกฤตทางจุลินทรีย์ในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 19 ชนิดและปริมาณของลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีของวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์แต่ละขั้นตอน ตลอดจนการผลิตรูปภาพที่ 7

ลำดับที่	ชนิดตัวอย่าง	ลักษณะทางจุลชีววิทยา (CFU/g $\pm$ SD, n**=3)				
		จุลินทรีย์ทั้งหมด	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Slightly halotrophic bacteria	Extremely halotrophic bacteria
<b>วัตถุดิบ</b>						
1	ปุ๋ยผสมสด	$5.2 \pm 2.99 \times 10^6$	$7.4 \pm 6.59 \times 10^2$	$5.5 \pm 9.12 \times 10^3$	$1.1 \pm 0.23 \times 10^6$	ND*
2	เกลือเม็ด	$9.8 \pm 2.31 \times 10$	ND	ND	$2.6 \pm 0.17 \times 10^2$	$5.0 \pm 8.66 \times 10^2$
<b>ขั้นตอนการผลิต 4 ขั้นตอน</b>						
[ขั้นตอนการรับและล้างน้ำ (1), ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2), ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ (3) และ ขั้นตอนการหมักปุ๋ย (4)]						
3	ปุ๋ยผสมสดล้างน้ำ (1)	$4.8 \pm 3.74 \times 10^6$	$6.7 \pm 4.61 \times 10^2$	$1.1 \pm 1.65 \times 10^3$	$1.0 \pm 0.25 \times 10^6$	ND
4	เกลือเม็ดผสมน้ำสเตอร์ไรต์ (น้ำเกลืออิมตัว) (2)	$8.0 \pm 5.19 \times 10$	ND	ND	$1.2 \pm 1.68 \times 10^3$	ND
5	ปุ๋ยผสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง (3)	$3.1 \pm 2.59 \times 10^6$	$4.8 \pm 2.08 \times 10^2$	$3.5 \pm 5.63 \times 10^3$	$7.5 \pm 0.81 \times 10^5$	ND
6	ปุ๋ยเต็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง (4)	$1.7 \pm 1.33 \times 10^5$	ND	$1.0 \pm 0.00 \times 10^2$	$9.2 \pm 0.68 \times 10^5$	$6.7 \pm 1.15 \times 10^2$

ตารางที่ 19 (ต่อ)

ลำดับที่	ชนิดตัวอย่าง	ลักษณะทางเคมี (Unit ± SD, n**=3)			
		ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณกรด (ร้อยละ)	ความเป็นกรด-เบส	ค่า a <sub>w</sub>
<b>วัตถุดิบ</b>					
1	ปุ๋ยผสมสด	0.27 ± 0.11	0.13 ± 0.03	8.28 ± 0.17	0.97 ± 0.00
2	เกลือเม็ด	80.61 ± 6.81	-	7.82 ± 0.01	0.72 ± 0.01
<b>ขั้นตอนการผลิต 4 ขั้นตอน</b>					
[ขั้นตอนการรับและล้างน้ำ (1), ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมัตัว (2), ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ (3) และ ขั้นตอนการหมักปุ๋ย (4)]					
3	ปุ๋ยผสมสดล้างน้ำ (1)	0.31 ± 0.08	0.11 ± 0.03	8.33 ± 0.18	0.97 ± 0.01
4	เกลือเม็ดผสมน้ำสเตอร์ไรส์ (น้ำเกลืออิมัตัว) (2)	42.58 ± 2.04	-	7.22 ± 0.80	-
5	ปุ๋ยผสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง (3)	2.17 ± 0.17	0.10 ± 0.02	8.25 ± 0.13	0.95 ± 0.00
6	ปุ๋ยเต็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง (4)	20.53 ± 1.50	0.05 ± 0.01	8.19 ± 0.00	0.77 ± 0.01

หมายเหตุ: \* รายงานว่าไม่พบจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 100 Est. (Swanson *et al.*, 1992), \*\* ดำเนินการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, - ไม่มีการตรวจวิเคราะห์

2.1.4 การกำหนดจุดวิกฤต (Critical Control Point: CCP) ทางจุลชีววิทยาที่ได้จากการวิเคราะห์อันตรายในข้อ 2.1.1 และ 2.1.3 โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree)

การกำหนดจุดวิกฤต เป็นหลักการของระบบ HACCP ต้องควบคุมกระบวนการผลิตเพื่อป้องกันหรือขจัดหรือควบคุม อันตรายที่มีผลต่อความปลอดภัยของอาหาร หรือลดอันตรายจนถึงระดับที่ยอมรับได้ วิธีการศึกษาใช้แผนภูมิการตัดสินใจ ตามภาพที่ 6 และผลของหัวข้อการศึกษา 1.2, 2.1.1 และ 2.1.3 มาทำการวิเคราะห์ดังตารางที่ 20 จากขั้นตอนการผลิตทั้งหมด 4 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการรับและล้างปูแสม ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ และขั้นตอนการหมักปูเค็ม ผลที่ได้พบว่า ขั้นตอนการรับและล้างปูแสม (1) ไม่เป็นจุดวิกฤต เนื่องจากการควบคุมในขั้นตอนนี้ไม่ได้ทำให้มีการลดลงของอันตรายทางจุลินทรีย์ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2) เป็นจุดวิกฤตที่ 1 (CCP1) เนื่องจากอันตรายในขั้นตอนนี้มีการควบคุม อุณหภูมิและระยะเวลาในการต้มน้ำเกลืออิมตัว ซึ่งการควบคุมขั้นตอนนี้สามารถกำจัด ลดลงอันตรายที่ได้ระบุไว้ แสดงผลดังตารางที่ 19, ขั้นตอนการเติมน้ำเกลืออิมตัว (3) ไม่เป็นจุดวิกฤต เนื่องจากไม่มีการควบคุมอันตรายที่ระบุไว้ และขั้นตอนการหมัก (4) เป็นจุดวิกฤตที่ 2 (CCP2) เนื่องจากอันตรายในขั้นตอนนี้มีการควบคุมปริมาณร้อยละเกลือในตัวปูเค็ม ซึ่งการควบคุมขั้นตอนนี้สามารถกำจัด ลดลงอันตรายที่จะเป็นความเสี่ยงต่อผู้บริโภค แสดงผลดังตารางที่ 19 ดังนั้นการเสนอการกำหนดจุดวิกฤตทางจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตปูเค็ม คือ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2) (CCP1) และขั้นตอนการหมักปูเค็ม (4) (CCP2)

ตารางที่ 20 การกำหนดจุดวิกฤต (Critical Control Point: CCP) ทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีโดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree)

ขั้นตอนการผลิต	อันตรายทางจุลชีววิทยา * (Microbiological hazard)	Q1 มีอันตรายที่ทำให้เกิดความ เสี่ยงเพียงพหรือรุนแรง หรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q2	Q2 อันตรามีการควบคุม หรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q3	Q3 มีการควบคุมเพื่อป้องกัน กำจัด ลดลงอันตรายที่จะเป็นความเสี่ยงต่อ ผู้บริโภคหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามีเป็นจุด CCP	หมายเลข CCP
1.) ขั้นตอนการ รับและล้างปุ๋ยผสม ปุ๋ยผสมสด ↓ ปุ๋ยผสมล้างน้ำ	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่	ไม่  (เสนอให้การล้างเป็นกระบวนการ ควบคุมอันตราย แต่ผลการทดลอง พบว่าอันตรายไม่ได้ถูกกำจัดให้ ลดลง)	-
2.) ขั้นตอนการ เตรียมน้ำเกลือ อิมตัว เกลือเม็ด ↓ น้ำเกลืออิมตัว	- จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และกลุ่ม Extremely halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่  (มีการควบคุมน้ำที่ใช้สเตอร์ ไรส์และการคัมน้ำเกลือ อิมตัว)	ใช่  (มีการคัมที่ 100 องศาเซลเซียส ตาม ระยะที่เหมาะสมสามารถทำลาย จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขั้นตอนนี้)	CCP 1

ตารางที่ 20 (ต่อ)

ขั้นตอนการผลิต	อันตรายทางจุลชีววิทยา * (Microbiological hazard)	Q1 มีอันตรายที่ทำให้เกิดความเสี่ยงเพียงพอหรือรุนแรงหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q2	Q2 อันตรายนี้อาจควบคุมหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q3	Q3 มีการควบคุมเพื่อป้องกัน กำจัด ลดลงอันตรายที่จะเป็นความเสี่ยงต่อผู้บริโภคหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามีเป็นจุด CCP	หมายเลข CCP
3.) ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ ↓ ปุ๋ยมลน้ำ ↓ ปุ๋ยมลผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria	ใช่	ไม่  (ไม่มีการควบคุมอันตรายในขั้นตอนนี้)	-	-
4.) ขั้นตอนการหมักปุ๋ยมล ↓ ปุ๋ยมลผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง ↓ ปุ๋ยมล ณ เวลา 24 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่  (มีการควบคุมปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยมล)	ใช่  (จากการควบคุม Q2 พบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงจากปุ๋ยมลผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมงมาเป็นปุ๋ยมล ณ เวลา 24 ชั่วโมง)	CCP 2

หมายเหตุ: \* ข้อมูลจากการศึกษาหัวข้อเรื่องการกำหนดจุดวิกฤตที่ได้จากการวิเคราะห์อันตรายในข้อ 2.1.1 และ 2.1.3 โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree) และการวิเคราะห์อันตรายทางจุลชีววิทยาของปุ๋ยมลที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุงเทพฯ

## 2.2 การศึกษาขอบเขตของการควบคุมและการเฝ้าระวังในกระบวนการผลิตปุ๋ยคอก ณ จุดวิกฤตในข้อ 2.1.4 (Critical limit และ Monitoring procedure)

2.2.1 ลำดับจุดวิกฤตที่ 1: ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 1

2.2.1.1 การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการเตรียมน้ำเกลืออิมตัวเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง

จากการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ณ กระบวนการผลิตปุ๋ยคอก ในลำดับจุดวิกฤตที่ 1: ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว เพื่อใช้ในการหมักปุ๋ยคอก ในขั้นตอนนี้มีปัจจัยอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือ มาเกี่ยวข้องจึงออกแบบการทดลองเพื่อระบุอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือเพื่อกำหนดขอบเขตการควบคุม ซึ่งการศึกษาโดยใช้น้ำกรองสเตอร์ไรส์ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 25x150 มิลลิเมตรให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 80 และ 100 องศาเซลเซียส เติมเกลือเม็ด 6.5 กรัม และสุ่มตัวอย่างตามเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที นำตัวอย่างทั้งหมดมาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และปริมาณเกลือ

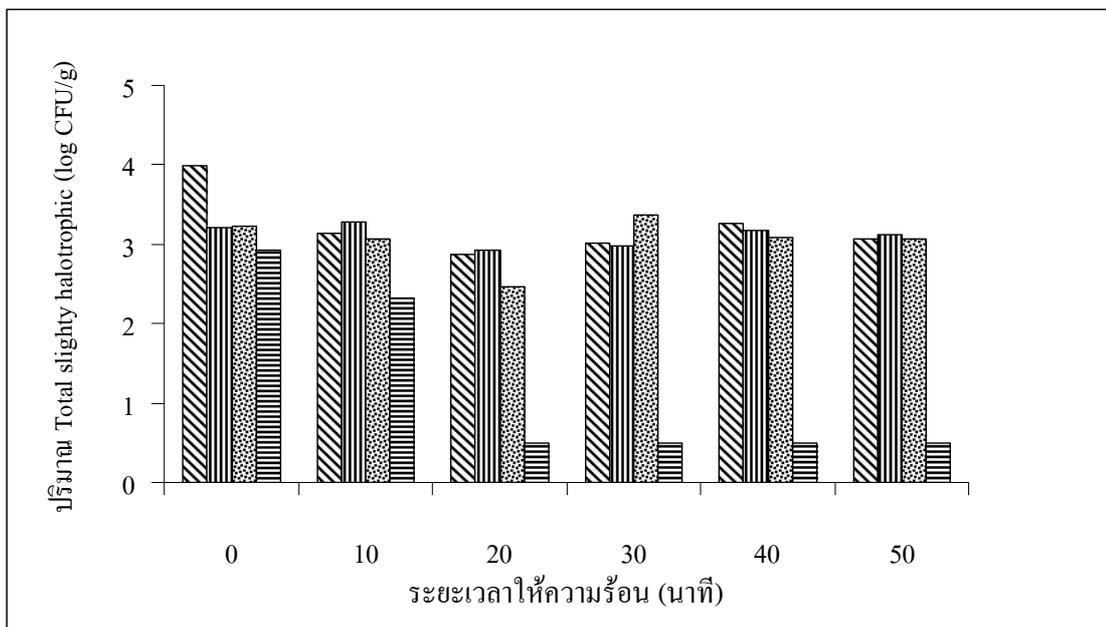
ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 21 ความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จากเกลือเม็ดและปริมาณร้อยละเกลือของน้ำเกลืออิมตัวที่ไม่ให้ความร้อน ณ เวลา 0 นาที และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 80, 100 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที พบว่า เมื่อให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น (50-100 องศาเซลเซียส) ไม่ได้ทำให้ปริมาณร้อยละเกลือละลายเพิ่มขึ้นเกินร้อยละ 1 (เนื่องจากเปรียบเทียบปริมาณเกลือระหว่างการให้ความร้อน และการไม่ให้ความร้อน) แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ลดลงไม่ได้เกิดมาจากผลของการละลายของเกลือเมื่อให้ความร้อน แต่การลดลงของจุลินทรีย์เกิดจากความร้อนที่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นเพียงปัจจัยเดียว ซึ่งการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นทำให้จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ลดลง

ผลของระดับอุณหภูมิและเวลาในการต้มน้ำเกลืออิมตัวที่เหมาะสมสามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria แสดงได้อย่างชัดเจนดังภาพที่ 10 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จะถูกทำลายจนหมดได้ในขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัวที่มีการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20

นาที่ มีปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ลดลงเป็น 3 log cycle จากตัวอย่าง  
น้ำเกลืออิมัตวที่ไม่ให้ความร้อน ณ เวลา 0 นาที ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ  
100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที ถูกเสนอเป็นขอบเขตการควบคุม ณ จุดวิกฤตที่ 1  
ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมัตว

ตารางที่ 21 ความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จากเกลือเม็ดและปริมาณเกลือของน้ำเกลืออิมิตัวที่ไม่ให้ความร้อน ณ เวลา 0 นาที และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 80, 100 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาให้ความ ร้อน (นาที)	ปริมาณเชื้อกลุ่ม slightly halotrophic bacteria [(CFU/ml) $\pm$ SD; n=4]	ปริมาณเกลือ (ร้อยละ $\pm$ SD; n=4)
50	0	1.6 $\pm$ 1.22 x 10 <sup>4</sup>	23.46 $\pm$ 3.54
	10	1.6 $\pm$ 0.91 x 10 <sup>3</sup>	22.52 $\pm$ 4.02
	20	1.0 $\pm$ 0.85 x 10 <sup>3</sup>	23.08 $\pm$ 1.77
	30	1.1 $\pm$ 0.50 x 10 <sup>3</sup>	23.25 $\pm$ 2.38
	40	2.2 $\pm$ 1.28 x 10 <sup>3</sup>	23.69 $\pm$ 2.71
	50	1.3 $\pm$ 0.55 x 10 <sup>3</sup>	22.70 $\pm$ 2.33
70	0	1.7 $\pm$ 0.61 x 10 <sup>3</sup>	22.81 $\pm$ 2.59
	10	2.2 $\pm$ 1.24 x 10 <sup>3</sup>	22.54 $\pm$ 2.34
	20	8.4 $\pm$ 1.34 x 10 <sup>2</sup>	23.27 $\pm$ 2.34
	30	9.7 $\pm$ 5.19 x 10 <sup>2</sup>	21.97 $\pm$ 2.27
	40	1.5 $\pm$ 0.52 x 10 <sup>3</sup>	23.63 $\pm$ 1.71
	50	1.4 $\pm$ 0.56 x 10 <sup>3</sup>	23.36 $\pm$ 1.45
80	0	1.9 $\pm$ 0.91 x 10 <sup>3</sup>	22.49 $\pm$ 1.01
	10	1.3 $\pm$ 0.77 x 10 <sup>3</sup>	22.58 $\pm$ 2.05
	20	3.9 $\pm$ 4.10 x 10 <sup>2</sup>	22.43 $\pm$ 2.29
	30	3.4 $\pm$ 3.64 x 10 <sup>3</sup>	22.58 $\pm$ 2.32
	40	1.3 $\pm$ 0.36 x 10 <sup>3</sup>	21.58 $\pm$ 2.77
	50	1.2 $\pm$ 0.65 x 10 <sup>3</sup>	21.34 $\pm$ 3.11
100	0	1.4 $\pm$ 1.32 x 10 <sup>3</sup>	22.09 $\pm$ 3.72
	10	2.4 $\pm$ 1.53 x 10 <sup>2</sup>	21.53 $\pm$ 2.56
	20	< 10	22.81 $\pm$ 3.46
	30	< 10	21.65 $\pm$ 2.53
	40	< 10	22.22 $\pm$ 2.87
	50	< 10	21.94 $\pm$ 1.96
ไม่ให้ความร้อน	0	3.2 $\pm$ 3.63 x 10 <sup>3</sup>	22.26 $\pm$ 2.39



ภาพที่ 10 ปริมาณเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ในน้ำเกลืออิ่มตัวที่ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 50 (▨), 70 (▧), 80 (▩) และ 100 (▨) องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

#### 2.2.1.2 การยืนยันสภาวะการศึกษา 2.2.1.1 โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อน

จากการศึกษา 2.2.1.1 ซึ่งเสนออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที ที่ใช้ในการต้มน้ำเกลืออิ่มตัว เป็นค่าขอบเขตที่ต้องควบคุมในนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันสภาวะความถูกต้องของการศึกษาที่ได้เสนอไว้ โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนจากขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิ่มตัว (เกลือเม็ดและน้ำเกลืออิ่มตัว) สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ทั้งหมด 7 เชื้อ (SHB001, SHB004.1, SHB006, SHB008.1, SHB008.2, SHB009 และ SHB010) แสดงลักษณะของเชื้อดังกล่าวในตารางที่ 22

เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเกลือและน้ำเกลืออิ่มตัว ซึ่งมีลักษณะดังตารางที่ 22 สามารถแยกได้เป็น 3 กลุ่ม ในกลุ่มเดียวกันจะมีคุณสมบัติที่เหมือนกัน ได้แก่

กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียรูปแท่ง แกรมลบและบวก โคโลนิกรวมขอบและผิว โคโลนีเรียบ สีขาวนุ่น ค่ะตะเลสบวก สร้างออกซิเดส ไม่รีดิคัลในเครท ไม่สร้างอินโดล ไม่ย่อยแป้ง

ไขมัน และย่อยเคซีนได้ มีการสร้างกรดจากกลูโคส แมนนิทอล ฟรุคโตส ซูโครส และอะราบิโนส (ตารางที่ 22) สามารถบ่งชี้ความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Halobacterium* sp. (Buchanan and Gibbons, 1974) ได้แก่เชื้อ SHB001 และ SHB010 ซึ่งมีคุณสมบัติบางประการที่ไม่อยู่ในกลุ่มเชื้อนี้ คือ ไม่สร้างอินโดล สร้างยูรีเอส และย่อยเคซีน

กลุ่มที่ 2 แบคทีเรียรูปกลม แกรมบวก โคโลนีกลมขอบและผิวโคโลนีเรียบ สีส้ม ค่ะตะเลสบวก ไม่สร้างออกซิเดส (ยกเว้น SHB009) ไม่มีดีเอ็นเอในเตรท สร้างอินโดล ไม่ย่อยแป้ง, ไขมัน และเคซีน เมื่อทดสอบการสร้างกรดด้วยน้ำตาล พบว่า ไม่มีการสร้างกรดจาก กลูโคส แลคโตส แมนนิทอล มอลโตส ฟรุคโตส ซูโครส โซโลส และอะราบิโนส (ตารางที่ 22) สามารถบ่งชี้ความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Micrococcus* sp. (Buchanan and Gibbons, 1974) ได้แก่เชื้อ SHB004.1 และ SHB009

ส่วนกลุ่มที่ 3 ได้แก่ SHB006, SHB008.1 และ SHB008.2 ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการที่ต่างกัน ได้แก่ การทดสอบอะเซทิลเมทิลคาร์บิโนลให้ผลบวก ยกเว้น SHB006, การสร้างกรดจากกลูโคส ยกเว้น SHB008.1 และการสร้าง  $H_2S$  ยกเว้น SHB006 ซึ่งเชื้อทั้ง 3 ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดของเชื้อได้ จากการศึกษาตาม (Buchanan and Gibbons, 1974)

การพบแบคทีเรียสกุล *Halobacterium* sp. สอดคล้องกับงานของ Michaud and Vandendemark (1967); Oren *et al.* (1992); Margesin and Schinner (2001) ซึ่งพบว่า มีการปนเปื้อนอยู่ในเกลือ และสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง กลุ่ม Halotolerants สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงสุดร้อยละ 15-20 และการพบแบคทีเรียสกุล *Micrococcus* sp. สอดคล้องกับงานของ Bain *et al.* (1957); Frazier (1958) ที่แยกได้จากเกลือสมุทรและเกลือสินเธาว์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสี ทนเกลือที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5-5.0 (Ravishankar and Juneja, 2000)

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ในน้ำเกลืออิมิตัวที่ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลา 0-50 นาที ดังตารางที่ 23 พบว่าปริมาณร้อยละของเกลือที่ผ่านการทดสอบมีปริมาณเกลือที่ไม่เกิน ร้อยละ 1 (ช่วง  $26.05 \pm 0.22 - 27.15 \pm 0.42$ ) ซึ่งในการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาหัวข้อ

2.2.1.1 และผลจากความร้อนและระยะเวลาที่ใช้ในการควบคุมเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จากภาพที่ 11A การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที มีเชื้อบางตัวที่ยังถูกทำลายได้ไม่หมด (SHB008.2, SHB008.1, SHB004.1 และ SHB001) แต่สามารถถูกทำลายได้ทั้งหมดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในเวลาตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป (ภาพที่ 11B, 11C, 11D, 11E และ 11F) จึงสามารถสรุปการยืนยันขอบเขตการควบคุม ณ จุดวิกฤตได้ว่าการให้ความร้อนน้ำเกลืออิมตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 10 นาที สามารถทำลายเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ได้ จากผลดังกล่าวและเพื่อเป็นการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด (<10 CFU/g) ร่วมกับขอบเขตในการควบคุมที่ได้เสนอในข้อ 2.2.1.1 จึงสรุปการยืนยันและเสนอขอบเขตการควบคุมของการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 1 (ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลือ) เป็นอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที

ตารางที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อบริสุทธิ์ชนิด

Slightly halotrophic bacteria ที่แยกจากเกลือเม็ดและน้ำเกลืออิมตัว เพื่อยืนยันสถานะการศึกษาดูหมุมและเวลาที่ใช้ในการต้มน้ำเกลือเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 1

คุณสมบัติ	รหัสเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (SHB)						
	001	010	004.1	006	008.1	008.2	009
แหล่งที่มา	เกลือเม็ด	เกลือเม็ด	น้ำเกลือ	น้ำเกลือ	น้ำเกลือ	น้ำเกลือ	น้ำเกลือ
สีของโคโลนี	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ส้ม	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ส้ม
รูปร่างโคโลนี	*	*	*	*	*	*	*
การติดสีแกรม	ลบ	บวก	บวก	บวก	บวก	ลบ	บวก
รูปร่าง	rod	rod	cocci	rod	rod	rod	cocci
กะตะเลส	+	+	+	+	+	+	+
ออกซิเดส	+	+	-	-	-	-	+
ออกซิเดชั่น-เฟอร์เมนเตชั่น	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
การใช้ไนเตรท	-	-	-	-	-	-	-
อินโดล	-	-	+	+	+	+	+
การใช้ซิเตรท	-	-	-	-	-	-	-
ยูรีเอส	+	+	-	-	-	-	-
การย่อยแป้ง	-	-	-	-	-	-	-
การย่อยไขมัน	-	-	-	-	-	-	-
การย่อยเคซีน	+	+	-	-	-	-	-
MR	+	+	-	-	-	-	-
VP	+	+	-	-	+	+	-
การสร้างกรดจากกลูโคส	+	+	-	+	-	+	-
แลคโตส	-	-	-	-	-	-	-
แมนนิทอล	+	+	-	-	-	-	-
มอลโตส	-	-	-	-	-	-	-
ฟรุคโตส	+	+	-	+	+	+	-
ซูโครส	+	+	-	-	-	-	-
ไซโลส	-	-	-	-	-	-	-
อะราบิโนส	+	+	-	-	-	-	-

ตารางที่ 22 (ต่อ)

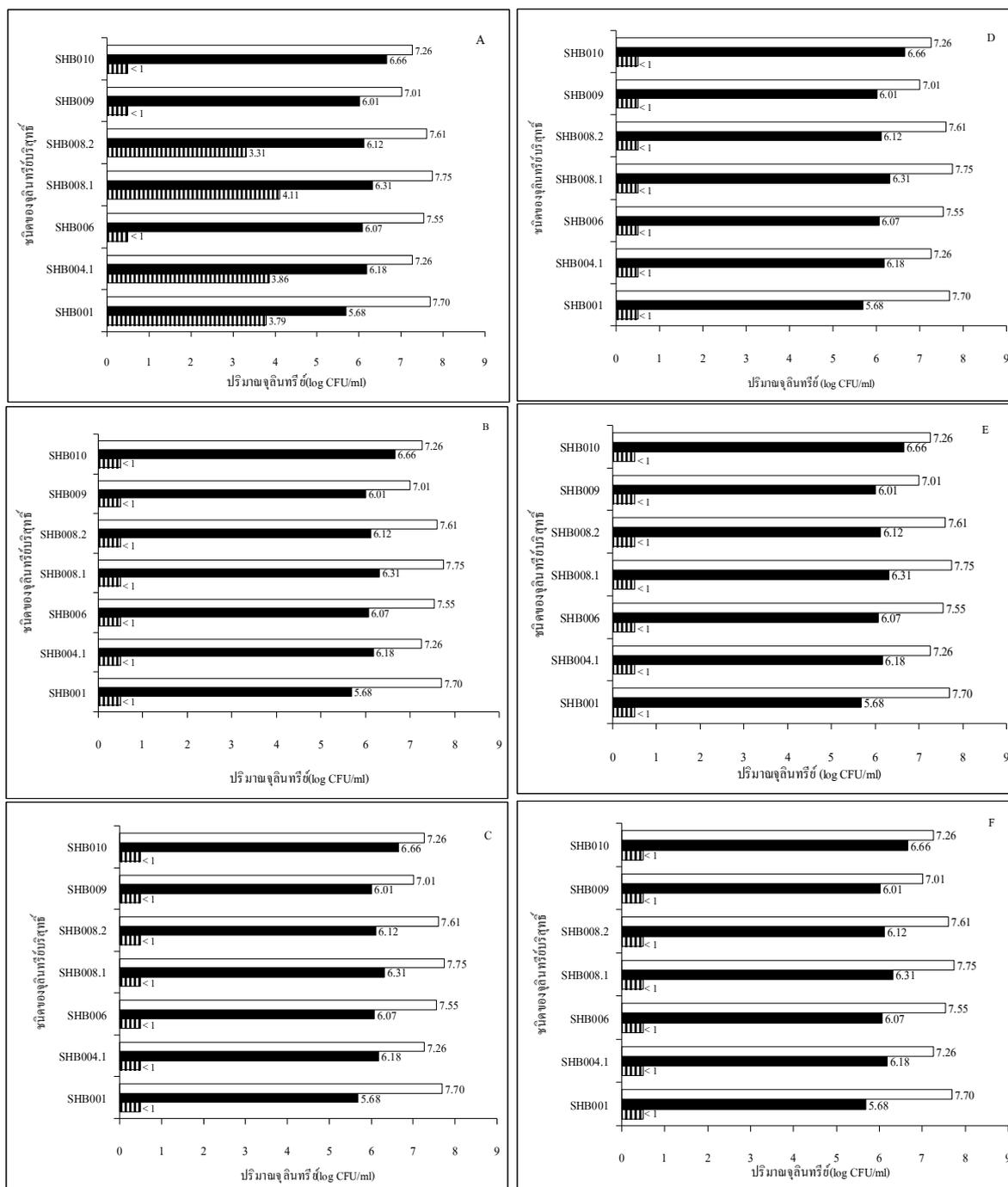
คุณสมบัติ	รหัสเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (SHB)						
	001	010	004.1	006	008.1	008.2	009
การสร้าง H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	+	+	-
ชนิด (เปอร์เซ็นต์คล้ายคลึง) (Buchanan and Gibbons, 1974)	[22-1] (76)	[22-1] (72)	[22-2] (96)	?	?	?	[22-2] (96)

หมายเหตุ: + positive result, - negative result, \* Shape: Circular, Elevation: Convex, Edge:

Entire, [22-1]: *Halobacterium* sp., [22-2]: *Micrococcus* sp., ? ไม่สามารถระบุชนิดได้  
ความคล้ายคลึงเชื้อใด ๆ ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 23 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และปริมาณเกลือในน้ำเกลืออิมตัวที่ให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่ต่างกัน

ลำดับที่	ชื่อ บริสุทธิ์	เชื้อในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (CFU/ml)±SD; n=3	เชื้อจากน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำเกลืออิมตัว ที่อุณหภูมิห้อง (CFU/ml)±SD; n=3	ปริมาณเกลือ ของน้ำเกลือ อิมตัวที่ อุณหภูมิห้อง (ร้อยละ ±SD; n=3)	ปริมาณจุลินทรีย์ [(CFU/ml)±SD; n=4] [ปริมาณเกลือ (ร้อยละ±SD; n=4)]					
					ระยะเวลาคงที่ในการให้ความร้อนแก่น้ำเกลืออิมตัวที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (นาที)					
					0	10	20	30	40	50
1	SHB001	$5.2 \pm 1.99 \times 10^7$	$5.3 \pm 2.89 \times 10^5$	$26.32 \pm 0.75$	$6.3 \pm 1.45 \times 10^3$ ( $26.72 \pm 0.19$ )	<10 ( $26.04 \pm 0.77$ )	< 10 ( $26.17 \pm 0.96$ )	< 10 ( $27.66 \pm 0.77$ )	< 10 ( $26.45 \pm 1.34$ )	< 10 ( $27.67 \pm 0.76$ )
2	SHB004.1	$1.9 \pm 0.61 \times 10^7$	$1.5 \pm 0.14 \times 10^6$	$26.12 \pm 1.04$	$1.1 \pm 1.15 \times 10^4$ ( $27.67 \pm 0.77$ )	<10 ( $26.98 \pm 0.19$ )	< 10 ( $26.90 \pm 1.00$ )	< 10 ( $27.67 \pm 0.67$ )	< 10 ( $26.58 \pm 0.38$ )	< 10 ( $26.98 \pm 0.19$ )
3	SHB006	$3.7 \pm 1.42 \times 10^7$	$1.2 \pm 0.02 \times 10^6$	$26.05 \pm 0.22$	< 10 ( $26.17 \pm 0.96$ )	<10 ( $26.44 \pm 0.57$ )	< 10 ( $26.58 \pm 0.38$ )	< 10 ( $27.26 \pm 0.57$ )	< 10 ( $26.71 \pm 0.19$ )	< 10 ( $26.44 \pm 0.57$ )
4	SHB008.1	$5.7 \pm 1.41 \times 10^7$	$2.1 \pm 0.07 \times 10^6$	$26.05 \pm 0.75$	$1.3 \pm 0.54 \times 10^4$ ( $26.17 \pm 2.88$ )	<10 ( $26.85 \pm 1.92$ )	< 10 ( $27.53 \pm 0.96$ )	< 10 ( $26.71 \pm 1.73$ )	< 10 ( $26.85 \pm 1.92$ )	< 10 ( $27.53 \pm 0.96$ )
5	SHB008.2	$4.9 \pm 2.95 \times 10^7$	$1.4 \pm 0.49 \times 10^6$	$26.81 \pm 0.32$	$2.5 \pm 2.13 \times 10^3$ ( $26.31 \pm 2.69$ )	<10 ( $27.53 \pm 0.96$ )	< 10 ( $28.07 \pm 0.19$ )	< 10 ( $27.12 \pm 0.38$ )	< 10 ( $27.53 \pm 0.96$ )	< 10 ( $27.39 \pm 0.76$ )
6	SHB009	$1.0 \pm 0.07 \times 10^7$	$1.0 \pm 0.23 \times 10^6$	$25.02 \pm 2.21$	< 10 ( $24.81 \pm 0.96$ )	<10 ( $26.85 \pm 1.92$ )	< 10 ( $26.58 \pm 1.92$ )	< 10 ( $26.85 \pm 1.92$ )	< 10 ( $26.17 \pm 0.96$ )	< 10 ( $27.85 \pm 1.92$ )
7	SHB010	$1.8 \pm 0.06 \times 10^7$	$1.8 \pm 0.21 \times 10^6$	$27.08 \pm 0.71$	< 10 ( $25.90 \pm 1.34$ )	<10 ( $25.76 \pm 0.38$ )	< 10 ( $25.63 \pm 0.19$ )	< 10 ( $25.76 \pm 0.38$ )	< 10 ( $26.58 \pm 0.38$ )	< 10 ( $25.95 \pm 0.92$ )



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ในกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (เชื้อบริสุทธิ์ รหัส SHB010, SHB009, SHB008.1, SHB008.2, SHB006, SHB004.1, SHB001) ใน น้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (□), เชื้อบริสุทธิ์จากน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเกลือนิ่งฆ่า เชื้อที่ต้มตัวที่อุณหภูมิห้อง (■) และเชื้อบริสุทธิ์จากน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเกลือ นิ่งฆ่าเชื้อที่ต้มตัวที่อุณหภูมิห้องที่ให้ความร้อน ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (▨) ที่ ระยะเวลา 0 (A), 10 (B), 20, (C), 30 (D), 40 (E) และ 50 (F) นาที

2.2.2 ลำดับจุดวิกฤตที่ 2: ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี การศึกษาระดับโซเดียมคลอไรด์ในตัวปุ๋ยเคมีเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องควบคุมและการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 2

2.2.2.1 ความสัมพันธ์ของระดับโซเดียมคลอไรด์ต่อลักษณะทางจุลชีววิทยาและเคมีบางลักษณะของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ

จากการกำหนดจุดวิกฤตที่ 2 ในขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมีจึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมี เพื่อเสนอปัจจัยในการกำหนดขอบเขตการควบคุม ณ จุดวิกฤตที่ 2 (ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี) โดยมีการศึกษาลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีของปุ๋ยเคมีที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ ปุ๋ยผสมสด (ใช้เป็นตัวควบคุมการทดลองเพื่อแสดงลักษณะทางจุลินทรีย์และลักษณะทางเคมีของวัตถุดิบ) และปุ๋ยผสมที่นำเข้า (ปุ๋ยผสมสดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงและไม่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสแล้ว) การทดลองมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมี (ร้อยละ 9.50, 11.33, 15.46 และ 21.59) ผลที่ได้จากตารางที่ 24 พบว่าปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมีมีค่าที่แปรผกผันกับปริมาณของจุลินทรีย์ โดยที่ปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นเป็นตัวช่วยยับยั้งให้จุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ก่อโรค (*Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*) ทำให้ปริมาณลดลง ผลการทดลองทั้งหมดนำมาสู่ข้อสรุปที่ว่า ปัจจัยที่ใช้ในการควบคุมเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 2 ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี คือปริมาณเกลือ

2.2.2.2 การกำหนดขอบเขตการเฝ้าระวังและการยืนยันสถานะการศึกษาโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีศักยภาพในการเสี่ยงต่อโรค

วัตถุประสงค์ในหัวข้อนี้เพื่อกำหนดขอบเขตการเฝ้าระวังและการยืนยันสถานะการศึกษา โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีศักยภาพในการเสี่ยงต่อโรค วิธีการศึกษาโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ปนเปื้อนกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (เชื้อบริสุทธิ์รหัส SHB002, SHB005.1 และ SHB007) ที่แยกจากปุ๋ยผสมแสดงลักษณะของเชื้อในตารางที่ 25 และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (*Escherichia coli* TISTR780 และ *Staphylococcus aureus* TISTR1466) ใส่ในหลอดที่มีระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ต่างกัน (ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25) ปั่นที่อุณหภูมิห้อง เวลา 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษา (ตารางที่ 26) จากเชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (เชื้อบริสุทธิ์รหัส SHB002, SHB005.1 และ SHB007) พบว่าเชื้อบริสุทธิ์ SHB

002 ตามภาพที่ 13A ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 12 เป็นสภาวะที่มีการส่งเสริมการเติบโตของเชื้อ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 15 จะเป็นปัจจัยที่ยับยั้งการเติบโตของเชื้อ SHB002 และเชื้อ SHB007 ตามภาพที่ 13B พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 6 และ 12 เป็นสภาวะยับยั้งการเติบโตของเชื้อได้และที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3, 15, 18, 21 และ 25 จะเป็นปัจจัยให้มีส่งเสริมในการเติบโต จากผลการศึกษาทั้งหมดนำไปสู่ข้อสรุปได้ว่าการใช้เกลือที่ระดับความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0-25 สามารถควบคุมเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ได้บางชนิดเท่านั้น

เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกจากปุ๋ยผสมสดและปุ๋ยผสมที่ล้างน้ำ มีลักษณะดังตารางที่ 25 โดยสามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งในกลุ่มเดียวกันจะมีคุณสมบัติที่เหมือนกัน ได้แก่

กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียรูปกลม แกรมบวก โคโลนิกรวมขอบและผิวโคโลนีเรียบ สีส้ม ค่ะตะเลสบวก ไม่สร้างออกซิเดส ไม่มีคิวสในเตรท สร้างอินโดล ไม่ย่อยแป้ง ไบมัน และเคซิน เมื่อทดสอบการสร้างกรดด้วยน้ำตาล พบว่า ไม่มีการสร้างกรดจากกลูโคส แลคโตส แมนนิทอล มอลโตส ฟรุคโตส ซูโครส ไซโลส และอะราบิโนส (ตารางที่ 25) สามารถบ่งชี้ความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Micrococcus* sp. (Buchanan and Gibbons, 1974) ได้แก่เชื้อ SHB002 และ SHB005.1

กลุ่มที่ 2 แบคทีเรียรูปกลม แกรมลบ โคโลนิกรวมขอบและผิวโคโลนีเรียบ สีเหลือง ค่ะตะเลสบวก ไม่สร้างออกซิเดส ไม่มีคิวสในเตรท สร้างอินโดล ไม่ย่อยแป้ง ไบมัน และเคซิน เมื่อทดสอบการสร้างกรดด้วยน้ำตาล พบว่า มีการสร้างกรดจากกลูโคส แต่ไม่สร้างกรดจากแลคโตส แมนนิทอล มอลโตส ฟรุคโตส ซูโครส ไซโลส และอะราบิโนส (ตารางที่ 25) สามารถบ่งชี้ความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Halococcus* sp. (Buchanan and Gibbons, 1974) ได้แก่เชื้อ SHB007

การพบแบคทีเรียสกุล *Micrococcus* sp. สอดคล้องกับงานของ Bain *et al.* (1957) และ Frezier (1958) ที่แยกได้จากเกลือสมุทรและเกลือสินเธาว์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสี และทนเกลือที่ความเข้มข้นสูง ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5-5.0 (Ravishankar and Juneja, 2000) และการพบแบคทีเรียสกุล *Halococcus* sp. สอดคล้องกับงานของ Oren *et al.* (1992) ซึ่งพบว่าสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงสุดร้อยละ 15-20

ผลการศึกษา (ตารางที่ 27) จากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (*Escherichia coli* TISTR780 และ *Staphylococcus aureus* TISTR1466) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0-25 ปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* TISTR780 ลดลงจากปริมาณเริ่มต้น ตั้งแต่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 ซึ่งเป็นการลดลงที่มากกว่าในเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ดังภาพที่ 12 (12A) และ (12B) เชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 มีความอ่อนแอต่อสารละลายโซเดียมคลอไรด์ต่ำกว่าเชื้อ *Escherichia coli* TISTR780 แต่จากขั้นตอนการผลิตปุ๋ยคอก ณ ห้องปฏิบัติการไม่พบเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ในการปนเปื้อนเมื่อมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระดับเดียวกัน ซึ่งชี้ถึงอัตราการลดลงเท่ากัน (ซึ่งมีความขัดแย้งกันกับผลการทดลองในเชื้อบริสุทธิ์ของ *Staphylococcus aureus* TISTR1466) ว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในปุ๋ยคอกอาจมีการบาดเจ็บและอ่อนแอทำให้สามารถทำลายได้ที่ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 25 (จากการผลิตในห้องปฏิบัติการ) ส่วนในเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ที่ทำการทดลองดังภาพที่ 12B เป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่ความแข็งแรง ผลจึงไม่สอดคล้องกัน เพื่อยืนยันข้อสังเกตจึงแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* บริสุทธิ์จากปุ๋ยคอกแล้วนำมาทำการทดลอง เช่นเดียวกับ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ผลจากการทดลองพบว่า *Staphylococcus aureus* จากทั้งสองแหล่ง ให้รูปแบบของกราฟที่เหมือนกัน แสดงผลดังภาพที่ 12 (12B) และ (12C) พบว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากปุ๋ยคอกสามารถทำลายได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ได้น้อยร้อยละ 21 แสดงถึงว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากปุ๋ยคอกมีการบาดเจ็บของเซลล์ซึ่งตรงกับข้อสังเกตที่ตั้งไว้ ผลทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าปริมาณร้อยละของเกลือที่ต้องควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์ก่อโรค (*Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*) เพิ่มขึ้นคือตั้งแต่ปริมาณเกลือร้อยละ 3 ขึ้นไป โดยเชื้อ *Escherichia coli* จะมีความอ่อนแอกว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ดังนั้นการเสนอขอบเขตการควบคุมและการเฝ้าระวังในปัจจุบันของโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ในขั้นตอนการหมักปุ๋ยคอกเพื่อกำหนดขอบเขต ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 2 คือ การควบคุมปริมาณเกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ร้อยละ 25 ในตัวปุ๋ยคอก ซึ่งสามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้ในกลุ่มก่อโรค (*Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*) และเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria บางชนิดเท่านั้น

ตารางที่ 24 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยใน  
กระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี

ลำดับ ที่	ชนิด ตัวอย่าง	ลักษณะทางเคมี				ลักษณะทางจุลชีววิทยา		
		ปริมาณ เกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณ กรด (ร้อยละ)	ความ เป็นกรด- เบส	ค่า $a_w$	<i>Escherichia coli</i> (MPN/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	จุลินทรีย์ ทั้งหมด (CFU/g)
1	ปุ๋ยผสมสด	0.22	0.08	7.90	0.97	> 1100	$2.30 \times 10^3$	$9.80 \times 10^6$
	ปุ๋ยน้ำเสีย	0.23	0.33	8.06	0.96	> 1100	$> 3.0 \times 10^6$	$1.55 \times 10^7$
	ปุ๋ยเคมี	9.50	0.05	7.97	0.89	< 3	$4.30 \times 10^3$	$6.70 \times 10^6$
2	ปุ๋ยผสมสด	0.22	0.08	7.90	0.97	> 1100	$2.30 \times 10^3$	$9.80 \times 10^6$
	ปุ๋ยน้ำเสีย	0.23	0.33	8.06	0.96	> 1100	$> 3.0 \times 10^6$	$1.55 \times 10^7$
	ปุ๋ยเคมี	11.33	0.04	8.05	0.86	< 3	ND*	$1.55 \times 10^6$
3	ปุ๋ยผสมสด	0.21	0.03	8.28	0.96	11	$2.30 \times 10^3$	$3.50 \times 10^5$
	ปุ๋ยน้ำเสีย	0.25	0.17	7.95	0.97	15	$2.90 \times 10^6$	$1.78 \times 10^7$
	ปุ๋ยเคมี	15.46	0.09	7.82	0.81	< 3	ND	$1.36 \times 10^4$
4	ปุ๋ยผสมสด	0.71	0.12	8.41	0.96	14	$1.10 \times 10^2$	$3.25 \times 10^6$
	ปุ๋ยน้ำเสีย	0.61	0.09	8.37	0.96	36	$1.90 \times 10^6$	$2.15 \times 10^8$
	ปุ๋ยเคมี	21.59	0.08	8.05	0.81	< 3	ND	$2.51 \times 10^4$

หมายเหตุ: \* รายงานว่าไม่พบจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 100 Est. (Swanson *et al.*, 1992)

ตารางที่ 25 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียชนิด

Slightly halotrophic bacteria ที่แยกจากปุ๋ยหมัก เพื่อยืนยันสถานะการศึกษาความสัมพันธ์  
ของระดับโซเดียมคลอไรด์เพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 2

คุณสมบัติ	รหัสเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria (SHB)		
	002	005.1	007
แหล่งที่มา	ปุ๋ยหมักค้ำน้ำ	ปุ๋ยหมัก	ปุ๋ยหมักค้ำน้ำ
สีของโคโลนี	ส้ม	ส้ม	เหลือง
รูปร่างโคโลนี	*	*	*
การติดสีแกรม	บวก	บวก	ลบ
รูปร่าง	cocci	cocci	cocci
คะตะเลส	+	+	+
ออกซิเดส	+	+	-
ออกซิเดชัน-เฟอร์เมนเตชัน	-/-	-/-	-/-
การใช้ไนเตรท	-	-	-
อินโดล	+	+	+
การใช้ซิเตรท	-	-	-
ยูรีเอส	-	-	-
การย่อยแป้ง	-	-	-
การย่อยไขมัน	-	-	-
การย่อยเคซีน	-	-	-
MR	-	-	-
VP	-	-	-
การสร้างกรดจากกลูโคส	-	-	+
แลกโตส	-	-	-
แมนนิทอล	-	-	-
มอลโตส	-	-	-
ฟรุคโตส	-	-	-
ซูโครส	-	-	-
ไซโลส	-	-	-
อะราบิโนส	-	-	-

ตารางที่ 25 (ต่อ)

คุณสมบัติ	รหัสเชื้อปฏิสัทธักรุ่ม Slightly halotrophic bacteria (SHB)		
	002	005.1	007
การสร้ารง H <sub>2</sub> S	-	-	-
ชนิด (เปอร์เซ็นต์คล้ายคลึง) (Buchanan and Gibbons, 1974)	<i>Micrococcus</i> sp. (96)	<i>Micrococcus</i> sp. (96)	<i>Halococcus</i> sp. (100)

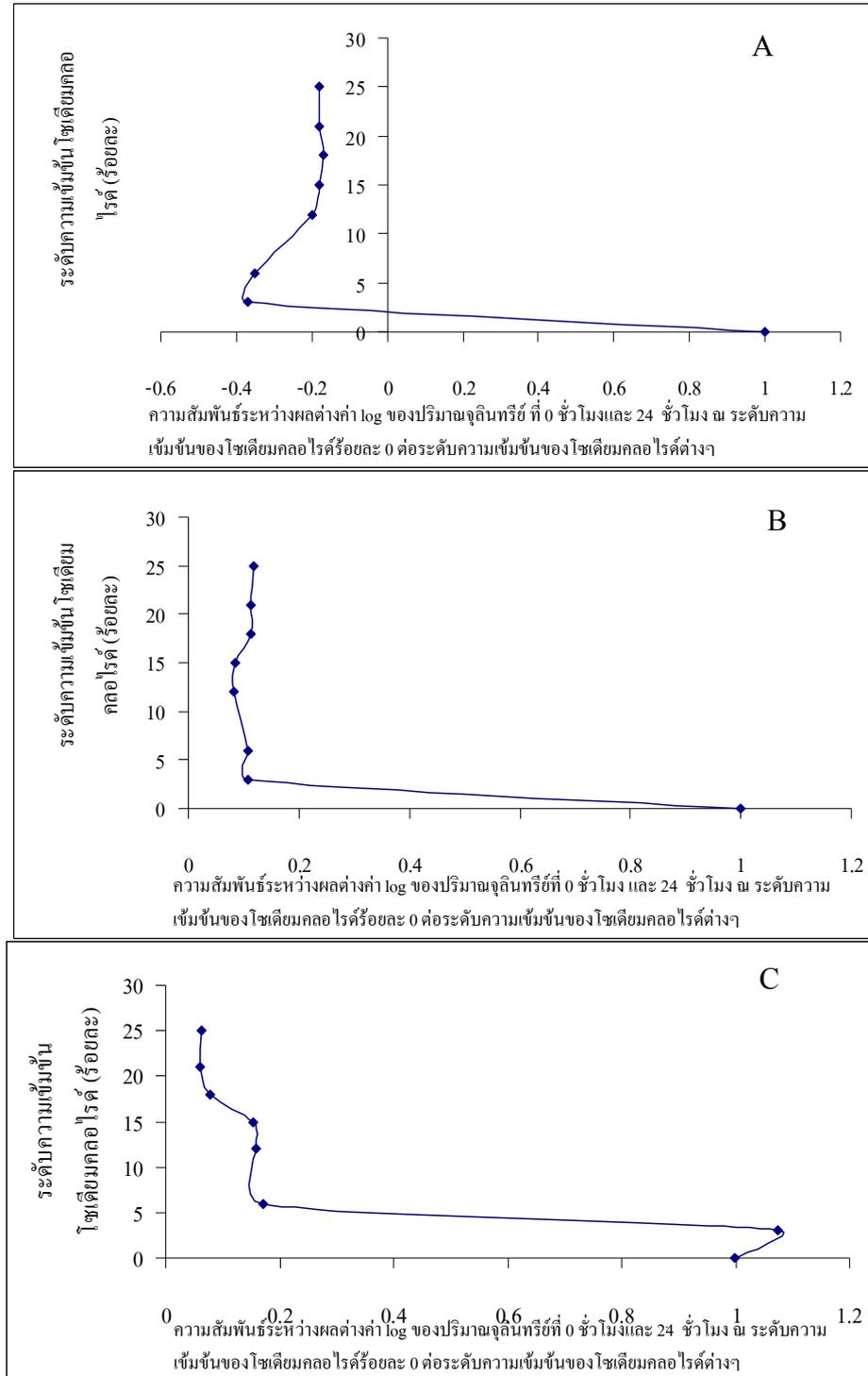
หมายเหตุ: + positive result, - negative result, \* Shape: Circular, Elevation: Convex, Edge:  
Entire

ตารางที่ 26 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างกันโดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลาที่ 0 และ 24 ชั่วโมง

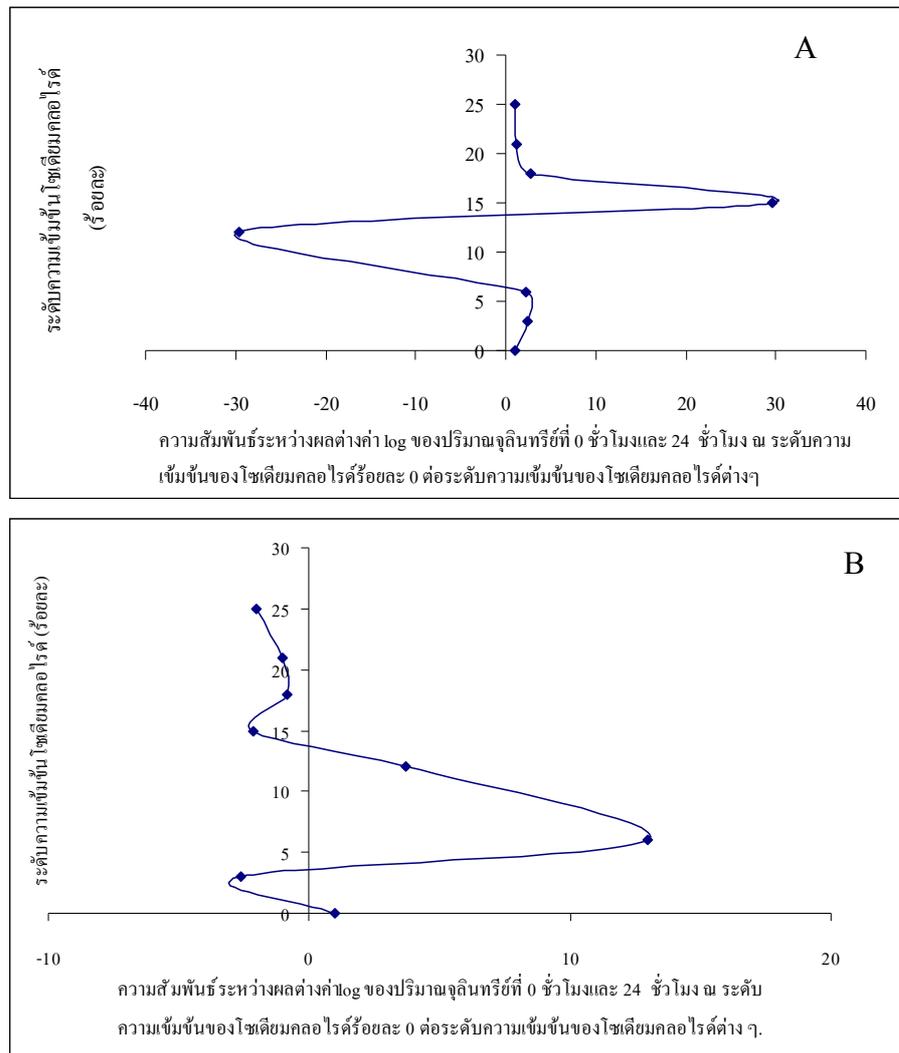
ระดับความเข้มข้น ของโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria บ่มที่อุณหภูมิห้อง [(CFU/ml)± SD; n=4]					
	เวลา (ชั่วโมง)					
	SHB002		SHB005.1		SHB007	
	0	24	0	24	0	24
0	1.6±0.42 x 10 <sup>7</sup>	2.7±2.26 x 10 <sup>6</sup>	3.7±0.49 x 10 <sup>6</sup>	< 10	2.2±0.28 x 10 <sup>6</sup>	1.4±0.75 x 10 <sup>6</sup>
3	2.0±0.14 x 10 <sup>7</sup>	8.9±3.52 x 10 <sup>6</sup>	1.6±0.14 x 10 <sup>7</sup>	6.3±3.44 x 10 <sup>2</sup>	1.7±0.56 x 10 <sup>6</sup>	2.5±1.65 x 10 <sup>6</sup>
6	1.5±0.07 x 10 <sup>7</sup>	7.5±5.81 x 10 <sup>6</sup>	1.7±0.42 x 10 <sup>7</sup>	< 10	1.5±0.35 x 10 <sup>6</sup>	1.5±0.45 x 10 <sup>6</sup>
12	1.2±0.57 x 10 <sup>7</sup>	1.2±0.14 x 10 <sup>7</sup>	1.3±0.28 x 10 <sup>7</sup>	< 10	1.9±0.00 x 10 <sup>6</sup>	1.7±0.71 x 10 <sup>7</sup>
15	1.3±0.21 x 10 <sup>7</sup>	1.0±3.78 x 10 <sup>7</sup>	5.1±3.46 x 10 <sup>7</sup>	3.7±0.55 x 10 <sup>7</sup>	1.6±0.07 x 10 <sup>6</sup>	2.6±1.98 x 10 <sup>6</sup>
18	1.4±0.21 x 10 <sup>7</sup>	7.5±2.41 x 10 <sup>6</sup>	6.0±0.28 x 10 <sup>7</sup>	4.8±1.45 x 10 <sup>7</sup>	1.7±0.28 x 10 <sup>6</sup>	3.6±1.36 x 10 <sup>6</sup>
21	1.9±0.07 x 10 <sup>7</sup>	3.9±1.66 x 10 <sup>6</sup>	1.3±0.35 x 10 <sup>7</sup>	4.5±4.31 x 10 <sup>6</sup>	1.7±0.14 x 10 <sup>6</sup>	3.5±1.85 x 10 <sup>6</sup>
25	1.2±0.35 x 10 <sup>7</sup>	1.2±2.99 x 10 <sup>6</sup>	8.3±0.63 x 10 <sup>6</sup>	3.2±1.26 x 10 <sup>6</sup>	1.4±0.07 x 10 <sup>6</sup>	1.8±0.32 x 10 <sup>6</sup>
เชื้อในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์	3.5±1.41 x 10 <sup>8</sup>	(ไม่ตรวจนับ)	1.2±0.37 x 10 <sup>8</sup>	(ไม่ตรวจนับ)	2.2±0.07 x 10 <sup>7</sup>	(ไม่ตรวจนับ)

ตารางที่ 27 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Staphylococcus aureus* จากปุ๋ยผสมน้ำเสีย) ในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างกันโดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง ณ เวลาที่ 0 และ 24 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	เชื้อแบคทีเรียก่อโรค บ่มที่อุณหภูมิห้อง [(CFU/ml)± SD; n=4]					
	เวลา (ชั่วโมง)					
	<i>E. coli</i> TISTR780		<i>S. aureus</i> TISTR1466		<i>S. aureus</i> จากปุ๋ยผสมน้ำเสีย	
	0	24	0	24	0	24
0	1.1±0.07 x 10 <sup>6</sup>	6.0±0.41 x 10 <sup>6</sup>	1.8±0.42 x 10 <sup>7</sup>	1.2±0.06 x 10 <sup>7</sup>	6.7±0.49 x 10 <sup>7</sup>	2.4±0.28 x 10 <sup>7</sup>
3	7.4±0.92 x 10 <sup>6</sup>	6.9±1.16 x 10 <sup>4</sup>	1.8±0.07 x 10 <sup>7</sup>	7.9±7.69 x 10 <sup>5</sup>	5.8±0.35 x 10 <sup>7</sup>	2.5±1.55 x 10 <sup>7</sup>
6	6.1±1.27 x 10 <sup>6</sup>	4.5±0.68 x 10 <sup>4</sup>	1.8±0.63 x 10 <sup>7</sup>	4.3±1.96 x 10 <sup>5</sup>	4.8±0.14 x 10 <sup>7</sup>	1.2±0.07 x 10 <sup>5</sup>
12	1.4±0.07 x 10 <sup>6</sup>	2.8±0.21 x 10 <sup>2</sup>	1.8±0.67 x 10 <sup>7</sup>	1.2±0.15 x 10 <sup>5</sup>	4.7±0.35 x 10 <sup>7</sup>	7.9±0.49 x 10 <sup>4</sup>
15	3.8±0.42 x 10 <sup>4</sup>	< 10	1.5±0.56 x 10 <sup>7</sup>	1.6±1.23 x 10 <sup>5</sup>	5.3±0.78 x 10 <sup>7</sup>	4.9±0.91 x 10 <sup>2</sup>
18	5.6±0.64 x 10 <sup>4</sup>	< 10	1.6±0.21 x 10 <sup>7</sup>	6.9±1.64 x 10 <sup>5</sup>	4.7±0.35 x 10 <sup>7</sup>	1.4±0.21 x 10 <sup>2</sup>
21	4.7±0.35 x 10 <sup>4</sup>	< 10	1.5±0.28 x 10 <sup>7</sup>	3.9±0.32 x 10 <sup>5</sup>	4.0±0.00 x 10 <sup>7</sup>	< 10
25	4.2±0.98 x 10 <sup>4</sup>	< 10	1.6±0.21 x 10 <sup>7</sup>	5.4±2.15 x 10 <sup>5</sup>	4.2±0.84 x 10 <sup>7</sup>	< 10
เชื้อในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์	6.1±0.57 x 10 <sup>7</sup>	(ไม่ตรวจนับ)	2.3±0.07 x 10 <sup>8</sup>	(ไม่ตรวจนับ)	2.7±3.35 x 10 <sup>8</sup>	(ไม่ตรวจนับ)



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างค่า log ของปริมาณจุลินทรีย์ที่ 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ณ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ต่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25 ของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR780 (A), เชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 (B) และ เชื้อ *Staphylococcus aureus* จากปุ๋ยแสมหน้าเสียด (C)



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างค่า log ของปริมาณจุลินทรีย์ที่ 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ณ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ต่อระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21 และ 25 ของเชื้อ SHB002 (A) และ เชื้อ SHB007 (B)

## 2.3 การศึกษาการทานสอบ (Validation) จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมและทานสอบ (Verification) กระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีที่ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

### 2.3.1 การศึกษาการทานสอบ (Validation) จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาหัวข้อนี้เพื่อยืนยันสถานะการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ มีวิธีการศึกษาโดยวิเคราะห์ลักษณะทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง, จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria), ทางเคมีและทางประสาทสัมผัส ในตัวอย่างวัตถุดิบของขั้นตอนที่ต้องเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤต (ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัวและขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี)

ผลการศึกษาดังตารางที่ 28 การยืนยันสถานะการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว พบว่ามีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria เป็น 2 log cycle จากเกลือเม็ดเป็นน้ำเกลืออิมตัว เมื่อต้มน้ำเกลืออิมตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งจากการควบคุมจุดวิกฤตในขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 20 นาที เห็นได้ว่าสามารถควบคุมจุดวิกฤตในขั้นตอนนี้ได้ เนื่องจากปริมาณ Slightly halotrophic bacteria ลดลงจากเกลือเม็ด ( $8.9 \pm 0.32 \times 10^2$  CFU/g) จนไม่พบในน้ำเกลืออิมตัว ( $< 100$  Est.) ในทำนองเดียวกันปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางให้ค่าที่สอดคล้องกันคือลดลงจากเกลือเม็ด ( $9.4 \pm 1.01 \times 10^2$  CFU/g) จนไม่พบในน้ำเกลืออิมตัว

แสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่ใช้ในการควบคุม (อุณหภูมิที่ใช้ต้มน้ำเกลือ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที) ในการยืนยันสถานะการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 1 (CCP1) ได้ถูกควบคุมอย่างมีประสิทธิภาพตามที่กำหนด ซึ่งจุดนี้แสดงประสิทธิภาพของระบบ HACCP plan ว่าสามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ระบุว่าเป็นอันตราย (Slightly halotrophic bacteria) ในจุดนี้ได้

ผลการศึกษาดังตารางที่ 28 การยืนยันสถานะการเฝ้าระวัง ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 2 ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี พบว่าการลดลงของปริมาณ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria จากปุ๋ยผสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง เป็นปุ๋ยเคมี ณ 24

ชั่วโมง 3, 3 และ 1 log cycle ตามลำดับ โดยมีปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มร้อยละ  $20.31 \pm 1.23$  จากการควบคุมในขั้นตอนการหมักปุ๋ยเค็มที่มีปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มร้อยละ  $20.31 \pm 1.23$  สามารถควบคุมเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria บางชนิด และในการทำงานเดียวกันให้ผลที่สอดคล้องกับจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลางลดลงจากปุ๋ยผสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง ( $1.5 \pm 1.56 \times 10^6$  CFU/g) ลดลง 1 log cycle ในปุ๋ยเค็ม 24 ชั่วโมง แต่หากดูการลดลงของปริมาณของจุลินทรีย์ (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria) จากปุ๋ยผสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง เป็นปุ๋ยเค็ม 48 ชั่วโมง มีค่าเป็น 3, 3 และ 1 log cycle ตามลำดับ มีปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มร้อยละ  $24.43 \pm 1.58$  ผลจากการควบคุมปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มในขั้นตอนการหมักเห็นได้ว่าที่ปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มร้อยละ  $24.43 \pm 1.58$  และ  $20.31 \pm 1.23$  ให้ผลที่สอดคล้องกับค่าของปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มที่ได้กำหนดไว้ในข้างต้นซึ่งแสดงประสิทธิภาพของการลดลงในเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว และปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเค็มร้อยละ  $24.43 \pm 1.58$  สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญอุณหภูมิปานกลางลดลง 2 log cycle

แสดงว่าปัจจัยที่ใช้ในการควบคุมคือปริมาณเกลือร้อยละอย่างน้อย 25 ในตัวปุ๋ยเค็มเพื่อการเฟื้อระวัง ณ จุดวิกฤตลำดับที่ 2 (CCP2) ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเค็ม ได้ถูกควบคุมอย่างมีประสิทธิภาพตามที่กำหนด ซึ่งจุดนี้แสดงประสิทธิภาพของระบบ HACCP plan ว่าสามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ระบุว่าเป็นอันตราย (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria) ในจุดนี้ได้

จากผลทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าการทดสอบ ณ จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมการผลิตปุ๋ยเค็มในห้องปฏิบัติการ ทั้งสองจุดวิกฤต (CCP1 และ CCP2) มีประสิทธิภาพในการควบคุมตามที่กำหนดไว้ ซึ่งสามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ระบุว่าเป็นอันตราย ณ จุดวิกฤตนั้น ๆ ได้

2.3.2 การทวนสอบ (Verification) ระบบ HACCP ที่เสนอในกระบวนการผลิตปุ๋ยเค็ม เพื่อยืนยันความถูกต้องในระบบการผลิตปุ๋ยเค็มในห้องปฏิบัติการที่ได้นำเสนอ

การทวนสอบระบบ HACCP เพื่อยืนยันความถูกต้องของระบบที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยเค็ม มีวิธีการศึกษาในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปุ๋ยเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง) โดยพิจารณาชนิดและปริมาณของลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีตามกระบวนการผลิตดังภาพที่ 14 ในตารางที่ 28 พบว่า จากตารางทำการคัดเลือกวัตถุดิบปุ๋ยผสมสดโดยการศึกษาตามเกณฑ์ในการคัดเลือกเห็นได้ว่าวัตถุดิบที่ใช้มีลักษณะทางประสาทสัมผัสให้ค่า QIM  $8.83 \pm 1.18$  คะแนนและค่า

TVB-N  $22.42 \pm 1.99$  mg/100g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ตารางที่ 18) และสามารถควบคุมปริมาณของจุลินทรีย์ (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria) ที่ระบุว่าเป็นอันตรายให้มียังมีปริมาณลดลงจากปุ๋ยมผสมสดไปเป็นปุ๋ยม 24 ชั่วโมงและปุ๋ยม 48 ชั่วโมง โดยการควบคุมปัจจัยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาทีในการต้มน้ำเกลืออิมัตวและปริมาณเกลือร้อยละ  $20.31 \pm 1.28$  (ปุ๋ยม 24 ชั่วโมง) และร้อยละ  $24.43 \pm 1.58$  (ปุ๋ยม 48 ชั่วโมง) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า HACCP plan นี้ได้ถูกทวนสอบว่ามีประสิทธิภาพในการผลิตปุ๋ยมให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

**ตารางที่ 28** ชนิดและปริมาณของลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีในวัตถุดิบและกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี โดยการควบคุมด้วยระบบ Hazard analysis critical control point เพื่อใช้ข้อมูลประกอบการทวนสอบ (Validation) ณ จุดวิกฤตและการทวนสอบ (Verification) กระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี

ลำดับที่	ชนิดตัวอย่าง	ลักษณะทางจุลชีววิทยา [(CFU/g)± SD; n**=3]					Slightly halotrophic bacteria	Extremely halotrophic bacteria
		จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง	จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>			
<b>วัตถุดิบ</b>								
1	ปุ๋ยผสมสด	3.8±2.18 x 10 <sup>6</sup>	1.2±0.41 x 10 <sup>7</sup>	2.5±3.13 x 10 <sup>3</sup>	3.8±6.18 x 10 <sup>3</sup>	3.2±2.85 x 10 <sup>6</sup>	ND	
2	เกลือเม็ด	9.4±1.01 x 10 <sup>2</sup>	ND	ND	ND	8.9±0.32 x 10 <sup>2</sup>	ND	
<b>ขั้นตอนการผลิต 4 ขั้นตอน</b> [ขั้นตอนการรับและล้างน้ำ(1), ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2), ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ (3) และ ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี (4)]								
3	ปุ๋ยผสมสดล้างน้ำ (1)	3.9±5.09 x 10 <sup>6</sup>	6.6±3.03 x 10 <sup>6</sup>	2.9±3.62 x 10 <sup>3</sup>	1.0±0.89 x 10 <sup>3</sup>	3.1±3.37 x 10 <sup>6</sup>	ND	
4	น้ำเกลืออิมตัว (2)	ND*	ND	ND	ND	ND	ND	
5	ปุ๋ยผสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง (3)	1.5±1.56 x 10 <sup>6</sup>	2.4±0.31 x 10 <sup>6</sup>	2.2±2.87 x 10 <sup>3</sup>	1.0±0.99 x 10 <sup>3</sup>	3.9±4.87 x 10 <sup>6</sup>	ND	
6	ปุ๋ยเคมี ณ เวลา 24 ชั่วโมง (4)	1.7±0.56 x 10 <sup>5</sup>	1.1±0.87 x 10 <sup>5</sup>	ND	ND	1.9±0.70 x 10 <sup>5</sup>	ND	
7	ปุ๋ยเคมี ณ เวลา 48 ชั่วโมง (4)	4.8±1.05 x 10 <sup>4</sup>	1.0±1.25 x 10 <sup>3</sup>	ND	ND	1.8±1.94 x 10 <sup>5</sup>	ND	

ตารางที่ 28 (ต่อ)

ลำดับที่	ชนิดตัวอย่าง	ลักษณะทาง ประสาทสัมผัส คะแนน QIM จาก การประเมิน± SD	ลักษณะทางเคมี [(Unit ± SD); n**=3]				
			TVB-N (mg/100g ตัวอย่าง)	ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)	ปริมาณกรด (ร้อยละ)	ความเป็นกรด- เบส	ค่า a <sub>w</sub>
<b>วัตถุดิบ</b>							
1	ปูแสมสด	8.83±1.18	22.42±1.99	0.26±0.02	0.07±0.02	8.11±0.06	0.95±0.01
2	เกลือเม็ด	-	-	68.40±0.80	-	8.01±0.01	0.68±0.01
<b>ขั้นตอนการผลิต 4 ขั้นตอน</b> [ขั้นตอนการรับและล้างน้ำ(1), ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (2), ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ (3) และ ขั้นตอนการหมักปูเค็ม (4)]							
3	ปูแสมสดล้างน้ำ (1)	-	-	0.18±0.01	0.06±0.01	8.29±0.02	0.95±0.01
4	น้ำเกลืออิมตัว (2)	-	-	32.24±1.27	-	7.66±0.06	-
5	ปูแสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง (3)	-	-	1.86±0.12	0.06±0.01	8.14±0.15	0.95±0.01
6	ปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง (4)	-	-	20.31±1.28	0.03±0.01	7.88±0.12	0.78±0.01
7	ปูเค็ม ณ เวลา 48 ชั่วโมง (4)	-	-	24.43±1.58	0.02±0.01	7.78±0.25	0.74±0.01

หมายเหตุ: \* รายงานว่าไม่พบจุลินทรีย์โดยจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยกว่า 100 Est. (Swanson *et al.*, 1992), \*\* ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, - ไม่มีการตรวจวิเคราะห์

### 3. การจัดทำเอกสารเพื่อสร้างต้นแบบในการผลิตปุ๋ยเคมีที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

การศึกษาในหัวข้อนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเสนอต้นแบบระบบ HACCP ในการผลิตปุ๋ยเคมี เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อการบริโภค วิธีการศึกษาโดยการใช้ผลการทดลองจากหัวข้อที่ 1 และ 2 เพื่อสร้างต้นแบบระบบ HACCP ในการผลิตปุ๋ยเคมี ดังนี้

### ต้นแบบระบบ HACCP ในการผลิตปูเค็ม

รายละเอียดของผลิตภัณฑ์ (Product description and its distribution)	
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า(Pages)
1. สูตร/องค์ประกอบ (Formula/Recipe)	: ปูแสมสด 30.61 % ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) เกลือสมุทร 27.15%ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) น้ำสเตอร์ไรต์ 42.24%ขององค์ประกอบทั้งหมด (v/v)
2. ลักษณะสำคัญของผลิตภัณฑ์ (Important product characteristics)	: - ต้องยังคงสภาพเป็นตัว ในภาชนะบรรจุเดียวกันต้อง เป็นปูชนิดเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกัน - มีสี กลิ่น ที่ดีตามธรรมชาติของปูเค็ม ปราศจากกลิ่นอื่นที่ ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น - ไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้น ผม ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ [มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 1334/2549 มาตรฐาน ผลิตภัณฑ์ชุมชนปูเค็ม (สำนักงานมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549)] : ลักษณะทางเคมีของปูเค็ม ณ เวลาหมัก 48 ชั่วโมง - ปริมาณเกลือร้อยละ 24.43 ค่า $a_w$ เท่ากับ 0.74 และ ความ เป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.78
3. วิธีการใช้ (ต้องทำให้สุกก่อน/นำไปปรุง/พร้อมบริโภค) (How it is to be used must be cooked before consumption/ready to eat)	: การทำให้ผ่านความร้อนก่อนการบริโภค เช่น ปูเค็มหลน ปูเค็มต้มกะทิกับเปลือกแดงโม หรือ โดยไม่ผ่านความร้อนก่อนการบริโภค เช่น ใส่ในส้มตำ ยำปูเค็ม เป็นต้น
4. ภาชนะบรรจุ ชนิด (Packaging type)	: ถุงพลาสติกที่ปิดสนิทไม่อับอากาศ
5. สถานที่จำหน่าย (Where it will be sold?)	: ตลาดสด, ซูเปอร์มาร์เก็ต

ผู้รับรอง (Approved by).....

กำหนดผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ (Intended use and consumer of the food)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
<p>แนวทางการกำหนด</p> <p>(Guideline for identifying and the intended use)</p> <p>1. ผู้บริโภคใช้ผลิตภัณฑ์นี้เมื่อไหร่ ใช้อย่างไร (When and how is the normal use of the food by intended consumers?)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ผลิตภัณฑ์นี้ใช้เมื่อต้องการบริโภค ก่อนการบริโภคต้องมีการปรุงแต่งรสชาติหรือต้มผลิตภัณฑ์ ก่อนการปรุงรสชาติ เช่น ยำปูเค็ม, ใส่ในส้มตำ, น้ำพริกปูเค็ม, ปูเค็มหลน เป็นต้น</li> </ul> <p>2. ใครบริโภคผลิตภัณฑ์นี้ (Who will consumer the food?)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- บุคคลทั่วไปที่ต้องการบริโภค แต่หากผู้ที่มีความเสี่ยงต่อโรคที่มีสาเหตุจากความเค็มสูงไม่ควรบริโภคผลิตภัณฑ์นี้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีรสชาติเค็ม</li> </ul> <p>3. ผลิตภัณฑ์นี้มีความเสี่ยงต่อทารก คนชราหรือไม่ (Is the food intended for high-risk populations infants, elderly, immunocomprised ?)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- มีความเสี่ยงต่อทารก และคนชราได้หากมีการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานเล็กน้อย</li> </ul> <p>4. ผลิตภัณฑ์นี้ขายปลีกหรือส่งให้ภัตตาคาร โรงแรมโดยไม่ขายปลีก (Is food intended for retail or food service?)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ขายได้ทั้งปลีกและส่งให้กับภัตตาคาร โรงแรมและร้านตามตลาดสด</li> </ul> <p>5. ผลิตภัณฑ์นี้ต้องเก็บรักษาด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง		
1. โครงสร้างและการออกแบบ		
1.1 ที่ตั้งและบริเวณโดยรอบ		
(1) โรงงานต้องตั้งอยู่ในแหล่งที่ไม่มีน้ำท่วมขัง หรือมีวิธีการป้องกันไม่ให้มีน้ำท่วม และไม่ตั้งอยู่ในเขตที่มีมลพิษที่มีผลต่อความปลอดภัยของอาหาร		
(2) พื้นที่บริเวณรอบๆ ตัวอาคารที่อยู่ในความดูแลของโรงงาน ต้องอยู่ในสภาพที่สะอาด ไม่มีกองขยะ หรือเศษสิ่งที่ไม่ใช่แล้ว เพื่อไม่ให้เป็นที่อยู่อาศัยของหนู แมลงและสัตว์อื่นๆ มีที่เก็บ หรือกำจัดขยะแยกเป็นสัดส่วน และถูกสุขลักษณะ		
(3) ทางระบายน้ำรอบโรงงานต้องมีขนาดเพียงพอ ไม่ทำให้เกิดน้ำขัง		
1.2 พื้นที่และการแบ่งบริเวณผลิต		
(1) ห้องผลิตต้องมีพื้นที่เพียงพอสำหรับการจัดวางอุปกรณ์และการจัดเก็บวัสดุที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ให้เกิดความสะดวกในการรักษาสุขลักษณะ		
(2) ออกแบบพื้นที่การผลิตให้เหมาะสม สามารถป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการผลิตทั้งทางเชื้อจุลินทรีย์ เคมี และสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ โดยอาจลดการปนเปื้อนดังกล่าวด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่นการแยกบริเวณ การผลิตต่างเวลาหรือกั้นแยกห้อง เป็นต้น การผลิตผลิตภัณฑ์จะต้องแยกจากส่วนขั้นตอนของวัสดุดิบโดยเด็ดขาด		
1.3 พื้น ผนัง เพดาน โรงงาน		
(1) ทำด้วยวัสดุแข็งแรง มีเรียบ ไม่มีรอยแตกร้าว ไม่ดูดซับน้ำ มีสีอ่อน และทำความสะอาดได้ง่าย		
(2) ในระหว่างการปฏิบัติงาน พื้น ผนังและเพดานต้องอยู่ในสภาพสะอาด ไม่มีการหมักหมมของเศษวัสดุคืบเป็นเวลานานตลอดทั้งวัน ถ้าเป็นพื้นเปียก หลังเลิกงานต้องทำความสะอาดพื้นและล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้ง		
(3) พื้นต้องไม่ลื่นในระหว่างการปฏิบัติงาน มีความลาดเอียงไปทางท่อระบายน้ำเล็กน้อย เพื่อให้การระบายน้ำเป็นไปอย่างรวดเร็ว ไม่มีน้ำขัง รอยต่อของพื้นและผนังควรมีลักษณะโค้งหรือตัดเฉียง ไม่หักเป็นมุมฉาก		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
<p>ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง</p> <p>(4) ขอบหน้าต่าง ส่วนของหน้าต่างต้องลาดเอียงลงอย่างเหมาะสม ผนังส่วนที่เป็นกระจกแก้ว ต้องมีการป้องกันการแตกกระจายของเศษแก้ว</p> <p>1.4 ทางระบายน้ำ</p> <p>(1) พื้นผิวของท่อต้องมีลักษณะเรียบ ไม่ขรุขระและสะอาด มีความลาดเอียงเพียงพอที่จะให้น้ำไหลออกได้สะดวก ไม่มีน้ำขังนิ่ง มีฝาปิดปากท่อที่เหมาะสม สามารถเปิดทำความสะอาดได้และป้องกันการปนเปื้อนได้</p> <p>(2) ทางระบายน้ำในห้องผลิตต้องมีจำนวนและขนาดเพียงพอกับการระบายน้ำออกไม่ให้เอ่อล้น</p> <p>(3) น้ำที่ออกจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนสูง เช่น บริเวณทำการผลิตเบื้องต้น ต้องไม่ไหลย้อนกลับเข้าไปในบริเวณทำการผลิตอื่น ๆ ที่สะอาดกว่า</p> <p>1.5 แสงสว่าง</p> <p>(1) ความเข้มของแสงสว่างในบริเวณทำการผลิตทั่วไป ต้องมีอย่างน้อย 20 ฟุตเทียน (หรือ 220 ลักซ์) สำหรับขั้นตอนการผลิตที่เกี่ยวข้องกับการตรวจและการควบคุม</p> <p>(2) มีฝาครอบหลอดไฟในบริเวณผลิต เพื่อป้องกันการตก ปลอมปนของเศษแก้วในผลิตภัณฑ์ในกรณีที่มีหลอดไฟแตก รวมทั้งต้องรักษาความสะอาดของฝาครอบอย่างสม่ำเสมอ</p> <p>1.6 การระบายอากาศ</p> <p>(1) บริเวณผลิตต้องมีระบบการระบายอากาศที่ดี สามารถระบายกลิ่น ควัน ไอ น้ำ และความร้อนที่เกิดจากระบวนการผลิต มีการป้องกันการควบแน่นของไอน้ำ</p> <p>2. วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ</p> <p>2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ</p> <p>(1) วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในบริเวณทำการผลิต ต้องสะอาด มีผิวเรียบ ไม่มีรอยแตก ทำด้วยวัสดุที่ทำความสะอาดง่าย ไม่ดูดซับน้ำ ไม่เป็นสนิม และทนทานต่อการกร่อน สำหรับ</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
<p>ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง</p> <p>วัสดุอุปกรณ์ที่ต้องสัมผัสกับอาหารต้องทำจากวัสดุที่ไม่ก่อให้เกิดพิษหรือมีผลต่อกลิ่นรสของอาหาร</p> <p>(2) เครื่องมือทุกชนิดที่ใช้ในการผลิต ต้องออกแบบให้เหมาะสมกับการใช้งาน และสะดวกในการรักษาความสะอาด ล้าง และฆ่าเชื้อ รวมทั้งมีการป้องกันที่เหมาะสมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำมันหล่อลื่นหรือน้ำมันเครื่องมือไปยังผลิตภัณฑ์</p> <p>(3) อุปกรณ์ที่ล้างทำความสะอาดแล้วต้องมีที่เก็บเหมาะสม ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน</p> <p>(4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุม ตรวจวัด หรือบันทึก เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น อุปกรณ์ตรวจวัดอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบส หรือค่าปริมาณน้ำอิสระ (a<sub>w</sub>) ต้องอยู่ในสภาพดี มีความเที่ยงตรง สามารถวัดค่าได้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน</p> <p>2.2 อุปกรณ์ทำความสะอาด</p> <p>(1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำ ความสะอาด ต้องทำด้วยวัสดุปลอดสนิม ไม่ดูดซับน้ำ และรักษาความสะอาดอยู่เสมอ</p> <p>(2) ที่เก็บอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำ ความสะอาด ต้องเป็นสัดส่วนและถูกสุขลักษณะ</p> <p>2.3 ภาชนะใส่เศษเหลือจากการผลิต</p> <p>(1) ภาชนะใส่เศษเหลือจากการผลิตจากการผลิตต้องอยู่ในสภาพถูกสุขลักษณะทำด้วยวัสดุที่ไม่ดูดซับน้ำ ทำความสะอาดง่าย และไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังผลิตภัณฑ์</p> <p>(2) แยกภาชนะสำหรับใส่เศษเหลือโดยเหลือโดยเฉพาะ อย่างชัดเจน</p> <p>3. สารเคมีและวัสดุบรรจุภัณฑ์</p> <p>3.1 สารเคมี</p> <p>(1) สารปรุงแต่งที่ใช้ในการผลิต การจัดเก็บต้องมีฉลากแสดงชื่ออย่างชัดเจน และเก็บแยกเป็นหมวดหมู่ในสถานที่ที่เป็นสัดส่วน สะอาด เป็นระเบียบ สามารถป้องกันฝุ่น แผลง และสัตว์กัดแทะต่าง ๆ ได้</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
<p>ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง</p> <p>3.2 วัสดุบรรจุภัณฑ์</p> <p>ต้องทำจากวัสดุที่เหมาะสม สามารถเก็บรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์และป้องกันการปนเปื้อนและสิ่งแปลกปลอมได้ สถานที่จัดเก็บเป็นสัดส่วน มีการรักษาความสะอาด มีการระบายอากาศที่ดี ป้องกันฝุ่นและแมลงได้</p> <p>4. การรักษาความสะอาดและสุขลักษณะ</p> <p>4.1 ระบบการล้างทำความสะอาด</p> <p>(1) มีแผนการทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือ และห้องผลิตอย่างเหมาะสมทั้งวิธีการล้างและความถี่ ส่วนของอุปกรณ์และเครื่องมือที่สัมผัสกับอาหาร โดยตรง ต้องมีการฆ่าเชื้อหลังทำความสะอาด</p> <p>(2) น้ำยาล้างทำความสะอาดและน้ำยาฆ่าเชื้อต้องมีคุณสมบัติเหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้ และปลอดภัยกับการใช้ในโรงงานผลิตอาหาร</p> <p>(3) มีการตรวจติดตามความเหมาะสมและประสิทธิภาพของแผนการทำความสะอาดสม่ำเสมอ</p> <p>4.2 ระบบป้องกันหนู แมลงและสัตว์อื่น ๆ</p> <p>(1) ต้องไม่มีหนู แมลงและสัตว์อื่น ๆ ในบริเวณโรงงานผลิตอาหาร</p> <p>(2) โครงสร้างต้องอยู่ในสภาพดี ไม่มีช่องเปิดที่จะเป็นทางเข้าของสัตว์ต่าง ๆ โดยช่องเปิดเหล่านี้ เช่น ช่องระบายอากาศ หรือช่องทางออกของทางระบายน้ำไปยังภายนอกอาคาร ต้องมีมุ้งลวดหรือตะแกรงที่เหมาะสม สามารถป้องกันหนูและแมลงได้ รวมทั้งไม่เก็บวัสดุ อุปกรณ์ หรือเครื่องมือต่าง ๆ ที่ไม่ใช้ในบริเวณนี้</p> <p>(3) มีแผนการกำจัดและตรวจติดตามการปรากฏหรือร่องรอยของหนู แมลง และสัตว์อื่น ๆ อย่างสม่ำเสมอและมีประสิทธิภาพ ยาที่ใช้กำจัดต้องเป็นชนิดที่เหมาะสมกับโรงงานผลิตอาหาร ได้รับรองจากหน่วยงานที่เชื่อถือได้ และดำเนินการโดยพนักงานที่ได้รับการฝึกอบรม</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง		
4.3 การกำจัดเศษเหลือและขยะ		
<p>บริเวณที่เก็บต้องเป็นสัดส่วนและมีคิซิด ถูกสุขลักษณะ ถ้าเก็บนอกอาคาร ต้องมีฝาปิดคิซิด การกำจัดเศษเหลือและขยะควรถูกสุขลักษณะ ไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังผลิตภัณฑ์ ต้องขนถ่ายเศษเหลือจากห้องผลิตอย่างสม่ำเสมอและเหมาะสม ไม่ทิ้งค้างไว้ในห้องผลิตจนทำให้เกิดการปนเปื้อน ไปยังผลิตภัณฑ์</p>		
4.4 ระบบการกำจัดน้ำเสีย		
<p>ระบบและวิธีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียต้องมีประสิทธิภาพ ไม่ก่อให้เกิดเป็นแหล่งสะสมของแมลงและเป็นแหล่งแพร่การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไปยังผลิตภัณฑ์และการผลิต</p>		
5. สิ่งจำเป็นสำหรับสุขลักษณะ		
5.1 น้ำใช้ในโรงงานและน้ำแข็ง		
<p>(1) ระบบการเตรียมน้ำใช้ต้องมีประสิทธิภาพและจัดเตรียมอย่างถูกสุขลักษณะ ใช้น้ำให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้ น้ำใช้ที่สัมผัสกับอาหารหรือพื้นผิวที่สัมผัสกับอาหารต้องสะอาด และได้มาตรฐานน้ำบริโภค โดยมีเชื้อ Total coliforms น้อยกว่า 2.2 MPN/100 ml <i>E. coli</i> ต้องไม่พบใน 100 ml และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำก่อเกิดโรค</p>		
<p>(2) น้ำใช้ในโรงงานต้องมีปริมาณเพียงพอกับการใช้ในการผลิตประจำวัน ซึ่งรวมทั้งการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือ โรงงาน และการล้างทำความสะอาดของพนักงานต้องมีการป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปในระบบน้ำใช้จากการเปลี่ยนแปลงของแรงดันทำให้เกิดการดูดกลับของน้ำจากภายนอกเข้าไปในระบบท่อ</p>		
<p>(3) น้ำแข็งต้องผลิตจากน้ำที่สะอาด การผลิต การเก็บและการขนถ่าย ต้องถูกสุขลักษณะ และป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์</p>		
<p>(4) น้ำที่ใช้ทั่วไปและน้ำใช้ในวัตถุประสงค์อื่น ต้องมีระบบท่อแยกจากน้ำที่ต้องสัมผัสอาหารและมีเครื่องหมายแสดงความแตกต่างไว้ชัดเจน</p>		
5.2 อ่างล้างมือ		
<p>(1) มีอ่างน้ำล้างมือจำนวนเพียงพอกับการใช้งาน และติดตั้งทุกทางเข้าของห้องผลิต</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
<p>ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง</p> <p>(2) อ่างล้างมือต้องสะอาด มีสบู่เหลว และอุปกรณ์ทำใ้มีมือแห้ง เช่น กระดาษเช็ดมือ หรือผ้าเช็ดมือชนิดใช้ครั้งเดียว</p> <p>5.3 ห้องสุขา</p> <p>มีจำนวนห้องสุขาเพียงพอกับจำนวนคนงาน</p> <p>(1) บริเวณห้องสุขาต้องอยู่ในสภาพที่ดี สะอาด ระบายอากาศดี มีแสงสว่างอย่างเพียงพอ มีกระดาษชำระและถังขยะพร้อมฝาปิดมิดชิด ห้องสุขาต้องไม่เปิดออกไปยังห้องผลิตโดยตรง</p> <p>(2) ต้องจัดใ้มีอ่างน้ำล้างมือ และมีน้ำยาล้างมือ</p> <p>6. บุคลากร</p> <p>6.1 สุขภาพทั่วไป</p> <p>(1) พนักงานต้องไม่เป็นโรคติดต่อร้ายแรง ไม่เป็นพาหะของโรคทางเดินอาหาร</p> <p>(2) ไม่มีแผลเปิด แผลติดเชื้อหรือแผลอื่นๆ ที่ทำให้มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนไปยังผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้จะมีการป้องกันที่เหมาะสม เช่น ปิดแผลด้วยแผ่นพลาสติก และสวมถุงมืออีกชั้น</p> <p>6.2 การปฏิบัติตนของพนักงาน</p> <p>(1) ไม่สูบบุหรี่ บ้วน ถ่มน้ำลาย รับประทานอาหารในห้องผลิต และไม่ไอหรือจามใส่ วัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์ ไม่เคาะ เกะ เกา ขณะทำงาน คนงานที่ไม่ใส่ถุงมือขณะทำงาน ต้องไม่ให้เล็บยาว และไม่ทาเล็บโดยเด็ดขาด</p> <p>(2) ไม่สวมใส่เครื่องประดับ เช่น แหวน นาฬิกา ต่างหู และสร้อย</p> <p>(3) พนักงานที่ต้องสัมผัสกับวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ หรือวัสดุบรรจุภัณฑ์ ต้องรักษาความสะอาดของร่างกาย ล้างมือใ้สะอาดและจุ่มน้ำยาฆ่าเชื้อทั้งก่อนและหลังทำงานในระหว่างการผลิตตามความเหมาะสม ทุกครั้งที่กลับเข้ามาในบริเวณทำการผลิต และหลังใช้ห้องสุขา</p> <p>6.3 การแต่งกาย</p> <p>จัดใ้มีเครื่องแต่งกายที่เหมาะสมกับลักษณะงานตามความจำเป็น ไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังผลิตภัณฑ์ เช่น ผ้ากันเปื้อน ถุงมือชนิดไม่ดูดซับน้ำ</p>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง		
6.4 การฝึกอบรม		
(1) บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการตรวจควบคุมสุขลักษณะและความสะอาดของอุปกรณ์ เครื่องมือ และกระบวนการผลิต ต้องมีความรู้หรือได้รับการฝึกอบรมให้เข้ามาตรฐานความปลอดภัยของการผลิตอาหาร		
(2) พนักงานที่ทำงานสัมผัสกับอาหาร และหัวหน้าผู้ควบคุม ต้องได้รับการฝึกอบรมวิธีการปฏิบัติงานอย่างถูกสุขลักษณะ และรับทราบถึงอันตรายจากการปฏิบัติที่ไม่เหมาะสม		
7. การควบคุมการผลิต		
7.1 วัตถุดิบและส่วนผสม		
(1) วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ต้องสะอาดและมีคุณภาพเหมาะสมต่อการบริโภค บันทึกรหัสแหล่งที่มา และตรวจวัดอุณหภูมิของวัตถุดิบเมื่อถึงโรงงานทุกครั้ง		
(2) ก่อนรับวัตถุดิบ ต้องมีการตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพทุกรุ่น พร้อมบันทึกผล และต้องแยกวัตถุดิบที่มีลักษณะผิดปกติ หรือเริ่มเน่าเสียออก		
(3) บริเวณรับวัตถุดิบต้องแยกออกจากบริเวณผลิตอื่น ๆ โดยเด็ดขาด มีพื้นที่เพียงพอสำหรับการรับวัตถุดิบ มีอุปกรณ์ช่วยอำนวยความสะดวกในการขนถ่าย ถ้าเป็นที่เปิดโล่ง การขนถ่ายวัตถุดิบต้องกระทำอย่างรวดเร็ว และเก็บวัตถุดิบในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด หากมีกิจกรรมการล้างและซั้บน้ำหนักวัตถุดิบ บริเวณดังกล่าวต้องอยู่ในที่ปิดที่เหมาะสม		
(4) ต้องรักษาความสะอาดบริเวณรับวัตถุดิบอย่างสม่ำเสมอ และมีระบบป้องกันแมลงหนูและสัตว์อื่น ๆ		
(5) การรับวัตถุดิบจะต้องเป็นไปอย่างถูกสุขลักษณะ และมีการคัดแยกวัตถุดิบที่ไม่ต้องการออกโดยแยกลงในภาชนะแยกต่างหาก วัตถุดิบต้องล้างด้วยน้ำและน้ำแข็งที่สะอาดก่อนนำมาผลิต		

ผู้รับรอง (Approved by).....

การควบคุมสุขลักษณะในการผลิตปูเค็ม (Plant sanitation guide lines)	
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า(Pages)
<p>ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง</p> <p>(6) วัตถุดิบที่ผ่านขั้นตอนการรับวัตถุดิบเข้ามาแล้ว หากยังไม่นำไปใช้ในทันที ต้องเก็บในภาชนะที่สะอาด และแยกเก็บในบริเวณเฉพาะ ควรติดฉลากหรือแสดงเครื่องหมาย เพื่อความสะดวกในการเรียงลำดับการผลิตก่อนหลัง บริเวณเก็บวัตถุดิบต้องสะอาด ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนหรือเน่าเสียในวัตถุดิบ</p> <p>7.2 การผลิตการหมัก</p> <p>(1) บริเวณการหมักผลิตภัณฑ์ ต้องสะอาด ไม่มีสัตว์เลื้อย</p> <p>(2) การหมักต้องไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนไปยังผลิตภัณฑ์ หากอยู่ในที่ปิดโล่ง ต้องมีสิ่งปิดคลุมผลิตภัณฑ์ให้มีฉีดย</p> <p>7.3 การบรรจุ</p> <p>(1) บริเวณบรรจุผลิตภัณฑ์ ต้องเป็นสัดส่วนและสะอาด ไม่เป็นทางผ่านไปมาของผู้ที่ไม่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะการบรรจุของผลิตภัณฑ์ประเภทพร้อมบริโภค</p> <p>(2) การบรรจุผลิตภัณฑ์ต้องปฏิบัติอย่างถูกสุขลักษณะ ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในการเคลื่อนย้ายผลิตภัณฑ์ออกจากถาดบดล็อก ควรใช้น้ำสะอาดและไม่หมุนเวียนมาใช้</p> <p>(3) มีรหัสสินค้ากำกับบนทุกภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ ซึ่งรหัสดังกล่าวควรสามารถสืบย้อนกลับไปถึงแหล่งที่มาของวัตถุดิบ และวันเดือนปีของการผลิต</p> <p>7.9 ห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจสอบคุณภาพ</p> <p>(1) ควรมีห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์และเครื่องมือที่ได้มาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ทางจุลินทรีย์ รวมทั้งการตรวจทวนสอบ (verification) สุขลักษณะในการผลิต</p> <p>(2) วิธีการตรวจวิเคราะห์ควรเป็นวิธีมาตรฐาน และมีการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการ หากใช้ห้องปฏิบัติการภายนอก ห้องปฏิบัติการนั้นต้องสามารถแสดงมาตรฐานคุณภาพการวิเคราะห์</p> <p>ที่มา: กรมประมง (2547)</p>	

ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อปฏิบัติที่ดีในการผลิต Good Manufacturing Practice: GMP		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
ขั้นตอนการปฏิบัติในการผลิต		
<p>1. ขั้นตอนการรับและล้างปูแสม</p> <p>1.1 การรับปูแสมสด</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ปูแสมที่นำมาใช้จะต้องมีความสด มีก้าม 1 คู่และขา 4 คู่</li> <li>- มีการควบคุมอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส แช่น้ำแข็ง โดยน้ำแข็งที่ใช้จะต้องไม่มีการปนเปื้อน</li> <li>- ปูแสมสดต้องใส่ในถุงพลาสติกก่อนเพื่อป้องกันการสัมผัสกับน้ำแข็งและใส่ลงในภาชนะ(กล่องโฟม) เพื่อควบคุมอุณหภูมิโดยภาชนะที่ใช้ต้องสะอาด ผิวเรียบ ไม่ดูดซึมน้ำ และต้องป้องกันการปนเปื้อนได้</li> <li>- น้ำแข็งที่ใช้ต้องผลิตมาจากน้ำที่สะอาด ไม่มีการปนเปื้อน</li> <li>- การพิจารณาความสดและเกณฑ์ทางเคมี, จุลชีววิทยา และทางประสาทสัมผัสของปูแสม ณ อุณหภูมิห้อง ค่าสมการที่ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้วิธีดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method; QIM) (ระบบการใช้คะแนนทางประสาทสัมผัสตามตารางปูแสมสด-1) คือ สมการ <math>Y = 084X - 1.32</math> (<math>r^2 = 0.96</math>); X= ระยะเวลา (อายุการเก็บรักษา), Y=คะแนน QIM (Quality Index Method), ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) และจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ <math>21.00 \pm 1.00</math>, <math>59.56 \pm 5.70</math> มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ <math>7.56 \pm 0.25</math> log CFU/g ตามลำดับ ลักษณะที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดของผู้บริโภค (QIM=0 คะแนน) คือ ลำตัวสีม่วง-ดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวถึงเทา ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง ขาสีม่วง-ดำ ขาแน่น เกร็ง ไม่ตกจากแนวลำตัว จับปิ้งสีขาวขุ่น เป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิดกระดองเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิทกระดองสีดำ เป็นเงามัน ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น แน่นทั้งสองด้าน ยึดติดกันแน่น ลักษณะต่ำที่สุดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (QIM = 21.00) คือ ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียวคล้ำ กระดองนูนมีน้ำออกมาเมื่อกด ก้านตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุ่นขาวขาสีม่วงถึงดำ ซีด ขาดกลจากแนวลำตัวมาก ขาและก้ามแน่น จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะภายในตัวปู ฝาท้องปิดไม่สนิท เหงือกมีสีดำ กระดองสีดำ เปิดกระดองมีเมือก อวัยวะภายในสีดำ มีโพรงอากาศบริเวณกระดองบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง มีกลิ่นแอมโมเนียสูง</li> </ul>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อปฏิบัติที่ดีในการผลิต Good Manufacturing Practice: GMP	
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า(Pages)
ขั้นตอนการปฏิบัติในการผลิต	
<p>กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อนุ่มมากนุ่มทั้งสองด้านยึดติดกันแน่นปานกลาง กล้ามเนื้ออ่อนตัวลงปานกลาง</p> <p>- การพิจารณาความสดและเกณฑ์ทางเคมี จุลชีววิทยา และทางประสาทสัมผัสของปูแสม ณ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส (เก็บรักษาในน้ำแข็ง) ค่าสมการที่ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยใช้วิธีดัชนีประเมินคุณภาพ(Quality Index Method; QIM) (ระบบการใช้คะแนนทางประสาทสัมผัสตามตารางปูแสมสด-1) คือ สมการ <math>Y=1.44X+3.57</math> (<math>r^2=0.93</math>); X=ระยะเวลา (อายุการเก็บรักษา), Y=คะแนน QIM (Quality Index Method)ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) และ จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ <math>22.00 \pm 1.00</math> คะแนน <math>28.99 \pm 0.94</math> มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ <math>7.49 \pm 0.16</math> log CFU/g ตามลำดับ ลักษณะที่ ได้รับการยอมรับมากที่สุดของผู้บริโภค (QIM = 0) คือ ลำตัวสีม่วง-ดำเป็นเงา กระจกแข็ง ตาใสดำ ก้ามตาแข็ง ขาแน่นสีม่วง-ดำ เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว จับปิ้งขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น ฝาหน้าห้องปิดสนิท ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น, กระจกและท้องแข็ง การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระจกแน่น ลักษณะต่ำที่สุดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (QIM = 22.00) คือ ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาชัดเจน จับปิ้งสีเขียวคล้ำ เหงือกสีดำ ฝาห้องปิดไม่สนิท มีน้ำออกมาเมื่อกด ก้านตาอ่อนมาก ตาสีดำคล้ำถึงขุ่นขาว ขานิ่ม สีซีดถึงจุดดำ ขาดกลางแนวโค้ง อวัยวะภายในสีดำเยื่อหุ้มขาด มีกลิ่นแอมโมเนียสูง เนื้อนุ่มมาก ข้อต่อ ก้ามและขาอ่อน มีโพรงอากาศบริเวณกระจกเล็กน้อย</p> <p>1.2. การล้างทำความสะอาด</p> <p>- มีการตรวจสอบปูแสมระหว่างการล้างหากพบสิ่งแปลกปลอมต้องแยกออกทันที</p> <p>- น้ำที่ใช้ในการล้างต้องเป็นน้ำไหล และต้องเป็นน้ำที่สะอาด</p>	
<p>2. ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว</p> <p>2.1 การรับเกลือเม็ด</p> <p>- เกลือเม็ดมีสีขาว เป็นเม็ด ไม่จับตัวกันเป็นก้อน ลักษณะแห้งไม่ชื้น</p> <p>- ใส่ในถุงพลาสติกโพลิโพรพิลีน (PP) ที่สะอาดไม่มีสิ่งปนเปื้อน</p>	

ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อปฏิบัติที่ดีในการผลิต Good Manufacturing Practice: GMP		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)	วันที่ (Date)	
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)	หน้าที่ (Page no.)	จาก (of) หน้า(Pages)
ขั้นตอนการปฏิบัติในการผลิต		
<p>2.2 การเตรียมน้ำเกลืออิมตัว</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- น้ำที่ใช้ผ่านการสเตอริไรส์ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที)</li> <li>- น้ำเกลือที่ใช้ต้องเป็นน้ำเกลืออิมตัวเท่านั้น</li> <li>- ผ้ากรองน้ำเกลืออิมตัวต้องสะอาด ต้องแห้ง</li> <li>- มีการตรวจสอบอุณหภูมิของน้ำที่ต้ม ให้ได้ 100 องศาเซลเซียส ก่อนใส่เกลือเม็ด</li> </ul>		
<p>3. ขั้นตอนการเติมน้ำเกลืออิมตัว</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ภาชนะที่ใช้ (ขวดโหลแก้วมีฝาปิด) ในการหมักต้องผ่านการสเตอริไรส์ไม่เกิน 2 วัน และไม่มีไอน้ำในภาชนะ</li> </ul>		
<p>4. ขั้นตอนการหมักปูเค็ม</p> <p>4.1 ปูเค็ม</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- นำปูเค็มออกจากขวดโหลที่ใช้หมัก เพื่อทำการบรรจุใส่ในถุงพลาสติก</li> <li>- มีการชั่งน้ำหนักของปูเค็มแต่ละถุง ที่บรรจุ พร้อมติดฉลากระบุข้อมูลสำคัญต่าง ๆ เช่น วัน เดือน ปี ที่ผลิตและหมดอายุ ส่วนผสม เป็นต้น</li> <li>- อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และต้องมีการตรวจสอบอุณหภูมิอย่างสม่ำเสมอ</li> </ul>		

ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อมูลผลิตภัณฑ์องค์ประกอบและวัสดุต่างๆ ที่ใช้ในการผลิต (Raw Materials Ingredients and Incomes Materials List and Information)					
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)			วันที่ (Date)		
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)			หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า (Pages)		
ชื่อวัตถุดิบหรือ องค์ประกอบหรือวัสดุ ที่ใช้ ( Name of Raw Materiale or Ingredients Incoming Materials)	มาตร ฐานหรือ ข้อกำหนด ชนิดที่	รูปแบบ เช่น ผง / หั่น/ เหลว ฯลฯ (Characteris tics)	การเก็บรักษาเมื่อ นำมาส่ง : แขน้ำแข็ง / แขน้ำแข็ง / แห้ง ฯลฯ (Preservation Method)	การบรรจุ Packaging ขนาดบรรจุ (Size Package)	ข้อมูลอื่น/ หมายเหตุ (Other Information/ Remark)
ปูแสมสด	ข้อกำหนด ขนาดจาก การศึกษา คุณ ภาพปู แสม ใช้ตาราง ปูแสม สด-1 ประเมิน คุณ ลักษณะ ทาง ประสาท สัมผัส	ปูแสมทั้งตัว	แช่ในน้ำแข็ง หรือที่ อุณหภูมิห้อง	บรรจุใน กล่องโฟม	1.) เกณฑ์ค่าสุดท้าย ยอมรับทางเคมี จุลชีววิทยา และ ทางประสาทสัมผัส ของปูแสม ณ อุณหภูมิห้อง ค่า Quality Index Method; QIM หรือ ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) หรือ จุลินทรีย์ทั้งหมดที่ เจริญได้ที่อุณหภูมิ ปานกลางคือ 21.00±1.00 คะแนน หรือ 59.56±5.70 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง หรือ 7.56±0.25 log CFU/gตามลำดับ (เกณฑ์มาตรฐานปู เค็ม มีปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด 10 <sup>6</sup> CFU/g)

ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อมูลผลิตภัณฑ์องค์ประกอบและวัสดุต่างๆ ที่ใช้ในการผลิต (Raw Materials Ingredients and Incomes Materials List and Information)					
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)			วันที่ (Date)		
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)			หน้าที่ (Page no.)	จาก (of)	หน้า(Pages)
ชื่อวัตถุดิบหรือ องค์ประกอบหรือวัสดุ ที่ใช้ ( Name of Raw Materiale or Ingredients Incoming Materials)	มาตร ฐานหรือ ข้อกำหนด ชนิดที่	รูปแบบ เช่น ผง / หั่น/ เหลว ฯลฯ (Characteris tics)	การเก็บรักษาเมื่อ นำมาส่ง : แช่ น้ำแข็ง / แช่แข็ง / แห้ง ฯลฯ (Preservation Method)	การบรรจุ Packaging ขนาดบรรจุ (Size Package)	ข้อมูลอื่น/ หมายเหตุ (Other Information/ Remark)
					2.) เกณฑ์ค่าสุดท้าย ยอมรับทางเคมี จุลชีววิทยา และทาง ประสาทสัมผัสของปู แสม ณ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส (เก็บ รักษาในน้ำแข็ง) ค่า QIM (Quality Index Method) หรือ ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) หรือ จุลินทรีย์ทั้งหมดที่ เจริญได้ที่อุณหภูมิค่า คือ $22.00 \pm 1.00$ คะแนน หรือ $28.99 \pm 0.94$ มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมตัวอย่าง หรือ $7.49 \pm 0.16$ log CFU/g ตามลำดับ (เกณฑ์มาตรฐานปูเค็ม มีปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด $10^6$ CFU/g)

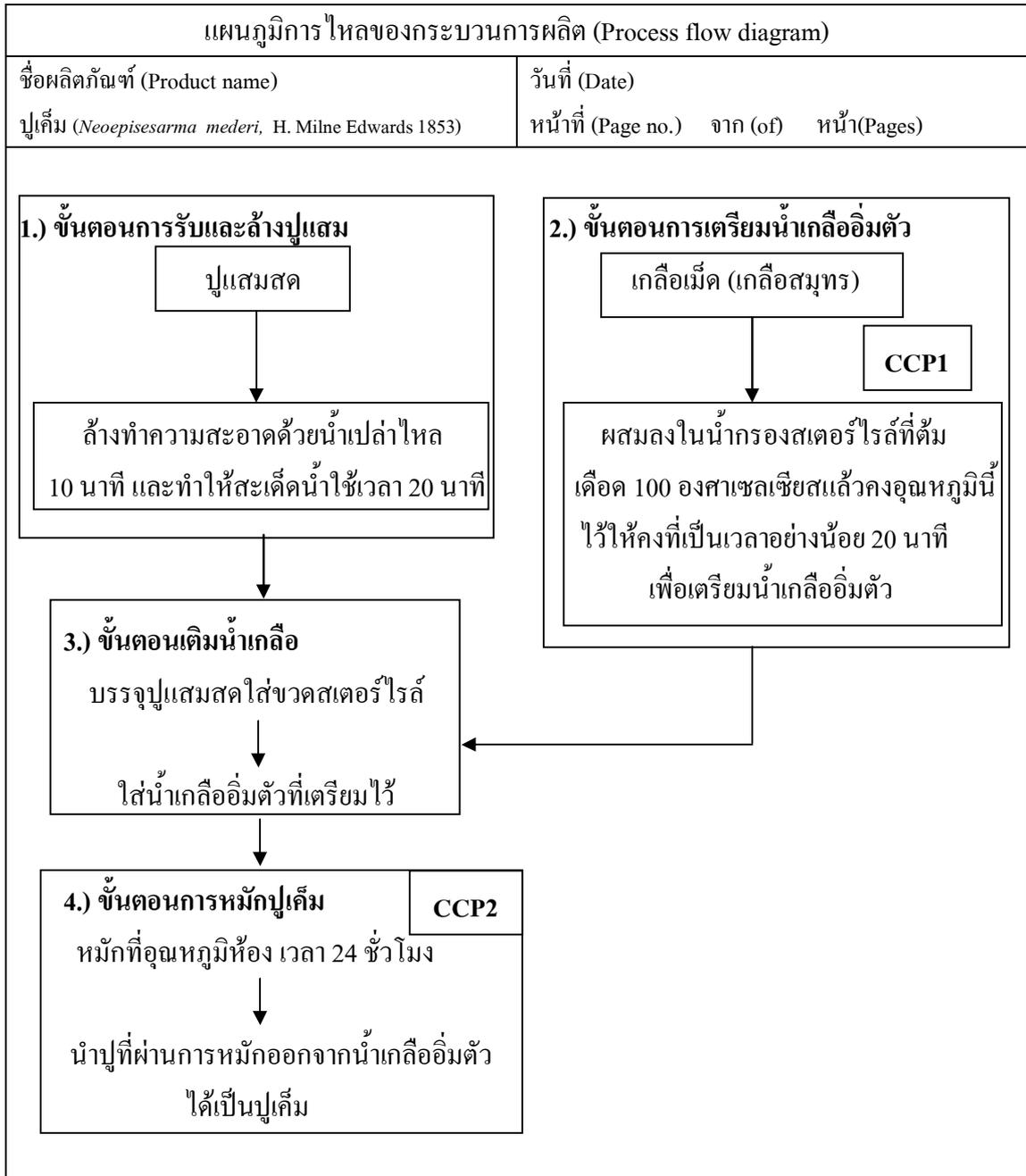
ผู้รับรอง (Approved by).....

ข้อมูลผลิตภัณฑ์องค์ประกอบและวัสดุต่างๆ ที่ใช้ในการผลิต (Raw Materials Ingredients and Incomes Materials List and Information)					
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)			วันที่ (Date)		
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)			หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า (Pages)		
ชื่อวัตถุดิบหรือ องค์ประกอบหรือ วัสดุที่ใช้ ( Name of Raw Materiale or Ingredients Incoming Materials)	มาตรฐาน หรือข้อกำหนด ชนิดที่	รูปแบบ เช่น ผง / หั่น/ เหลว ฯลฯ (Characteris tics)	การเก็บรักษาเมื่อ นำมาส่ง : แห้ง น้ำแข็ง / แห้งแข็ง / แห้ง ฯลฯ (Preservation Method)	การบรรจุ Packaging ขนาดบรรจุ (Size Package)	ข้อมูลอื่น/ หมายเหตุ (Other Information/ Remark)
เกลือสมุทร	ข้อกำหนด จาก การศึกษา อันตรายใน วัตถุดิบ	มีลักษณะ ของแข็งเป็น เม็ดขนาด ใหญ่ (coarse solid)	เก็บรักษาในที่ มีความชื้นต่ำ แห้ง มี อากาศถ่ายเท สะอาด จัดเป็น สัดส่วน	บรรจุใน ภาชนะ หรือถุงที่ สะอาด แข็งแรง ทนทาน ปิดสนิท และกัน ความชื้นได้	- ควรมีสีตาม ธรรมชาติไม่มีสิ่ง ปนเปื้อนที่มองเห็น ได้ เช่น ดิน กรวด ทราย - ไม่มีการปนเปื้อน ของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i>

ผู้รับรอง (Approved by).....

ตารางปูแสมสด-1 ดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method: QIM) ที่เสนอเพื่อใช้ประเมิน  
ลักษณะของปูแสมสด (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853)

ปัจจัยกำหนด คุณภาพ	ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนน
ลักษณะปรากฏ	- ลำตัวสีม่วง-ดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวยิ่งเทา	0
	- ลำตัวสีดำซีด กระจกแข็ง อวัยวะครบ ส่วนท้องสีเขียว	1
	- ลำตัวไม่มันเงาสีดำซีด มีน้ำออกจากตัวปู กระจกนูนเล็กน้อย อวัยวะครบ	2
	- ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียวคล้ำ กระจกนูนมีน้ำออกมาเมื่อกด	3
ตา	- ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง	0
	- ตาขุ่น ก้านตาอ่อน	1
	- ก้านตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุ่นขาว	2
ขาและก้าม	- ขาสีม่วง-ดำ ขาแน่น เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว	0
	- ขาสีซีดเล็กน้อย ขาดกลจากแนวลำตัวเล็กน้อย ขาแน่น	1
	- ขาสีม่วงถึงดำซีด ขาดกลจากแนวลำตัวมาก ขาและก้ามแน่น	2
	- ขาสีซีดถึงจุดดำ ขาดกลแนวคั้ง ขานิ่ม	3
จับปิ้ง (ด้านท้อง)	- จับปิ้งสีขาวยุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวยุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิดกระจกเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิท	0
	- จับปิ้งสีขาวยุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวยุ่นถึงคล้ำเล็กน้อย มีน้ำสีดำบริเวณฝากระจก ฝาปิดหน้าท้องเปิดเล็กน้อย	1
	- จับปิ้งสีเทาถึงเขียวเล็กน้อยไม่มันเงา ฝาปิดไม่สนิทเปิดเล็กน้อย เหงือกสีน้ำตาลคล้ำ มีน้ำออกจากตัวปูเมื่อกด	2
	- จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะภายในตัวปู ฝาท้องปิดไม่สนิท เหงือกมีสีดำ	3
กระจก (ด้านหลัง)	- กระจกสีดำเป็นเงามัน ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง	0
	- กระจกสีดำ-ม่วง-เหลืองซีดเล็กน้อย ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เนื้อสีทึบ	1
	- กระจกสีดำ เปิดกระจกมีเมือก อวัยวะภายในสีดำ มีโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง	2
	- กระจกสีเทาซีด มีโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง เมื่อกดมีน้ำออก	3
เนื้อและกลิ่นเนื้อ	- ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น	0
	- กลิ่นคาว เนื้อนุ่มเล็กน้อย	1
	- มีกลิ่นคาวมากถึงมีกลิ่นแอมโมเนียเล็กน้อย เนื้อนุ่ม	2
	- มีกลิ่นแอมโมเนียสูง กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อนุ่มมาก	3
การยึดติดของ- กระจก (ด้านหลัง)และ ร่างกายส่วนใต้ กระจก(ด้าน ท้อง)	- แน่นทั้งสองด้าน	0
	- ด้านหลัง (กระจก) แน่น ด้านท้องนุ่มเล็กน้อย	1
	- ด้านหลัง (กระจก) นุ่มเล็กน้อย ด้านท้องนุ่ม	2
	- นุ่มทั้งสองด้าน	3
การยึดติดของ- กล้ามเนื้อบริเวณ ขาและกระจก	- ยึดติดกันแน่น	0
	- ยึดติดกันแน่น กล้ามเนื้ออ่อนตัวเล็กน้อย	1
	- ยึดติดกันแน่นปานกลาง กล้ามเนื้ออ่อนตัวลงปานกลาง	2
	- การยึดติดขาและกระจกอ่อนตัวมาก กล้ามเนื้ออ่อนตัวมาก	3
คะแนนรวมดัชนีประเมินคุณภาพ หรือ Total demerit points		(0-23)



ผู้รับรอง (Approved by).....

การวิเคราะห์หาอันตราย (Hazard analysis)		
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)		วันที่ (Date)
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)		หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า (Pages)
Ingredient / Process Step	Identified Hazard	Preventive Measure (s) / Control
1.) ขั้นตอนการรับและล้างปู แสม ↓ ปูแสมสด ↓ ปูแสมล้างน้ำ	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ควบคุมโดย Plant sanitation guide lines และ GMP
2.) ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลือ อิ่มตัว ↓ เกลือเม็ด ↓ น้ำกรองสเตอไรลที่ต้ม 100 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้น้ำเกลืออิ่มตัว	- จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	1.) ควบคุมอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ต้มน้ำเกลือ 2.) ควบคุมน้ำเกลือให้อยู่ในสภาพของน้ำเกลืออิ่มตัว 3.) ควบคุมโดย Plant sanitation guide lines และ GMP
3.) ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ อิ่มตัว ↓ ปูแสมล้างน้ำ ↓ ปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ควบคุมโดย Plant sanitation guide lines และ GMP
4.) ขั้นตอนการหมักปูเค็ม ปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง ↓ ปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	1.) ควบคุมปริมาณเกลือในตัวปูเค็ม 2.) ควบคุมโดย Plant sanitation guide lines และ GMP

ผู้รับรอง (Approved by).....

การกำหนดจุดวิกฤตโดยใช้ Decision tree

ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)		วันที่ (Date)			
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)		หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า (Pages)			
ขั้นตอนการผลิต	Hazard *	Q1 มี Hazard ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงเพียงพอหรือรุนแรงหรือไม่ถ้าไม่มี ไม่ใช่ จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q2	Q2 Hazard มีการควบคุมหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q3	Q3 มีการควบคุมเพื่อป้องกัน กำจัด ลด hazard ที่จะเป็นความเสี่ยงต่อผู้บริโภคหรือไม่ ถ้าไม่มี ไม่ใช่จุด CCP ถ้ามีเป็นจุด CCP	หมายเลข CCP
1.) ขั้นตอนการรับและล้างปูแสม ปูแสมสด ↓ ปูแสมล้างน้ำ	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่	ไม่ (เสนอให้การล้างเป็นกระบวนการควบคุมอันตราย แต่ผลการทดลองพบว่าอันตรายไม่ได้ถูกกำจัดให้ลดลง)	-
2.) ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว เกลือเม็ด ↓ น้ำเกลืออิมตัว	- จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และกลุ่ม Extremely halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่ (มีการควบคุมน้ำที่ใช้สเตอร์ไรล์และการต้มน้ำเกลืออิมตัว)	ใช่ (มีการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส ตามระยะที่เหมาะสมสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขั้นตอนนี้)	CCP 1

ผู้รับรอง (Approved by).....

การกำหนดจุดวิกฤตโดยใช้ Decision tree					
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)			วันที่ (Date)		
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)			หน้าที่ (Page no.)	จาก (of)	หน้า(Pages)
ขั้นตอนการผลิต	Hazard *	Q1 มี Hazard ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงเพียงพอหรือรุนแรงหรือไม่ถ้าไม่มีไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q2	Q2 Hazard มีการควบคุมหรือไม่ ถ้าไม่มีไม่ใช่จุด CCP ถ้ามี ต่อไปที่ Q3	Q3 มีการควบคุมเพื่อป้องกันกำจัด ลดลง hazard ที่จะเป็นความเสี่ยงต่อผู้บริโภคหรือไม่ ถ้าไม่มีไม่ใช่จุด CCP ถ้ามีเป็นจุด CCP	หมายเลข CCP
3.) ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ ปูแสมล้างน้ำ ปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ไม่ (ไม่มีการควบคุมอันตรายในขั้นตอนนี้)	-	-
4.) ขั้นตอนการหมักปูเค็ม ปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง ↓ ปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง	- จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> - จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophilic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count)	ใช่	ใช่ (มีการควบคุมปริมาณเกลือในตัวปูเค็ม)	ใช่ (จากการควบคุมพบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ลดลงจากปูแสมสดผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมงมาเป็นปูเค็ม ณ เวลา 24 ชั่วโมง)	CCP2

หมายเหตุ: \* ข้อมูลจากการศึกษาหัวข้อเรื่องการกำหนดจุดวิกฤตที่ได้จากการวิเคราะห์อันตรายในข้อ 2.1.1 และ 2.1.3 โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision tree) และการวิเคราะห์อันตรายทางจุลชีววิทยาของปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุง

ผู้รับรอง (Approved by).....

แผนงาน HACCP (HACCP Plan)									
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)					วันที่ (Date)				
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)					หน้าที่ (Page no.)		จาก (of)	หน้า(Pages)	
Critical Control Point (CCP)	Significant Hazards	Critical Limits for each Control Measure	Monitoring				Corrective Action	Records	Verification
			What	How	Frequency	Who			
CCP1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว	จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด	อุณหภูมิการต้มน้ำเกลือที่ 100 องศาเซลเซียสให้คงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที (มีการลดลงของเชื้อ 3 log cycle จากเชื้อเริ่มต้น)	การต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสให้คงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที	ใช้เทอร์โมมิเตอร์ในการวัดอุณหภูมิ โดยจุ่มในน้ำเกลืออิมตัว คู่ค่าให้คงที่ 100 องศาเซลเซียสตลอดระยะเวลา 20 นาที	ทำทุกครั้งที่มีการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว	พนักงานที่เกี่ยวข้อง	ต้องต้มน้ำเกลือให้ได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ซ้ำและรักษาให้คงที่เท่ากับหรือนานกว่า 20 นาที กรณีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสและไม่สามารถควบคุมเวลาให้คงที่ ณ 100 องศาเซลเซียสจนครบ 20 นาที	บันทึกอุณหภูมิและเวลาที่ต้ม	ทำการสุ่มผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปูเค็ม) ตรวจสอบวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาทุกสัปดาห์และตรวจเอกสารการบันทึกข้อมูลทุกจุดวิกฤต

ผู้รับรอง (Approved by).....

แผนงาน HACCP (HACCP Plan)									
ชื่อผลิตภัณฑ์ (Product name)					วันที่ (Date)				
ปูเค็ม ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853)					หน้าที่ (Page no.) จาก (of) หน้า(Pages)				
Critical Control Point (CCP)	Significant Hazards	Critical Limits for each Control Measure	Monitoring				Corrective Action	Records	Verification
			What	How	Frequency	Who			
CCP2 ขั้นตอนการหมักปูเค็ม	จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> -จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria -จุลินทรีย์ทั้งหมด	ปริมาณร้อยละของเกลือในตัวปูเค็ม อย่างน้อยร้อยละ 25	ปริมาณเกลือในตัวปูเค็ม	สุ่มตรวจสอบปริมาณเกลือในตัวปูเค็ม โดยวิธี AOAC official method 937.09 (2000)	ทุกครั้งที่สิ้นสุดการหมัก	พนักงานที่เกี่ยวข้อง จุดวิกฤต	เพิ่มระยะเวลาในการหมักอีกอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ควบคุมจนกระทั่งปริมาณเกลือในตัวปูเค็มมีค่าอย่างน้อยร้อยละ 25 กรณีเมื่อครบเวลาหมักแล้วปริมาณเกลือในตัวปูเค็มยังไม่ถึงร้อยละ 25	บันทึกปริมาณร้อยละของเกลือในตัวปูเค็มที่สุ่มตรวจ	ทำการสุ่มผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปูเค็ม) ตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาทุกสัปดาห์ และตรวจเอกสารการบันทึกข้อมูลทุกจุดวิกฤต

ผู้รับรอง (Approved by).....

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. จากการศึกษาธรรมชาติของปัญหาด้านความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ต่อความปลอดภัยในการบริโภคปูเค็ม กลุ่มผู้บริโภคที่นิยมบริโภคปูเค็มเป็นเพศหญิงในช่วงอายุ 20 – 25 ปี ระดับวุฒิการศึกษาปริญญาตรีเป็นนิสิตหรือนักศึกษา ผู้บริโภคมีการบริโภคคิดเป็น 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์ การบริโภคไม่ได้ปรุงเอง แต่รับประทานผ่านร้านที่ปรุงผลิตภัณฑ์สำเร็จ ส่วนใหญ่รับประทานโดยใส่ในส้มตำ ผู้บริโภคมีความคิดว่าปูเค็มที่วางจำหน่ายในปัจจุบันสกปรกและ/หรือมีโอกาสนปนเปื้อน และผู้บริโภคปูเค็มมีปัญหาระบบการเจ็บป่วยหลังจากการบริโภค ต้องการให้มีการควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ปูเค็ม

2. การตรวจสอบลักษณะทางจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ทั้งหมด, จุลินทรีย์สร้างกรด, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, Yeast และ Mold) และทางเคมีในปูเค็มที่วางจำหน่ายในตลาดสดกรุงเทพฯ 50 ตัวอย่าง ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่สร้างกรดมีจำนวน  $3.5 \times 10^2$ - $1.7 \times 10^5$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $1.6 \times 10^4$  CFU/g) และ  $1.0 \times 10^0$ - $4.15 \times 10^4$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $1.2 \times 10^3$  CFU/g) ตามลำดับ จุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นอันตรายและมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. มีช่วงปริมาณเป็น  $< 3$ -23 MPN/g,  $1.0 \times 10^2$ - $2.1 \times 10^4$  CFU/g (ค่าเฉลี่ย  $8.5 \times 10^2$  CFU/g) และพบในตัวอย่าง 25 กรัม โดยพบเป็นร้อยละ 100, 30 และ 2.5 ของตัวอย่างทั้งหมด ตามลำดับ ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นที่ตรวจสอบ ส่วนลักษณะทางเคมี ได้แก่ ค่า  $a_w$ , ปริมาณเกลือ, ปริมาณกรด และความชื้น มีค่าเป็น  $0.72 \pm 0.01$ - $0.83 \pm 0.01$  (ค่าเฉลี่ย  $0.75 \pm 0.02$ ), ร้อยละ  $15.05 \pm 1.25$ - $33.95 \pm 0.25$  (ค่าเฉลี่ยร้อยละ  $25.21 \pm 5.78$ ), ร้อยละ  $0.04 \pm 0.01$ - $0.11 \pm 0.02$  (ค่าเฉลี่ยร้อยละ  $0.08 \pm 0.09$ ) และ  $7.87 \pm 0.06$ - $8.82 \pm 0.11$  (ค่าเฉลี่ย  $8.09 \pm 0.14$ ) ตามลำดับ

จากข้อสรุปข้างต้นชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายและควรจะมีการควบคุมในกระบวนการผลิตปูเค็ม ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ลักษณะทางเคมีของปูเค็มที่แสดงอาจส่งเสริมและ/หรือยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดและ/หรือจุลินทรีย์ก่อโรคที่ตรวจพบและไม่พบในตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์อันตรายในการผลิตปุ๋ยมุ่ จากการศึกษาอันตรายในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยมุ่ โดยเปรียบเทียบลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมี (เช่นเดียวกับตัวอย่างจากตลาดสด) ในตัวอย่าง 3 ทริตเมนต์ คือ ปุ๋ยมุ่สด (ใช้เป็นชุดควบคุมการทดลองเพื่อแสดงลักษณะทางจุลินทรีย์และลักษณะทางเคมีของวัตถุดิบ), ปุ๋ยมุ่เน่าเสีย (ปุ๋ยมุ่สดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมงและไม่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสแล้ว ใช้เป็นชุดควบคุมการทดลองเพื่อแสดงลักษณะทางจุลินทรีย์ก่อโรคที่สามารถเจริญได้และลักษณะทางเคมีในวัตถุดิบในระยะเวลาการเก็บเดียวกันกับเวลาการยุติกระบวนการผลิตปุ๋ยมุ่) และปุ๋ยมุ่ ณ ปริมาณเกลือร้อยละในตัวปุ๋ยมุ่เทียบเท่ากับค่าเฉลี่ยจากผลิตภัณฑ์ที่สำรวจได้ในท้องตลาด เพื่อเสนออันตรายที่มีนัยสำคัญและต้องตรวจสอบร่วมกับปัจจัยทางเคมีที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตปุ๋ยมุ่ (ภาพที่ 7) ซึ่งใช้ปุ๋ยมุ่สดร้อยละ 30.61 ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) ใส่สารละลายเกลือสมุทรที่ผ่านการต้มร้อยละ 27.15 ขององค์ประกอบทั้งหมด (w/v) ในปริมาณน้ำเตอรไรร้อยละ 42.24 ขององค์ประกอบทั้งหมด (v/v) ชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุมในการผลิตปุ๋ยมุ่และต้องตรวจสอบตลอดสายการผลิตเพื่อวิเคราะห์อันตรายที่มีนัยสำคัญของแต่ละขั้นตอนคือ กลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* และปริมาณเกลือน่าจะเป็นปัจจัยควบคุมจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ก่อโรคที่ตรวจพบ

การไม่พบ *Salmonella* sp. ในสายการผลิตในการควบคุมปริมาณเกลือที่กำหนด แสดงว่า เชื้อนี้ในตัวอย่างข้อสรุปที่ 1 อาจเนื่องจากการควบคุม GMP และปริมาณเกลือที่ไม่สมบูรณ์ และจากการตรวจสอบพบว่าตัวอย่างที่พบมีปริมาณเกลือที่ต่ำกว่าปริมาณที่จะควบคุมเชื้อนี้ได้ (ร้อยละ 17.02) จึงตัด *Salmonella* sp. ออกจากอันตรายที่จะเสนอในการควบคุมโดยใช้ระบบ HACCP

4. การศึกษาคุณภาพของปุ๋ยมุ่สดเพื่อใช้คัดเลือกวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยมุ่ เพื่อควบคุมความสดที่ส่งผลต่อการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เบื้องต้น เพื่อผลิตปุ๋ยมุ่ที่ปลอดภัยไม่ทำให้อันตรายที่จะปนเปื้อน ณ จุดรับวัตถุดิบอย่างมีนัยสำคัญ ค่าสมการที่ได้ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาและเกณฑ์ลักษณะทางประสาทสัมผัส ค่า QIM (Quality Index Method) ค่าทางจุลชีววิทยา และดัชนีทางเคมี เพื่อใช้ตัดสินใจการยอมรับวัตถุดิบเพื่อนำมาผลิตปุ๋ยมุ่ให้เกิดความปลอดภัย สรุปได้ดังนี้

การพิจารณาความสดและเกณฑ์ทางเคมี, จุลชีววิทยา และทางประสาทสัมผัสของปุ๋ยมุ่ ณ อุณหภูมิห้อง ค่าสมการที่ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้วิธีดัชนีประเมินคุณภาพ(Quality Index Method; QIM) (ระบบการใช้คะแนนทางประสาทสัมผัสตามตารางที่ 6) คือ สมการ  $Y = 084X - 1.32$  ( $r^2 = 0.96$ ); X= ระยะเวลา (อายุการเก็บรักษา), Y=คะแนน QIM (Quality Index Method), ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) และจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้

อุณหภูมิปานกลางที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ  $21.00 \pm 1.00$ ,  $59.56 \pm 5.70$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ  $7.56 \pm 0.25$  logCFU/g ตามลำดับ ลักษณะที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดของผู้บริโภค (QIM=0 คะแนน) คือ ลำตัวสีม่วง-ดำ กระจกแข็ง อวัยวะครบ ลำตัวเป็นเงามัน ส่วนท้องสีขาวถึงเทา ตาใสสีดำ ก้านตาแข็ง ขาสีม่วง-ดำ ขาแน่น เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว จับปิ้งสีขาวขุ่น เป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น มีน้ำสีดำใสบริเวณฝาเปิดกระดองเล็กน้อย ฝาหน้าท้องปิดสนิทกระดองสีดำ เป็นเงามัน ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น แน่นทั้งสองด้าน ยึดติดกันแน่น ลักษณะต่ำที่สุดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (QIM = 21.00) คือ ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด ส่วนท้องเขียวคล้ำ กระจกนึ่มมีน้ำออกมาเมื่อกด ก้านตาอ่อนมาก สีดำคล้ำถึงขุ่นขาวขาสีม่วงถึงดำ ซีด ขาดกลจากแนวลำตัวมาก ขาและก้ามแน่น จับปิ้งสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีเมือกสีดำติดตามอวัยวะ ภายในตัวปู ฝาท้องปิดไม่สนิท เหงือกมีสีดำ กระดองสีดำ เปิดกระดองมีเมือก อวัยวะภายในสีดำ มีโพรงอากาศบริเวณกระดองบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง มีกลิ่นแอมโมเนียสูง กลิ่นเหม็นถึงกลิ่นเหม็นเน่ามาก เนื้อนึ่มมากนึ่มทั้งสองด้าน ยึดติดกันแน่นปานกลาง กล้ามเนื้ออ่อนตัวลงปานกลาง

การพิจารณาความสดและเกณฑ์ทางเคมี จุลชีววิทยา และทางประสาทสัมผัสของปูเสฉวน อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส (เก็บรักษาในน้ำแข็ง) ค่าสมการที่ใช้ทำนายอายุการเก็บรักษาในน้ำแข็ง โดยใช้วิธีดัชนีประเมินคุณภาพ (Quality Index Method; QIM) (ระบบการใช้คะแนนทางประสาทสัมผัสตามตารางที่ 6) คือ สมการ  $Y=1.44X+3.57$  ( $r^2=0.93$ ); X=ระยะเวลา (อายุการเก็บรักษา) Y=คะแนน QIM (Quality Index Method) ค่า TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) และ จุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ที่เป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับเพื่อบริโภคคือ  $22.00 \pm 1.00$  คะแนน  $28.99 \pm 0.94$  มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และ  $7.49 \pm 0.16$  log CFU/g ตามลำดับ ลักษณะที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดของผู้บริโภค (QIM = 0) คือ ลำตัวสีม่วง-ดำเป็นเงา กระจกแข็ง ตาใสดำ ก้านตาแข็ง ขาแน่นสีม่วง-ดำ เกร็งไม่ตกจากแนวลำตัว จับปิ้งขาวขุ่นเป็นเงา เหงือกสีขาวขุ่น ฝาหน้าท้องปิดสนิท ไม่พบโพรงอากาศบริเวณรอยตะเข็บกับจับปิ้ง ไม่มีกลิ่นถึงกลิ่นคาวเล็กน้อย กล้ามเนื้อเป็นมัดแน่น กระจกและท้องแข็ง การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระดองแน่น ลักษณะต่ำที่สุดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (QIM = 22.00) คือ ลำตัวสีดำ-เทาถึงมีจุดดำ ไม่เป็นเงาซีด จับปิ้งสีเขียวคล้ำ เหงือกสีดำ ฝาท้องปิดไม่สนิท มีน้ำออกมาเมื่อกด ก้านตาอ่อนมาก ตาสีดำคล้ำถึงขุ่นขาว ขา นึ่ม สีซีดถึงจุดดำ ขาดกลแนวคิ่ง อวัยวะภายในสีดำเยื่อหุ้มขาด มีกลิ่นแอมโมเนียสูง เนื้อนึ่มมาก ข้อต่อก้ามและขาอ่อน มีโพรงอากาศบริเวณกระดองเล็กน้อย

5. การวิเคราะห์อันตรายทางจุลชีววิทยาในวัตถุดิบและตลอดสายการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ 4 ขั้นตอน (ขั้นตอนการรับและล้างปุ๋ยเคมี ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ และขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี) แสดงประเภทของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ (พบจุลินทรีย์ที่มีชีวิต) ดังนี้ อันตรายในวัตถุดิบ ปุ๋ยผสมสด ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria เกลือสมุทร ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria

อันตรายตลอดสายการผลิต ขั้นตอนการรับและล้างปุ๋ยเคมี (ปุ๋ยผสมสดล้างน้ำ) ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (น้ำเกลืออิมตัว) ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด และ Slightly halotrophic bacteria ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ (ปุ๋ยผสมผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมง) ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ Slightly halotrophic bacteria และขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี (ปุ๋ยเคมี ณ เวลา 24 ชั่วโมง) ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus*, Slightly halotrophic bacteria และ Extremely halotrophic bacteria

ลักษณะทางเคมี (ปริมาณเกลือ ปริมาณกรด ความเป็นกรด-เบส และค่า $a_w$ ) ในการทดลองควบคู่ไปกับอันตรายทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบและตลอดสายการผลิต อาจสะท้อนสภาวะการส่งเสริมและหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายดังที่สรุปขึ้นต้น

6. การกำหนดจุดวิกฤตทางจุลินทรีย์ของการผลิตปุ๋ยเคมี (ขั้นตอนการรับและล้างปุ๋ยเคมี ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ขั้นตอนการเติมน้ำเกลือ และขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี) โดยใช้แผนภูมิการตัดสินใจ Decision tree จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมีคือ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว (CCP1) และขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี (CCP2)

7. ขอบเขตของการควบคุมอันตรายและการเฝ้าระวังปัจจัยที่ควบคุมอันตรายในกระบวนการผลิตปุ๋ยเคมี ณ จุดวิกฤตทั้งสอง (ดังข้อสรุปในข้อ 6) จากลำดับจุดวิกฤตที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว ขอบเขตของการควบคุมในขั้นตอนนี้คือการต้มน้ำเกลืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสให้คงที่ ณ อุณหภูมินี้เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที ปัจจัยนี้สามารถควบคุมให้อันตรายจากจุลินทรีย์ที่มีนัยสำคัญกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ลดลง 3 log cycle จากจำนวนจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเกลือที่อุณหภูมิห้องในการทดลอง (การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการเตรียมน้ำเกลืออิมตัวเพื่อกำหนดขอบเขตที่ต้องเฝ้าระวัง) และได้มีการยืนยันปัจจัยดังกล่าวโดยศึกษาขอบเขตการ

เฟ้าระวังกับจุลินทรีย์บริสุทธุ์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria ที่แยกได้จากเกลือสมุทรและน้ำเกลือ (เชื้อ SHB001, SHB004.1, SHB006, SHB008.1, SHB008.2, SHB009 และ SHB010) เพื่อการเฟ้าระวังจุลินทรีย์จากเชื้อบริสุทธุ์ลดลง 7 หรือ 8 log cycle จากเชื้อเริ่มต้นจำนวน 7-8 log cycle ทุกเชื้อ เมื่อใช้ปัจจัยดังกล่าวควบคุม ผลดังกล่าวเป็นการยืนยันการมีประสิทธิภาพของสภาวะนี้ในการเฟ้าระวัง ส่วนลำดับจุดวิกฤตที่ 2 ขั้นตอนการหมัก ขอบเขตของการควบคุมในขั้นตอนนี้คือปัจจัยของปริมาณเกลือที่มีในปุ้เต็ม จะทำให้เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และกลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง ขอบเขตของการควบคุมคือ ปริมาณเกลือในตัวปุ้อย่างน้อยร้อยละ 25 โดยยืนยันปัจจัยในการควบคุมจากเชื้อบริสุทธุ์ *Escherichia coli* TISTR780, *Staphylococcus aureus* TISTR1466 และ *Staphylococcus aureus* ที่แยกจากปุ้แสม และจุลินทรีย์บริสุทธุ์ที่แยกจากปุ้แสมล่างน้ำ และปุ้แสม (เชื้อรหัส SHB002, SHB005.1 และ SHB007) ที่ลดลง 7 log cycle, 8 log cycle และ 1-2 log cycle ที่ลดลง 7 log cycle, 8 log cycle ซึ่งเป็นการยืนยันการมีประสิทธิภาพของสภาวะดังกล่าวเพื่อการเฟ้าระวังในกระบวนการผลิตปุ้เต็ม

การเฟ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 1 ถูกเสนอว่าเป็นการควบคุมอุณหภูมิในการต้มน้ำเกลือ อ้อมตัว ณ 100 องศาเซลเซียสรักษาให้คงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที ทำการตรวจสอบปัจจัยอุณหภูมิและเวลาทุกครั้งที่มีการต้มน้ำเกลือในการผลิต มีพนักงานในการผลิตเป็นผู้ควบคุม

การเฟ้าระวัง ณ จุดวิกฤตที่ 2 ถูกเสนอว่าเป็นการควบคุมปริมาณเกลือในตัวปุ้เต็มให้มีปริมาณเกลือร้อยละอย่างน้อย 25 ทำการตรวจสอบทุกครั้งที่มีการผลิตผ่านการสุ่มตรวจสอบปริมาณเกลือในตัวปุ้เต็ม ซึ่งพนักงานที่ทำการผลิตเป็นผู้ควบคุม

8. จากการศึกษานิคและลักษณะของจุลินทรีย์ที่แยกจากผลิตภัณฑ์ปุ้เต็ม (SHB001, SHB002, SHB004.1, SHB005.1, SHB006, SHB007, SHB008.1, SHB008.2, SHB009 และ SHB010) สามารถจัดกลุ่มตามวิธีการของ Buchanan and Gibbons (1974) ได้ดังนี้

กลุ่มที่ 1) SHB001 และ SHB010 มีความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Halobacterium* sp. คล้ายคลึง 76 และ 72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2) SHB004.1, SHB002, SHB005.1 และ SHB009 มีความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Micrococcus* sp. คล้ายคลึง 96 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3) SHB007 มีความคล้ายคลึงได้เป็นเชื้อ *Halococcus* sp. คล้ายคลึง 100 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4) SHB006, SHB008.1 และ SHB008.2 ไม่สามารถจัดกลุ่มได้

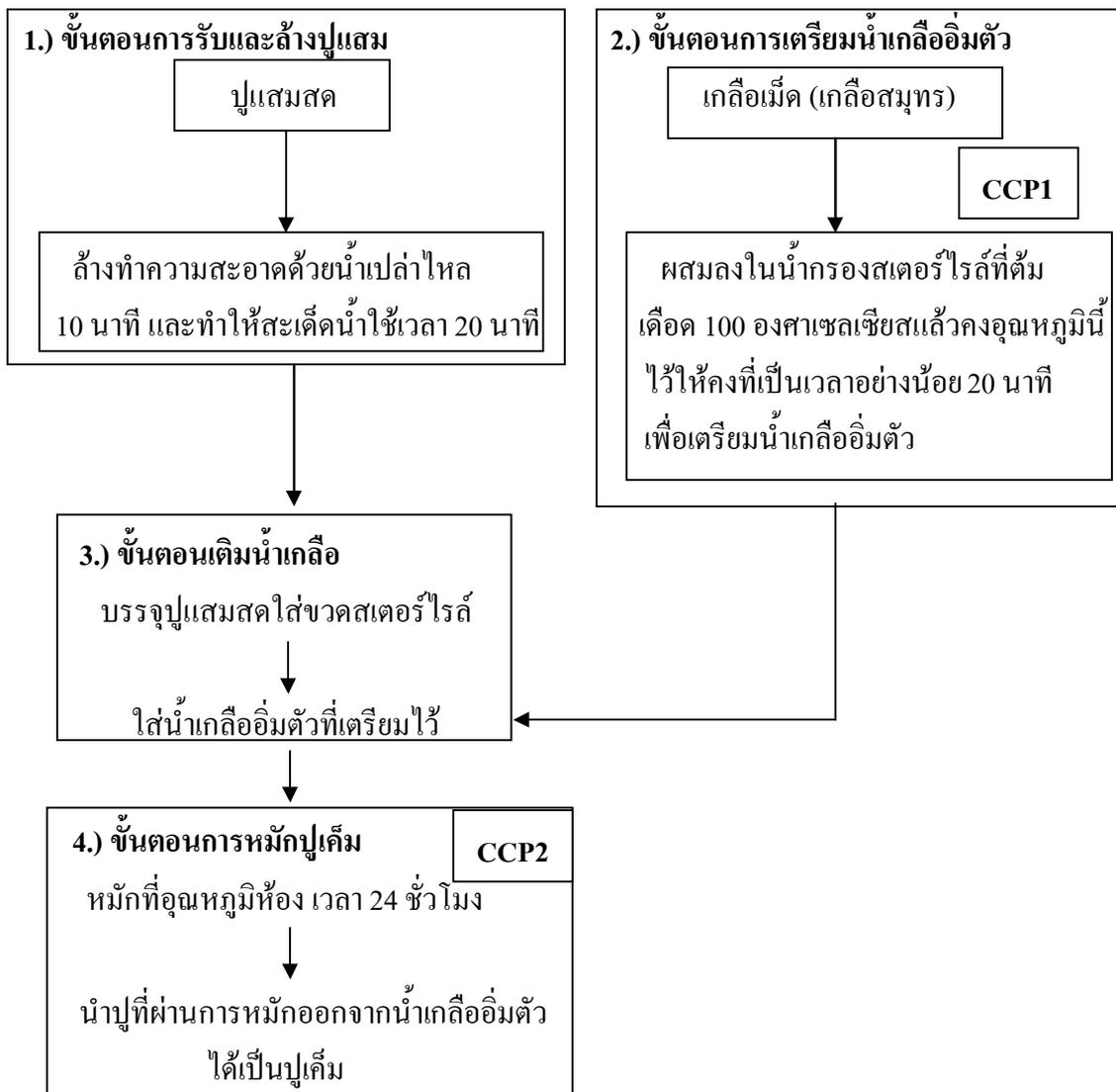
9. การทวนสอบ (Validation) ณ จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมการผลิตปุ๋ยเคมีในห้องปฏิบัติการ โดยการวิเคราะห์ลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีในวัตถุดิบและตลอดขั้นตอนการผลิต ณ ลำดับจุดวิกฤตที่ 1 (CCP1) แสดงการมีประสิทธิภาพในการควบคุมตามที่กำหนดได้ โดยตรวจสอบจากการลดลงของเชื้อกลุ่ม Slightly halotrophic bacteria และจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็น 2 และ 2 log cycle จากเกลือเม็ดเป็นน้ำเกลืออิ่มตัวในขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลือตามลำดับ ส่วนลำดับจุดวิกฤตที่ 2 (CCP2) แสดงการมีประสิทธิภาพในการควบคุมตามที่กำหนดไว้สามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ระบุว่าเป็นอันตรายได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด, กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ลดลง 2, 1, 3 และ 3 log cycle จากปุ๋ยผสมน้ำเกลือ ณ เวลา 0 ชั่วโมงเป็นปุ๋ยเคมี ณ เวลา 48 ชั่วโมงตามลำดับ ในขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี

ข้อสรุปข้อ 9 แสดงถึงประสิทธิภาพและความถูกต้องของขอบเขตการควบคุมในข้อ 7

10. จากการควบคุมกระบวนการผลิตตาม HACCP plan ตามข้อสรุปข้อ 3-7 ได้ถูกทวนสอบ (Verification) โดยการวิเคราะห์ลักษณะทางจุลชีววิทยาและทางเคมีในวัตถุดิบและตลอดขั้นตอนการผลิต สามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ระบุว่าเป็นอันตรายได้จากการลดลงของกลุ่มจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็น 2, 3, และ 3 log cycle จากปุ๋ยผสมสดเป็นปุ๋ยเคมี ณ เวลา 48 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งแสดงการมีประสิทธิภาพการใช้ HACCP plan ในการผลิตปุ๋ยเคมีว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เมื่อเทียบกับแบบที่ไม่ใช้ HACCP

ดังนั้นการทวนสอบ (Verification) ในต้นแบบระบบ HACCP ในการปฏิบัติจะถูกเสนอว่าควรมีการสุ่มตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปุ๋ยเคมี) ทุกสัปดาห์ พร้อมทั้งตรวจสอบระบบ GMP

11. จากข้อสรุปข้อ 3-7 ทำให้สามารถจัดทำเอกสารเพื่อสร้างต้นแบบในการผลิตปุ๋ยเคมีที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตามต้นแบบระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการผลิตปุ๋ยเคมีที่ได้เสนอในวิทยานิพนธ์ และสามารถแสดงสายการผลิตหลังการควบคุมด้วย HACCP plan ที่เสนอ, HACCP plan และผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมีจากสายการผลิตดังภาพที่ 14 ตารางที่ 29 และภาพที่ 15 ตามลำดับ



ภาพที่ 14 แผนภูมิการไหลของกระบวนการผลิต (Process flow diagram) ผลิตภัณฑ์พู่แสมด้วยการควบคุมโดยระบบ HACCP

ตารางที่ 29 HACCP plan ของการผลิตปูเค็ม (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) ตามแผนภูมิการไหลของกระบวนการผลิต (Process flow diagram) ผลิตภัณฑ์ปูเค็มด้วยการควบคุมโดยระบบ HACCP

Critical Control Point (CCP)	Significant Hazards	Critical Limits for each Control Measure	Monitoring				Corrective Action	Records	Verification
			What	How	Frequency	Who			
CCP1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลืออิมตัว	จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด	อุณหภูมิการต้ม น้ำเกลือที่ 100 องศาเซลเซียสให้ คงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที (มีการลดลงของเชื้อ 3 log cycle จาก เชื้อเริ่มต้น)	การต้มที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ให้คงที่เป็น เวลาอย่างน้อย 20 นาที	ใช้ เทอร์โมมิเตอร์ ในการวัด อุณหภูมิ โดย อิมตัว คุณค่าให้ คงที่ 100 องศาเซลเซียส ตลอด ระยะเวลา 20 นาที	ทำทุกครั้งที่ มีการ เตรียม น้ำเกลือ อิมตัว	พนักงาน ที่ เกี่ยวข้อง ณ จุดวิกฤต	ต้องต้มน้ำเกลือให้ได้ที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ชั่วและรักษาให้ คงที่เท่ากับหรือนานกว่า 20 นาที กรณีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส และไม่สามารถควบคุม เวลาให้คงที่ ณ 100 องศาเซลเซียสจนครบ 20 นาที	บันทึก อุณหภูมิ และเวลาที่ ต้ม	ทำการสุ่ม ผลิตภัณฑ์ สุดท้าย (ปู เค็ม) ตรวจสอบ วิเคราะห์ทาง จุลชีววิทยา ทุกสัปดาห์ และตรวจ เอกสารการ บันทึกข้อมูล ทุกจุดวิกฤต

ตารางที่ 29 (ต่อ)

Critical Control Point (CCP)	Significant Hazards	Critical Limits for each Control Measure	Monitoring				Corrective Action	Records	Verification
			What	How	Frequency	Who			
CCP2 ขั้นตอนการหมักปุ๋ยเคมี	จุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Pathogenic microorganism) ได้แก่ <i>E. coli</i> และ <i>S. aureus</i> -จุลินทรีย์กลุ่ม Slightly halotrophic bacteria - จุลินทรีย์ทั้งหมด	ปริมาณร้อยละของเกลือในตัวปุ๋ยเคมี อย่างน้อยร้อยละ 25	ปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมี	สุ่มตรวจสอบปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมี โดยวิธี AOAC official method 937.09 (2000)	ทุกครั้งที่สิ้นสุดการหมัก	พนักงาน ที่เกี่ยวข้อง ณ จุดวิกฤต	เพิ่มระยะเวลาในการหมักอีกอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ควบคุม จนกระทั่งปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยเคมีมีค่าอย่างน้อยร้อยละ 25 กรณีเมื่อครบเวลาหมักแล้วปริมาณเกลือในตัวปุ๋ยยังไม่ถึงร้อยละ 25	บันทึกปริมาณร้อยละของเกลือในตัวปุ๋ยเคมีที่สุ่มตรวจ	ทำการสุ่มผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ปุ๋ยเคมี) ตรวจสอบวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาทุกสัปดาห์ และตรวจเอกสารการบันทึกข้อมูลทุกจุดวิกฤต

ปูเค็มในภาชนะ



ปูเค็ม 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 15 ผลิตภัณฑ์ปูเค็ม

### ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยครั้งนี้มีการวิเคราะห์เฉพาะในส่วนของอันตรายทางจุลชีววิทยา หากต้องการศึกษาอันตรายทางกายภาพ เคมี และทางชีววิทยาอื่น ๆ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป
2. การนำเอาต้นแบบไปใช้โดยตรงโดยไม่ดัดแปลงจะต้องคำนึงถึงสายของกระบวนการผลิต สุขลักษณะ และข้อกำหนดในการปฏิบัติที่ดีในการผลิต ให้เหมือนกับต้นแบบในวิทยานิพนธ์

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2546. **มาตรฐานกระบวนการผลิต ผลผลิต และผลิตภัณฑ์ประมง**. กองพัฒนา2549. อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_. 2547. **ข้อกำหนดสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์ประมง**. กองตรวจสอบรับรอง มาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_. 2549. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำทางจุลชีววิทยา Microbiological reference criteria for fishery products August 2004; Revision II**. กองตรวจสอบรับรอง มาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะและผู้ สัมผัสอาหาร**. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

กรมศุลกากร. 2550. **ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของปูเค็ม**. แหล่งที่มา: <http://www.customs.go.th>. 21 ธันวาคม 2550.

โครงการตำราของศูนย์วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย. ม.ป.ป. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. วิทยาเขตหาดใหญ่, สงขลา.

จิตติมา आयुตตะกะ. 2544. **การศึกษาเบื้องต้นประชากรมีชีวิตรังพื้นทะเล**. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เฉลิมวิไล ชื่นศรี. 2525. **ปูแสมในทะเลไทย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บรรจง เทียนส่งรัมย์. 2546. ปุ่สมทรัพย์ากรที่มีค่าแต่ไม่ได้ถูกใช้อย่างชาญฉลาด. เทคโนโลยีชาวบ้าน 15 (306): 102-104.

\_\_\_\_\_. 2548. ปุ่สม สัตว์น้ำที่น่าเลี้ยงเป็นอาชีพ. เทคโนโลยีชาวบ้าน 17 (358): 95-98.

บริษัททีวีบูรพา จำกัด. 2548. รายการกบนอกกะลาปี 2548 ตอนเส้นทางปุ่เค็ม. วิธีดีรายการกบนอกกะลา หมายเลขรหัส กท.04888/48.

ประวิทย์ สุรนิรนาถ. 2531. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไป. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์. 2550. การเพาะเลี้ยงพืชและสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทยกับแนวทางการพัฒนา. สำนักประสานงานวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมเกษตร พืชและสัตว์น้ำ. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ.

พิเชษฐ์ น่วมทองค์. 2549. การศึกษากลิ่นและกลิ่นรสในปุ่ทะเล (*Saylla serrata*) ปุ่เค็ม และปุ่เค็มอบแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2525. การศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียที่พบในเกลือทะเลซึ่งจำหน่ายในตลาดกรุงเทพฯ. วารสารอาหาร 14(1): 56-63.

ทรงกรด ชื่นชูผล. 2547. ปุ่เค็ม. แหล่งที่มาของปุ่เค็ม. แหล่งที่มา: <http://www.pookem.com>. 21 ธันวาคม 2550.

ศิวาพร ศิวเวช. 2536. การสุขภาพิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. นิวทังมีเดีย คอร์โปเรชัน. กรุงเทพฯ.

สิทธิชัย ดีแก้ว. 2547. ผลของโปรไบโอติกที่มีจุลินทรีย์ก่อโรคนปุ่ดอง วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปูเค็ม**. มผช.  
1334/2549.

สมโภชน์ อัครกะทิววัฒน์. 2545. **ภาพปลาและสัตว์น้ำของไทย**. พิมพ์ครั้งที่ 4. องค์การค้าของคุรุสภา, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2543. **ความปลอดภัยของอาหาร (การใช้ระบบ HACCP)**. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น), กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อรุณ บ้างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หมานริม, ชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์, ปฐม สวรรค์ปัญญาลิข และ  
อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2547. เชื้อโรคอาหารพิษในอาหารหมักดองพื้นบ้านพร้อมบริโภคน้ำจิ้ม (กุ้ง  
จ่อม ปลาจ่อม ปลาร้า ปูคอง). วารสารอาหาร 34 (1): 90 – 99.

AOAC official method 937.05, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**  
(17<sup>th</sup> ed.). Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 937.09, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**  
(17<sup>th</sup> ed.). Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 967.25, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**  
(17<sup>th</sup> ed.). Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 976.30, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**  
(17<sup>th</sup> ed.). Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 980.31, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**  
(17<sup>th</sup> ed.). Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 981.12, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 987.09, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 988.18, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 988.20, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 992.30, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

AOAC official method 995.21, 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International (17<sup>th</sup> ed.)**. Assoc. Off. Anal. Chem., Maryland, USA.

Bain, N., W. Hodgkins and J.K. Shewan. 1957. Bacteriology of salt used in fish curing. pp. 1-11. *In* B.P. Eddy, ed. **Proceedings of the second International Symposium on Food Microbiology**. London, Her Majesty's Stationary Office.

Baross, J.A. and L.M. Lenovich. 1992. Halophilic and osmophilic microorganisms. pp. 199-211. *In* C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser, eds. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food**. American public health association, Washington, DC.

Bergdoll, M. S. 1989. *Staphylococcus aureus*, pp. 463-523. *In* **Foodborne Bacterial Pathogen**. M. P. Doyle, ed. Marcel Dekker, Inc. New York. อ้างโดย มัทนา แสง

จินดาวงษ์. 2545. **ผลิตภัณฑ์ประมงของไทย**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Beumer, R.R. 2001. Microbiological hazards and their control: Bacteria. pp. 141-157. *In* M.R. Adams and M.J. Robert Nout, eds. **Fermentation and Food Safety**. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 8<sup>th</sup> edition. The Williams and Wilkins company (publisher), Baltimore.

Chen, H.C. and P.C.M. Chang. 2004. Frozen seafood safety and HACCP, pp. 339-363. *In* Y.H. Hui, P. Cornillon, I.G. Legaretta, M.H. Lim, K.D. Murrell and W.K. Nip, eds. **Handbook of Frozen Foods**. Marcel dekker, Inc. New york, USA.

Chung, K.C. and J.M. Goepfert. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. **Food Sci.** 35: 326 – 328.

Corrales, M.T., Bainotti, A.E. and A.C.Simonetta. 1994. Survival of *Vibrio cholerae* 01 in common food stuffs storage at different temperatures. **Lett. Appl. Microbiol.** 18: 277-280.

Cousin, M.A., Jay, J.M. and P.C. Vasavada. 1992. Psychrotrophic microorganisms, pp. 153-166. *In* C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser, eds. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food**. American public health association, Washington, DC.

Dupont, H.L., S.B. Formal, R.B. Hornick, M.J. Snyder, J.P. Libonati, D.G. Sheahan, E.H. LaBrec and J.P. Kalas. 1971. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. **N. Engl. J. Med.** 285: 1.

- Eleftherios, H.D. and Siana, P. 2007. HACCP in the cheese manufacturing process, a case study, pp 91-176. *In* A. McElhatton and R.J. Marshall, eds. **Food Safety: A Practical and Case Study Approach**. Springer, New York.
- FAO. 1992. **Fermented fish in Africa**. Prepared by K.M. Essuman. FAO Fisheries technical papers. Rome, Italy.
- FAO/WHO. 1996. Draft hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application. Alinorm 97/13A Appendix II, pp. 30-37. *In* FAO/WHO.N, **Report of the Twenty-Ninth Session of The Codex Committee on Food Hygiene**, Washington. D.C.
- Frazier, W.C. 1958. **Food Microbiology**. McGraw-hill book company. New York.
- Hatha, A.A.M., N. Paul and B. Rao. 1998. Bacteriological quality of individually quick-frozen (IQF) raw and cooked ready-to-eat shrimp produced from farm raised black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). **Food Microbiology** 15: 177-183.
- \_\_\_\_\_, T.K. Maqbool and S.S. Kumar. 2003. Microbial quality of shrimp products of export trade produced from aquacultures shrimp. **Int. Food Microbiology** 82: 213-221.
- Higuera-Ciagara, I.M. Paredes, E. Barron, L. Felix and L. Noriega. 1996. HACCP Implementation in the Mexican shrimp industry, pp. 135-143. *In* R.E.Martin, R.L.Collette and J.W. Slavin, eds. **Fish Inspection, Quality Control, and HACCP**. Technomic publishing co., Inc., Virginia, USA.
- Himelbloom, B.H., J.S. Lee and R.J. Price. 2000. Microbiology and HACCP in surimi seafood, pp. 325-341. *In* J.W. Park, ed. **Surimi and Surimi Seafood**. Marcel dekker, Inc. New York, USA.

Huss, H.H., A. Reilly and P.K.B. Enbarek. 2000. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control** 11: 149-156.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods). 1988. **Application of The Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System to Ensure Microbiological Safety and Quality**. Blackwell Scientific Publications, Ltd., Cambridge.

Kanduri, L. and R.A. Eckhardt. 2002. **Food Safety in Shrimp Processing**. Fishing news books, a division of Blackwell Publishing. Oxford OX2 0EL, UK.

Lawlor, F., B. Fisher and M. Oesterling. 1997. **Model HACCP Program for Soft Shell Blue Crab. Florida Sea Grant College Program**. Florida, USA.

Maleehual, S., S. Saiyudthong, J. Siripanporn, J. Waikagul, W. Maipanich and K. Visessuk. 1997. Safety study on raw consumption of thai traditional fermented food : Pu-kem, Kung jom or Pla-jom. pp. 632-637. *In* L.K. Kong and L.Y. Seng, compilers, eds. **Proceedings of The 6<sup>th</sup> Asean Food Conference**. Singapore Institute of Food Science and Technology. Westin Stamford and Westin Plaza, Singapore.

Margesin, R. and F. Schinner. 2001. Potential of Halotolerant and Halophilic Microorganisms for Biotechnology. **Extremophiles** 5: 73-83.

Michaud, R.N. and P.J. Vandemark. 1967. The bacterial content of mined evaporated, granulated and solar salt. **Food Tech. Champaign** 21(2) : 193.

NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods). 1997. Generic HACCP application in broiler slaughter and processing. **Journal of Food Protection** 60: 579 – 604.

- \_\_\_\_\_. 1998. General interest hazard analysis and critical control point principles and application guidelines. **Journal of Food Protection** 61: 1246-1259.
- Ng, P.K.L. 1998. Crabs, pp. 1046-1155. In K.E. Carpenter and V.H. Niem, eds. **FOA Species Identification Guide for Fishery Purpose. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific Volume 2**. Cephalopods, Crustaceans, Holothurians and Sharks. Rome.
- Nout, M.J.R., Bakshi, D. and P.K., Sarkar 1998. Microbiological safety of kinema, a fermented soya bean food. **Food Control** 9: 357-362.
- Oren, A., P. Gurevich, M. Azachi and Y. Henis. 1992. Microbial degradation of pollutants at high salt concentrations. **Biodegradation** 3: 387-398.
- Ostergaard, A., P.K.B. Embarak, C. Wedell-Neergaard, H.H. Huss and L. Gram. 1998. Characterization of anti-listerial lactic acid bacteria isolated from Thai fermented fish products. **Food Microbiol** 15: 223-233.
- Phithakpol, B., W. Varayanond, S. Reungmanee-paitoon and H. Wood. 1995. **The Traditional Fermented Food of Thailand**. Institute of Food Research and Product Development Kasetsart University.
- Ravishankar, S. and V.K. Juneja. 2000. Sodium chloride. In A.S. Naidu, ed. **Natural Food Antimicrobial Systems**. CRC Press LLC. N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida.
- Siang, N.C. and L. L. Kim. 1992. Determination of trimethylamine oxide (TMAO-N), Trimethylamine (TMA-N), Total volatile basic nitrogen (VB-N), By Conway's microdiffusion method. pp B-3.1-3.7. In K. Miwa and L.S. Ji, eds. **Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products**.

Marine fisheries research department southeast Asian fisheries development center  
Singapore.

Snyder, O.P. 1995. HACCP – TQM for retail and food service operations. pp 248 – 255. *In*  
A.M. Pearson and T.R. Dutson, eds. **HACCP in Meat, Poultry and Fish**  
**Processing**. Blackie academic and professional, Hall, Bishop Briggs, Glasgow.

Subramanian, T.A. 2007. Effect of processing on bacterial population of cuttle fish and crab  
and determination of bacterial spoilage and rancidity developing on frozen storage. **J.**  
**Food Process pres.** 31: 13 – 31.

Suwanrangsi, S. 2000. HACCP implementation in the Thai fisheries industry. **Food control** 11:  
377 – 382.

Swanson, K.M.J., F.F. Busta, E.H. Peterson and M.G. Johnson. 1992. Colony count methods. pp.  
75-95. *In* C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser, eds. **Compendium of Methods for the**  
**Microbiological Examination of Food**. American public health association,  
Washington, DC.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
แบบสอบถาม

ภาคผนวก ก1 แบบสอบถามข้อมูลพื้นฐานของผลิตภัณฑ์ปูเค็ม

แบบสอบถาม

แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของนางสาวเนาวพันธ์ หนูจ้อย นักศึกษาปริญญาโท สาขาผลิตภัณฑ์ประมง จึงขอความร่วมมือจากท่านช่วยตอบแบบสอบถาม ข้อมูลทุกอย่างที่ท่านตอบมาจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับปัญหาพิเศษครั้งนี้และไม่มีผลใด ๆ ต่อผู้ตอบทั้งสิ้น ขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ

คำแนะนำ กรุณาทำเครื่องหมาย / ในวงเล็บ ( ) หน้าคำตอบของท่าน หรือกรอกข้อความในช่องว่าง

**ส่วนที่ 1** ข้อมูลเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ

( ) ชาย

( ) หญิง

2. อายุ

( ) ต่ำกว่า 20 ปี

( ) 20 – 25 ปี

( ) 26 – 30 ปี

( ) 31 – 35 ปี

( ) 36 – 40 ปี

( ) 41 – 45 ปี

( ) 46 – 50 ปี

( ) มากกว่า 50 ปี

3. วุฒิการศึกษา

( ) ต่ำกว่ามัธยมศึกษา

( ) มัธยมศึกษาตอนต้น

( ) มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช.

( ) อนุปริญญา/ปวส.

( ) ปริญญาตรี

( ) สูงกว่าปริญญาตรี

4. อาชีพ

( ) นิสิต/นักศึกษา

( ) พนักงานบริษัทเอกชน/รับจ้าง

( ) ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ

( ) แม่บ้าน / พ่อบ้าน

( ) ธุรกิจส่วนตัว

( ) อื่น ๆ โปรดระบุ.....

**ส่วนที่ 2** ข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคปุ๋ยเคมี

5. ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีหรือไม่
- ( ) บริโภค ( ) ไม่บริโภค เพราะ.....  
(เริ่มทำตั้งแต่ข้อ 10)
6. ส่วนใหญ่ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีอย่างไร
- ( ) ใส่ในสัมดำ ( ) ยำปุ๋ยเคมี  
( ) รับประทานดิบ ๆ ( ) อื่น ๆ โปรดระบุ.....
7. ท่านบริโภคปุ๋ยเคมีบ่อยแค่ไหน (หรือใส่ในสัมดำ)
- ( ) ทุกวัน ( ) 1 – 2 ครั้ง/สัปดาห์  
( ) 1 – 2 ครั้ง/เดือน ( ) 2 – 3 เดือน/ครั้ง  
( ) 1 – 2 ครั้ง/ปี ( ) อื่น ๆ โปรดระบุ.....
8. ท่านซื้อปุ๋ยเคมีจากแหล่งใด
- ( ) ตลาด โปรดระบุ..... ( ) จากร้านสัมดำ (รับประทานใส่ในสัมดำ)  
( ) ทำเอง ( ) อื่น ๆ โปรดระบุ.....
9. ท่านเคยท้องเสียหรือเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคปุ๋ยเคมีหรือไม่ (หรือใส่ในสัมดำ)
- ( ) เคย ( ) ไม่เคย
10. ท่านคิดว่าปุ๋ยเคมีที่ขายอยู่ในปัจจุบันเป็นอย่างไร
- ( ) สะอาดถูกสุขลักษณะ ( ) สกปรก/มีโอกาสนำปนเปื้อน  
( ) อื่นๆ โปรดระบุ.....
11. ท่านคิดว่าการบริโภคปุ๋ยเคมีมีโอกาสทำให้เกิดการเจ็บป่วย ท้องเสียหรือไม่ปลอดภัยหรือไม่
- ( ) มีโอกาส ( ) ไม่มีโอกาส
12. ท่านคิดว่าควรควบคุมความปลอดภัยในปุ๋ยเคมีเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคหรือไม่
- ( ) ควร ( ) ไม่ควร เพราะ.....

13. ท่านได้มีการปรังฟูเคีมเองหรือเคยทำฟูเคีมเองหรือไม่

( ) ไม่ได้ปรังเอง

( ) ปรังรับประทานเอง (ตอบข้อ14)

14. ท่านมีขั้นตอนเตรียมก่อนการปรังฟูเคีมอย่างไร

( ) ล้างทำความสะอาดก่อน

( ) ล้างและต้มก่อน

( ) ต้มก่อน

( ) ไม่มีการล้างหรือต้ม

( ) อื่น ๆ โปรดระบุ.....

ขอขอบพระคุณมากคะ

ภาคผนวก ก2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบการแบ่งชั้นคุณภาพปูแสมสด

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....เวลา.....

ปัจจัย	คะแนน
<b>ปูแสมสด</b>	
- ลักษณะปรากฏ	.....
- ลักษณะตา	.....
- ขาและก้าม	.....
- สืบบริเวณด้านหน้า (จับปิ้ง)	.....
- สืบบริเวณด้านหลัง (กระดอง)	.....
- เนื้อและกลิ่นของเนื้อ	.....
- การยึดติดของกระดองและร่างกายส่วนใต้ กระดอง	.....
- การยึดติดของเนื้อส่วนขาและกระดอง	.....

ข้อเสนอแนะ

.....  
.....

**ภาคผนวก ข**

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ข1 การวัดค่าความเป็นกรด-เบส (AOAC official method 981.12, 2000)

ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียด จำนวน 5 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มไล่แก๊ส คาร์บอนไดออกไซด์ จำนวน 45 มิลลิลิตร คนผสมให้เข้ากัน วัดค่าความเป็นกรด-เบสด้วยเครื่องวัด ที่ผ่านการปรับมาตรฐานด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด-เบสที่ 4 และ 7 ตามคู่มือการใช้งาน และทำการวัดตัวอย่างที่เตรียมไว้

ภาคผนวก ข2 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ (AOAC official method 937.09, 2000)

### สารเคมี

1. สารละลาย silver nitrate เข้มข้น 0.1 N

ละลาย  $\text{AgNO}_3$  (ที่ผ่านการอบในตู้อบอุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง) 8.4945 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 500 ml เก็บไว้ในขวดสีชา (อาจเตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐาน)

2. สารละลาย ammonium thiocyanate 0.1 N

ละลาย ammonium thiocyanate 3.5 g ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 500 ml นำไป standardize โดยปิเปตต์ 0.1N  $\text{AgNO}_3$  10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml เติม  $\text{HNO}_3$  (1+1) 5 ml เติม ferric alum 2 ml แล้วนำไปไตเตรทกับ  $\text{NH}_4\text{SCN}$  จนได้สารละลายสีแดงอิฐอ่อน ๆ กำหนดโดยใช้สูตร  $N_1V_1=N_2V_2$

3.  $\text{HNO}_3$  (1+1) ผสม conc. Nitric acid กับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

4. ferric alum indicator เป็นสารละลายอิมตัวของ ferric ammonium sulfate ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ในน้ำกลั่น โดยละลาย ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 124 g /250 ml

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 0.1-2 กรัม (ใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณเกลือ ที่มีในตัวอย่าง) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร สำหรับในน้ำปลา 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตต์สารละลายที่ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติม 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  5 มิลลิลิตร (ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณเกลือที่มีในตัวอย่าง)

3. เติม  $\text{HNO}_3$  (1+1) 20 มิลลิลิตร

4. ต้มให้เดือดอ่อน ๆ บนเตาไฟฟ้าประมาณ 15 นาที (ระวังอย่าให้สารละลายกระเด็น) เพื่อให้ของแข็งอื่น ๆ (ยกเว้นตะกอน AgCl) ละลายหมด ยกตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติม น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
6. เติม ferric alum 2 มิลลิลิตร
7. นำไปไตเตรทกับ  $\text{NH}_4\text{SCN}$  จนได้สารละลายสีแดงอ่อน ๆ (ถ้าหยด  $\text{NH}_4\text{SCN}$  ลงไปหยดแรกแล้วได้สารละลายสีแดงอ่อน ๆ เลย แสดงว่าปริมาณ  $\text{AgNO}_3$  ที่ใช้น้อยเกินไปเนื่องจากมีเกลือในตัวอย่างมาก ให้ทำใหม่โดยอาจลดปริมาณตัวอย่างลง หรืออาจเพิ่ม  $\text{AgNO}_3$  มากขึ้นก็ได้ ในการไตเตรทควรได้ปริมาณ  $\text{NH}_4\text{SCN}$  มากกว่า 2 มิลลิลิตร)

#### การคำนวณ

1. กรณีตัวอย่างที่ใช้วิธีชั่ง ตัวอย่างเป็นปฐู

$$\% \text{เกลือ} = 5.844 \times [(\text{ml} \times \text{N}) \text{AgNO}_3 - (\text{ml} \times \text{N}) \text{NH}_4\text{SCN}] / \text{w}$$

2. กรณีตัวอย่างเป็นน้ำเกลืออิมตัว

$$\% \text{เกลือ} = 5.844 \times [(\text{ml} \times \text{N}) \text{AgNO}_3 - (\text{ml} \times \text{N}) \text{NH}_4\text{SCN}] \times 25 / [1-1]$$

โดยที่ 25 = ปริมาณทั้งหมดของสารละลายน้ำเกลืออิมตัวเจือจาง

1 = มิลลิลิตร ตัวอย่างน้ำเกลืออิมตัวที่ปิเปตต์มาเจือจาง

1 = มิลลิลิตร สารละลายน้ำเกลืออิมตัวเจือจางที่ปิเปตต์มาทำปฏิกิริยากับ  $\text{AgNO}_3$

#### ภาคผนวก ข3 การวิเคราะห์ค่า $a_w$

นำตัวอย่างที่บดละเอียดใส่ตลับสำหรับการวัดค่า  $a_w$  1 ส่วน 3 ของตลับ นำตลับตัวอย่างใส่ในช่องสำหรับวัดค่า  $a_w$  ในเครื่องวัดค่า  $a_w$  ที่มีการปรับตามคู่มือการใช้งานแล้ว และเครื่องจะแสดงค่าที่วัดได้

#### ภาคผนวก ข4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรด (AOAC official method 937.05, 2000)

#### สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalene)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 นอร์มัล

## วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด จำนวน 10 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือด เพื่อกำจัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง คนเบา ๆ จากนั้นบีบอัดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ลงในฟลาส เติมนีออน 2-3 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ และนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งถึงจุดยุติ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีชมพูอ่อน ๆ

## การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรด (ร้อยละ)} = \frac{(N \times V_1 \times 90.08 \times 100)}{1000 \times V_2}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

V<sub>1</sub> = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

V<sub>2</sub> = ปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตรต่อกรัม)

ภาคผนวก ข5 วิเคราะห์ปริมาณต่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen: TVB-N)

Siang and Kim, (1992)

## สารเคมี

1. สารละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิก ร้อยละ 4 : ละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิก 40 กรัม ในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร
2. สารละลายอินดิเคเตอร์ผสม: ละลายบรอมครีซอลกรีน 0.01 กรัม และเมธิลเรด 0.02 กรัม ในเอทานอลร้อยละ 95 แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอลร้อยละ 95
3. สารละลาย Inner ring : ละลายกรดบอริก 10 กรัม ในเอทานอล ร้อยละ 95 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายอินดิเคเตอร์ผสม (ตามสารในข้อ 1) 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
4. สารละลายอิมตัวโปแตสเซียมคาร์บอเนต : ละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนต 60 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดเล็กน้อย 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง
5. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 นอร์มัล

## วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ยผสมที่บดละเอียด 2 กรัม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิก ร้อยละ 4 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ในโถรงบดโดยควบคุมอุณหภูมิขณะบดด้วยน้ำแข็งทิ้งไว้ 30 นาที
2. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ได้สารละลายใสของตัวอย่าง
3. ทาวาสตินบาง ๆ บริเวณขอบฝาจานคอนเวย์
4. ใส่สารละลาย inner ring 1 มิลลิลิตร ในวงกลมชั้นในของจาน
5. ใส่สารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนตอิมตัว 1 มิลลิลิตร ในวงแหวนรอบนอก
6. ใส่สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในวงแหวนรอบนอกของจานคอนเวย์ ในกรณี blank test ใส่สารละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิก ร้อยละ 4
7. ปิดฝาจานคอนเวย์ให้สนิทหมุนจานคอนเวย์เบา ๆ ให้สารละลายตัวอย่างผสมกับด่าง
8. นำเข้าสู่บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
9. ไตเตรตสารละลายในวงกลมชั้นในด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 นอร์มัล จนกระทั่งสารละลายสีเขียวกลายเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณกรดที่ใช้

## การคำนวณ

$$\text{ค่า TVB-N (mg/100 g ตัวอย่าง)} = (V_S - V_B) \times (N_{\text{HCl}} \times A_N) \times \{[(W_S \times M/100) + V_E] \times 100\} / W_S$$

เมื่อ  $V_S$  = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 นอร์มัล ที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

$V_B$  = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 นอร์มัล ที่ใช้ไตเตรต blank (มิลลิลิตร)

$N_{\text{HCl}}$  = นอร์มัล ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (0.02 นอร์มัล x factor ของกรดไฮโดรคลอริก)

$A_N$  = น้ำหนักอะตอมของไนโตรเจน (14.00)

$W_S$  = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

$M$  = ร้อยละของความชื้นตัวอย่าง

$V_E$  = ปริมาตรของสารละลายกรดไตรคลอโรแอซิดิก ร้อยละ 4 ที่ใช้ในการสกัด

ภาคผนวก ข6 วิธีการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ข6.1 จุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) (AOAC official method 988.18, 2000)

1. การเตรียมตัวอย่างโดยตัดเป็นชิ้นขนาดเล็กชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ (Aseptic techniques) แล้วเติมสารละลายน้ำเกลือเจือจาง 0.85 % ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ลงไป 225 มิลลิลิตร ในถุง Stomacher ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (Stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1: 10 จากนั้นทำการเจือจางครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

2. ใช้วิธี Pour plate technique โดยการเปิดตดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ กัน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ค่อย ๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ลงไป ให้มีปริมาตรประมาณ 18 – 20 มิลลิลิตร จากนั้นผสมอาหารให้เข้ากับตัวอย่างโดยหมุนจานเบา ๆ ในทิศตามเข็มนาฬิกา 5 ครั้งและในทิศทวนเข็มนาฬิกาอีก 5 ครั้ง และในแนวขึ้น-ลง 5 ครั้ง และซ้าย-ขวา 5 ครั้ง ทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

3. นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี บันทึกผลที่ได้และคำนวณจำนวนโคโลนี

4. การรายงานผลเป็น จำนวนโคโลนีต่อตัวอย่างอาหาร 1 กรัม (CFU/g)

ภาคผนวก ข6.1 วิเคราะห์ *Escherichia coli* โดยวิธี MPN (AOAC official method 992.30, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

2. ความเจือจางตามข้อ 1 (1:10, 1:100 และ 1:1000) ใส่ใน 9 มิลลิลิตรของ Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB) ซึ่งมีหลอดดักแก๊ส (Durham tube) ในระดับความเจือจางละ 3 หลอด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

3. ตรวจสอบแต่ละหลอดที่ให้ผลบวก โดยจะเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส (Durham tube)

4. การตรวจสอบยืนยันผล นำหลอดที่ให้ผลบวก ถ่าย 1 หลบ ลงใน EC broth ซึ่งมีหลอดดักแก๊ส บ่มที่ 44.5 องศาเซลเซียส (ใน water bath) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. ตรวจสอบผลโดยสังเกตเห็นความขุ่นและเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊สอย่างน้อย  $\frac{1}{4}$  ของหลอดดักแก๊ส ใช้ลูปแตะเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวก Streak บน Eosin methylene blue agar (EMB) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

6. ถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่สงสัย 2 โคโลนี ที่มีสีม่วงเข้ม มีจุดดำตรงกลางโคโลนี หรือมีสีน้ำตาลแดง อาจมีหรือไม่มี Metallic sheen (หรือถ้าไม่มีลักษณะโคโลนีของ *E.coli* ให้เลือก 1 หรือมากกว่า 1 โคโลนี) จากทุก ๆ งานเพาะเชื้อ มาทดสอบทางชีวเคมี

7. รายงานผล โดยนับจำนวนหลอดของอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth แต่ละความเจือจางที่ให้ผลของการทดสอบ *E. coli* เป็นบวกไปเปรียบเทียบกับตาราง MPN

#### ภาคผนวก ข6.3 วิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* (AOAC official method 987.09, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. ทำการ Spread Plate ลงบน Baird-Parker Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
3. สังเกตการเติบโตของ *Staphylococcus* ซึ่งเมื่ออยู่บน Baird-Parker Agar โคโลนีมีสีดำ เป็นมันมีขอบขาวมีการตกตะกอนรอบๆ โคโลนี มีโซนใสขนาด 2 – 5 มิลลิเมตรล้อมรอบอีกทีหนึ่ง (opaque zone)

#### ภาคผนวก ข6.4 วิเคราะห์ *Salmonella* sp. (AOAC official method 967.25, 2000)

1. ชั่งตัวอย่างที่ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็ก 25 กรัม เติม Lactose broth (LB) 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
2. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงใน Selenite cystine broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ/หรือ Tetrathionate broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
3. ใช้ลูปแตะเชื้อ Streak ลงบน Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สังเกตเลือกโคโลนีที่สงสัยบน XLD จะมีโคโลนีใส อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลางโคโลนี
4. การทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical test) การทดสอบการเติบโตใน TSI และ LIM เลือกโคโลนีบนอาหาร XLD ในข้อ 3. มาทำการทดสอบทางเคมีในอาหาร XLD ในอาหาร TSI และ LIM โดยใช้เข็มเย็บเชื้อลงไฟและทิ้งไว้ให้เย็น เชื้อโคโลนีที่เลือกไว้มาลาก (Streak) บนผิวหน้าของอาหารและแท่ง (Stab) ตรงกลางหลอดให้เกือบถึงก้นหลอดอาหาร TSI และแท่งลงในหลอดอาหาร

LIM ให้เกือบถึงก้นหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เดิม Kovacs' reagent 3 – 5 หยด ลงใน LIM

5. เชื้อ *Salmonellae* จะให้ผลดังนี้ บน TSI slant เปลี่ยนเป็นสีแดง (ข้าง) butt เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (กรด) ส่วนใหญ่ให้  $H_2S$  และก๊าซ บน LIM เปลี่ยนสีเป็นสีม่วง การเปลี่ยนสี Kovac's reagent เหลือง (ไม่มีการเปลี่ยนแปลง)

ภาคผนวก ข6.5 วิเคราะห์ Yeast / Mold (AOAC official method 995.21, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. ใช้วิธี Pour plate technique ในแต่ละความเจือจาง ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ โดยใช้อาหาร PDA ซึ่งเติมกรด Tartaric ความเข้มข้น 10% จำนวน 1% ของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อโดยไม่ต้องกลับงานเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 22 – 25 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน
3. นับจำนวนโคโลนีในงานเพาะเชื้อซึ่งมีจำนวน โคโลนีอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี บันทึกผลที่ได้และคำนวณจำนวน โคโลนี

ภาคผนวก ข6.6 วิเคราะห์ *Clostridium perfringens* (AOAC official method 976.30, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. ปิเปตต์ตัวอย่างที่เจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ทำการเกลี่ยลงบน TSC agar (ที่มีส่วนผสมของ egg yolk และ 0.5 % D - cycloserine) นำไปบ่มเพาะเชื้อใน anaerobic jar ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. เลือกโคโลนีที่สงสัยเป็น *Clostridium perfringens* คือ โคโลนีสีดำขนาด 2-4 มิลลิเมตร มี Zone ขุ่นขาวรอบโคโลนี
4. การทดสอบทางชีวเคมี เชี่ยวเชื้อจากข้อ 3. มา Stab ลงในอาหาร Motility – Nitrate และอาหาร Lactose Gelatin (อาหารเลี้ยงเชื้อต้องเตรียมใหม่ ๆ หรือต้มไล่อากาศที่ 100 องศาเซลเซียส 10 นาที และทำให้เย็นก่อนใช้) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. การตรวจผล สังเกตผลหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Motility-nitrate คือ มีการเติบโตของเชื้อเฉพาะเส้นที่ Stab ลงไป และให้ผลบวกสำหรับ Nitrate เมื่อเติม Nitrate reagent A 0.2 มิลลิลิตร และ Reagent B 0.5 มิลลิลิตร โดยมีสีม่วงแดงเกิดขึ้นภายใน 5 นาที กรณีที่เติมสารละลายทั้ง 2 ชนิดแล้ว ไม่มีสีเกิดขึ้น ให้เติม Zinc dust จำนวนเล็กน้อยลงไปหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวแล้วทิ้งไว้ 2 - 3 นาที ถ้ายังไม่มีสีม่วงแดงเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อ *Clostridium perfringens* สามารถเปลี่ยน Nitrate เป็น

Nitrite โดยสมบูรณ์ สังเกตหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose gelatin พบว่าถ้าเป็น *Clostridium perfringens* จะให้ผลบวกทั้งน้ำตาล Lactose และ gelatin โดยมีการใช้น้ำตาล Lactose เกิดกรดและก๊าซ อาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง และเชื้อมีการใช้ gelatin โดย gelatin จะไม่แข็งตัวเมื่อนำหลอดดังกล่าว แช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สรุปผลว่าพบ *Clostridium perfringens* เมื่อ Motility -, Nitrate + , Lactose + , Gelatin +

#### ภาคผนวก ข6.7 วิเคราะห์ *Vibrio cholerae* (AOAC official method 988.20, 2000)

1. ใช้ตัวอย่าง โดยตัดตัวอย่างให้มีชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.25 % NaCl Alkaline Peptone Water (APW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
2. ใช้ลูป ถ่ายเชื้อจากบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ APW มา Streak ลงบนผิวหน้าที่แห้งของอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose agar (TCBS) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
3. การอ่านผล *V. cholerae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จะมีโคโลนีสีเหลืองใส ตรงกลางโคโลนีขุ่น เล็กน้อย ลักษณะโคโลนีค่อนข้างแบนเรียบ ขอบโคโลนีเรียบ ขนาดค่อนข้างใหญ่
4. นำโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *V. cholerae* มาทดสอบทางชีวเคมี คือ การทดสอบการเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และ motility indole lysine medium (MIL) โดยถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยด้วย needle ปลูกลงใน TSI และ MIL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง *V. cholerae* บน TSI จะให้ผล slant และ butt เป็นกรด (สีเหลือง) [A/A] ไม่พบการสร้างก๊าซและไม่พบสีดำจากเหล็กซัลไฟด์ ส่วนบน MIL พบว่า motility ให้ผลบวก (มีการเติบโตนอกแนวที่ปลูกเชื้อ), indole ให้ผลบวก (เกิดสีชมพูในชั้นของ Kovacs' reagent), lysine decarboxylase ให้ผลบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีม่วงเหมือนเดิม)
5. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *V. cholerae* ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม

#### ภาคผนวก ข6.8 วิเคราะห์ *Vibrio parahaemolyticus* (AOAC official method 988.20, 2000)

1. ใช้ตัวอย่าง โดยตัดตัวอย่างให้มีชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 25 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 % NaCl Alkaline Peptone Water (APW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

2. ใช้ลูป ถ่ายเชื้อจากบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ APW มา Streak ลงบนผิวหน้าที่แห้งของอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
3. สังเกตโคโลนีที่มีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีเขียวอมฟ้า
4. นำโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็น *V. parahaemolyticus* มาทดสอบทางชีวเคมี คือ การทดสอบการเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และ motility indole lysine medium (MIL) โดยถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่สงสัยด้วย needle ปลูกลงใน TSI และ MIL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง *V. parahaemolyticus* บน TSI จะให้ผล slant ต่าง (สีแดง) และ butt เป็นกรด (สีเหลือง) [K/A] ไม่พบการสร้างก๊าซและไม่พบสีดำจากเหล็กซัลไฟด์ ส่วนบน MIL พบว่า motility ให้ผลบวก (มีการเติบโตนอกแนวที่ปลูกเชื้อ), indole ให้ผลบวก (เกิดสีชมพูในชั้นของ Kovacs' reagent), lysine decarboxylase ให้ผลบวก (อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีม่วงเหมือนเดิม)
5. รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ *V. cholerae* ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม

ภาคผนวก ข6.9 วิเคราะห์ *Bacillus cereus* (AOAC official method 980.31, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. ปิเปตต์ตัวอย่างอาหาร 0.1 มิลลิลิตร ลงบน Mannitol egg yolk polymixin (MEYP) agar เกลี่ยให้ทั่ว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. นับจำนวนโคโลนีที่เป็นลักษณะของ *Bacillus cereus* จะมีสีชมพูขาว มีโซนขุ่นรอบโคโลนี และอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี

ภาคผนวก ข6.10 วิเคราะห์จุลินทรีย์ที่สร้างกรด

1. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. ปิเปตต์ตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ทำการหยดลงในจานเพาะเชื้อ เททับด้วย MRS Agar ที่หลอมละลาย หมุนจานเพาะเชื้อจนสารละลายตัวอย่างและอาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
4. ตรวจนับจำนวน โดยเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวน 25-250 โคโลนี

**ภาคผนวก ค**  
**วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ**

ภาคผนวก ก1 Alkaline peptone water (APW)

peptone	10	กรัม
sodium chloride	10	กรัม
ค่าความเป็นกรด-เบส	8.5	

นำเปปโทนและโซเดียมคลอไรด์ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มให้ละลาย ปรับค่าความเป็นกรด-เบส และทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ก2 Baird-Parker medium

Tryptone	10	กรัม
Beef extract	5	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
Glycine	12	กรัม
Sodium pyruvate	10	กรัม
Lithium chloride	5	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติม egg yolk emulsiom ในอัตราส่วน 5 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงจานเพาะเชื้อ รอให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งก่อนนำไปใช้งาน

ภาคผนวก ก3 EC broth

Tryptose	20	กรัม
Lactose	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	4	กรัม

Sodium chloride	5	กรัม
Bile salts	1.5	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
ค่าความเป็นกรด-เบส	6.9	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วดูใส่หลอดทดลองที่มีหลอดดัก  
ก๊าซ คั่วอยู่หลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### ภาคผนวก ก4 EMB (Eosin-Methylene Blue) Agar

Peptone	10	กรัม
Lactose	5	กรัม
Sucrose	5	กรัม
Dipotassium phosphate	2	กรัม
Agar	13.5	กรัม
Eosin	0.4	กรัม
Meethylene blue	0.065	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปต้มจนละลาย และทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่  
อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### ภาคผนวก ก5 HA (Halophilic agar) / HB (Halophilic broth)

Casamino acids	10	กรัม
Yeast extract	10	กรัม
Proteose peptone	5	กรัม
Trisodium citrate	3	กรัม
KCl	2	กรัม
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	25	กรัม
NaCl	250	กรัม

Agar (เฉพาะ Halophilic agar)	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปต้มจนละลาย และทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### ภาคผนวก ค6 Lactose broth

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Lactose	5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปต้มจนละลาย และทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### ภาคผนวก ค7 Lauryl tryptose broth (LST broth)

Tryptone	20	กรัม
Lactose	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2.75	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	2.75	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Sodium lauryl sulfate	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
ความเป็นกรด-เบส	6.8	

นำส่วนผสมทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปต้มจนละลาย แล้วแบ่งใส่หลอดที่มีหลอดดักแก๊ส คว่ำอยู่หลอดละ 10 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ก8 Manitol egg york polymysin agar

Beef extract	1	กรัม
Peptone	10	กรัม
Manitol	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Phenol red	0.0025	กรัม
Agar	15	กรัม
ความเป็นกรด-เบส	7.2	

ละลายส่วนผสมในน้ำ 900 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติม 0.1 % polymysin B ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ egg york emulsion ปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นจึงทดลองงานเพาะเชื้อ

## ภาคผนวก ก9 MRS agar

Dextrose	20	กรัม
Peptone	10	กรัม
Yeast extract	4	กรัม
Beef extract	8	กรัม
Tween 80	1	กรัม
Sodium acetate	3	กรัม
Ammonium citrate	2	กรัม
Dipotassium phosphate	2	กรัม
Magnesium sulfate	0.1	กรัม
Manganese sulfate	0.05	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส  
เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค10 Plate count agar (PCA)

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Agar	15	กรัม
ค่าความเป็นกรด-เบส	7.0	

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส  
เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค11 potato dextrose agar

Potato infusion	200	มิลลิลิตร
Dextrose	20	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส  
เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค12 Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS)

Yeast extract	5	กรัม
Proteose peptone	10	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulfate	10	กรัม
Oxgall	8	กรัม

Agar	15	กรัม
Saccharose	20	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Bromthymol blue	0.04	กรัม
Thymol blue	0.04	กรัม
Ferric citrate		
ค่าความเป็นกรด-เบส	8.6	

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค13 Tryptose sulfite cycloserine (TSC-EY) agar

Tryptone	15	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Soytone	5	กรัม
Ferric ammonium citrate	1	กรัม
Sodium metabisulfite	1	กรัม
Agar	20	กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำ 1000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติม egg york emulsion ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นจึงเทลงจานเพาะเชื้อ

ภาคผนวก ค14 Tryptic soy agar (TSA) + 3% NaCl

Pancreatic digest of casein	17	กรัม
Papaic digest of soybean meal	3	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมและเติม โซเดียมคลอไรด์ 3 % ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ก15 Selenite cystine broth

Tryptone	5	กรัม
Lactose	4	กรัม
Sodium acid selenite	4	กรัม
Disodium hydrogen phosphate	5.5	กรัม
L-cystine	0.01	กรัม
ค่าความเป็นกรด-เบส	7.0	

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ก16 Xylose lysine desoxycholate agar (XLD)

Yeast extract	3	กรัม
L-lysine	5	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Saccharose	7.5	กรัม
Sodium desoxycholate	2.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	6.8	กรัม
Sodium thiosulfate	5	กรัม
Agar	15	กรัม
Phenol red	0.8	กรัม
ค่าความเป็นกรด-เบส	7.4	

ละลายส่วนผสม ต้มให้ละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ง  
วิธีการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย

ภาคผนวก ง1 ศึกษาลักษณะการเติบโต นำเชื้อขี้ดลงบนอาหาร TSA+3%NaCl นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ศึกษารูปร่าง สี เนื้อโคโลนี ความโปร่งแสง ความทึบ แสง

ภาคผนวก ง2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ศึกษาการติดสีแกรม

ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมี

ภาคผนวก ง3 การสร้างคะตะเลส เลี้ยงเชื้อบนอาหาร TSA+3%NaCl อายุ 18-24 ชั่วโมง แล้วหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 ถ้ามีฟองก๊าซเกิดขึ้นแสดงว่าให้ ผลบวก

ภาคผนวก ง4 การสร้างออกซิเดส โดยใช้แท่งแก้วขนาดเล็กเขี่ยเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ลงบน กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่เปียกชุ่มด้วยสารละลาย tetramethyl paraphenylene diamine-dihydrochloride เข้มข้นร้อยละ 1 สังเกตการเปลี่ยนแปลงภายใน 1 นาที ถ้ามีสีม่วงเกิดขึ้นตามแนวที่ ลากเชื้อลงไป แสดงว่ามีเอนไซม์ไซโตรมออกซิเดส ให้ผลการทดสอบเป็นบวก

ภาคผนวก ง5 การทดสอบออกซิเดชัน-เฟอร์แมนเตชัน (O-F test) อาหารที่ใช้ คือ Oxidative fermentation medium เติม NaCl ร้อยละ 3 จากนั้นปลูกเชื้อให้ได้อายุ 24 ชั่วโมง แบบปักตรงตลอด ความลึกของอาหารเชื้อเขี่ยละ 2 หลอด จากนั้นเทพาราฟินเหลวที่ปราศจากเชื้อปิดทับหน้าอาหาร หนาประมาณ 1 นิ้ว เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาพไม่มีออกซิเจน ส่วนอีกหลอดหนึ่งไม่ต้องปิดทับพาราฟิน จากนั้นบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน เชื้อที่เป็น fermentation จะสร้างกรด โดยอาหารทั้งสอง หลอดหรือเฉพาะหลอดที่เทพาราฟินจะเป็นสีเหลือง ส่วนเชื้อที่เป็น Oxidative จะให้กรดโดยอาหาร เฉพาะหลอดที่ไม่ปิดพาราฟินจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

ภาคผนวก ง6 การรีดิฟิเนตรท ปลูกเชื้อในอาหาร TSA+3%NaCl และเติมโปแตสเซียมไนเตรทร้อยละ 0.1 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน ตรวจผลโดยใช้น้ำยาทดสอบไนเตรท ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย A และสารละลาย B โดยหยดน้ำยาดังกล่าวลงไปอย่างละ 5 หยด ตามลำดับถ้าอาหารมีสีแดงแสดงว่าไนเตรทถูกรีดิฟิเนตรทไปเป็นไนเตรทแสดงว่าผลเป็นบวก ถ้าไม่เกิด สีแดงแสดงว่าผลเป็นลบ ต้องนำไปทดสอบต่อโดยการใส่ผลสังกะสีลงไปเล็กน้อย ถ้าเกิดสีแดง แสดงว่าไนเตรทถูกรีดิฟิเนตรทด้วยผลสังกะสี ถือว่าให้ผลเป็นลบที่แท้จริง ถ้าไม่มีสีแดงเกิดขึ้นในอาหาร

แสดงว่าให้ผลบวก เพราะในเตรทถูกแบคทีเรียใช้เปลี่ยนไปเป็นไนไตรท์แล้วไนไตรท์ถูกใช้ต่อไป เป็นก๊าซไนโตรเจนที่สุด

ภาคผนวก ง7 การสร้างอินโดล ปลูกเชื้อแบคทีเรียลงในอาหาร TSA+3%NaCl บ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยเติมสาร โคแวก ลงไป 2-3 หยด เขย่าให้เข้า กัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ถ้าเกิดสีแดงลอยอยู่ที่ผิวหน้าอาหารแสดงว่าเชื้อนั้นสามารถสร้างอินโดลได้ บันทึกผลเป็นบวก

ภาคผนวก ง8 การสร้างเอนไซม์ยูรีเอส ปลูกเชื้อลงในอาหารยูเรียเหลวที่เติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของฟีนอลเรดในอาหาร จากสีเหลืองเป็นสีชมพู เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสย่อยยูเรียและเกิดก๊าซแอมโมเนีย ทำให้อาหารมีสภาพเป็นด่างบันทึกผลการทดสอบเป็นบวก

ภาคผนวก ง9 การย่อยเคซีน ปลูกเชื้อลงในอาหาร casein (sodium caseinate) agar คัดแปลง โดยการเติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ตรวจสอบการย่อยเคซีน โดยวัด เส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใสรอบ ๆ โคลโลนิ ถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่าเคซีนถูกย่อย

ภาคผนวก ง10 การย่อยไขมัน ปลูกเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารทดสอบการย่อยไขมัน บ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ตรวจสอบผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณขาวขุ่นซึ่งเกิดเป็น ตะกอนรอบโคลโลนิของแบคทีเรีย ถ้าเกิดตะกอนขาวขุ่น แสดงว่าสร้างเอนไซม์ไลเปสย่อยทวิน 80

ภาคผนวก ง11 การย่อยแป้ง ปลูกเชื้อแบคทีเรียลงในอาหาร TSA+3%NaCl แล้วเติมแป้ง ร้อยละ 0.2 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ตรวจสอบการย่อยแป้งโดยรดน้ำยาไอโอดีน ให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อ ถ้าเกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคลโลนิของแบคทีเรียแสดงว่าแป้งบริเวณนั้นถูกย่อยหมด แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางใสดังกล่าว

ภาคผนวก ง12 การทดสอบเมทิลเรด (Methy Red test) ปลูกเชื้อลงใน MR-VP medium เติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลทุกวันจนครบ 7 วัน โดยแบ่งอาหารมา 2-3 มิลลิลิตร แล้วเติมสารเมทิลเรดลงไป 2-3 หยด ถ้าสีแดงในอาหาร บันทึกผลเป็นบวก ถ้าเกิดสี เหลืองเป็นผลลบ

ภาคผนวก ง13 การทดสอบอะเซทิลคาร์บีนอล (Voges-Proskauer test) ปลูกเชื้อลงใน MR-VP medium เติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจสอบทุกวันจนครบ 7 วัน โดยแบ่งอาหารมา 2-3 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย A และสารละลาย B ลงไป 2-3 หยด ถ้ามีสีชมพูแดงเกิดขึ้นภายในเวลา 10 นาที ผลเป็นบวก หยอดที่ไม่เกิดสีชมพูแดงให้ตั้งทิ้งไว้เพื่อตรวจสอบผลภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าไม่มีสีชมพูแดงเกิดขึ้นบันทึกผลเป็นลบ

ภาคผนวก ง14 ความสามารถในการเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรต ปลูกเชื้อลงในอาหาร Phenol red broth base เติมเกลือร้อยละ 3 เติมคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ กลูโคส แลคโตส มอลโตส แมนนิทอล ฟรุคโตส ซูโครส ซาโลส และอะราบิโนส ลงไปร้อยละ 1 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการสังเคราะห์ทุกวันจนครบ 7 วัน ถ้าสังเคราะห์ทำให้อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง

ภาคผนวก ง15 การสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปลูกเชื้อแบบปักตรงลงในอาหาร Triple Sugar Iron agar (TSI agar) เติมเกลือให้ครบร้อยละ 3 ใช้กระดาษกรองชุบสารละลายอิมตัวของเลดอะซิเตตเปะติดไว้ที่ปากหลอดอาหารฝาเกลียว บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ถ้ากระดาษกรองเปลี่ยนเป็นสีดำ ให้ผลบวก

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวเนาวพันธ์ หนูจ้อย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2526
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมประมง) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ปีที่สำเร็จการศึกษา พ.ศ. 2549
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานเผยแพร่ทางวิชาการ	Noojuy, N. and K. Boonprab. 2008. Food safety study for salted crab ( <i>Neopisesarma mederi</i> ) product, pp. 1-10. <b>In The proceeding of The 9<sup>th</sup> National Grad Research Conference</b> 14-15 March 2008 Burapha university, Bangsaen Chonburi, Thailand.  Noojuy, N. and K. Boonprab. 2008. Quality change study after post harvest of Meder's mangrove crab ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853), pp. 312-325. <b>In The Proceeding of The Annual Conference of Department of Fishries 2008.</b> Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives August 18-20, 2008 Bangkok, Thailand.  Noojuy, N. and K. Boonprab. 2008. Post Harvest Quality Change Study of Iced Meder's Mangrove Crab ( <i>Neopisesarma mederi</i> , H. Milne Edwards 1853) and Its Shelf Life, pp. 1-10. <b>In The Proceeding of The 10<sup>th</sup> National Grad Research Conference</b> 11-12 September

2008 Sukhothai Thammathirat Open University,  
Pakkrad Nontabure, Thailand.

Noojuy, N. and K. Boonprab. 2008. Quality Index Method (QIM) for Meder's mangrove crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) stored in ice. *In The proceeding of The 34<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*. October 31 – November 2 2008. (In English)

Boonprab, K. and N. Noojuy. 2008. Microbiological and chemical quality and public health significance of Thai salted crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853), *In The Program and Abstracts of a Satellite Symposium on Seafood Safety*, 5<sup>th</sup> World Fisheries Congress, Oct. 27, 2008. Yokohama, Japan.

Noojuy, N. and K. Boonprab. 2008. Quality Index Method (QIM) and its related indexes for Meder's mangrove crab (*Neopisesarma mederi*, H. Milne Edwards 1853) stored in ice. **KMITL Sci. J.** 8(2): 52-59.

ทุนการศึกษาที่ได้รับ

ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์  
ในวารสารระดับชาติและระดับนานาชาติ บัณฑิตวิทยาลัย  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2551