

บทที่ 2

ทฤษฎีและ/หรือแนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย (Literature Review)

2.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาจำเป็นต้องมีการทำการตรวจสอบความถูกต้อง (Validation) และการตรวจรับรองต่างๆ เพื่อยืนยันให้แน่ใจว่าเครื่องมือหรืออุปกรณ์มีความน่าเชื่อถือ สามารถทำงานได้อย่างถูกต้อง เพื่อให้ควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาชีววัตถุได้อย่างมีคุณภาพ [14, 63]

การตรวจรับรองเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาชีววัตถุได้อย่างมีคุณภาพประกอบด้วยหัวข้อดังต่อไปนี้ [26, 59]

2.1.1 การตรวจรับรองการออกแบบ (Design Qualification, DQ)

เป็นขั้นตอนแรกในการตรวจรับรองเครื่องมือในการผลิต เพื่อให้แน่ใจว่าเครื่องมือที่จะนำมาใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ยานั้นมีการออกแบบให้เป็นไปตามมาตรฐาน GMP เครื่องมือมีคุณสมบัติและความสามารถในการทำงานสอดคล้องกับความต้องการในการใช้งานเครื่องจักร

2.1.2 การตรวจรับรองการติดตั้ง (Installation Qualification, IQ)

เป็นขั้นตอนที่ต้องตรวจรับรองว่าเครื่องจักรได้ติดตั้งอย่างถูกต้องตามแบบและมาตรฐานทางวิศวกรรม มีการรวบรวมและสอบทานคู่มือการใช้งานและการบำรุงรักษา มีข้อกำหนดในการสอบเทียบ และมีการยืนยันวัสดุของเครื่องจักรว่าสอดคล้องเป็นไปตามการออกแบบที่กำหนดไว้

2.1.3 การตรวจรับรองการทำงาน (Operational Qualification, OQ)

เป็นขั้นตอนการตรวจรับรองหลังจากการติดตั้ง เพื่อยืนยันว่าเครื่องมือสามารถทำงานได้ตามความสามารถของเครื่องมือ มีการทดสอบที่ครอบคลุมขีดจำกัดการทำงานสูงสุดและต่ำสุดของเครื่องมือ จากขั้นตอนนี้จะมีการสร้างมาตรฐานวิธีการปฏิบัติงาน (Standard operating procedure, SOP), การทำความสะอาด (Cleaning method) การฝึกอบรมผู้ปฏิบัติงาน การบำรุงรักษาแบบป้องกัน (Preventive maintenance, PM) และการสอบเทียบเครื่องมือ (Calibration) หลังจากนั้นจึงสามารถใช้งานเครื่องมือได้

2.1.4 การตรวจสอบประสิทธิภาพ (Performance Qualification, PQ)

ขั้นตอนนี้เป็นการตรวจรับรองเพื่อยืนยันว่าเครื่องมือสามารถทำงานได้อย่างสมบูรณ์ที่สภาวะการทำงานจริง จึงจะมีการทดสอบหัวข้อต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อการดำเนินการผลิตยา [9]

ในการดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องและการตรวจรับรองตามมาตรฐาน GMP นั้นต้องมีการดำเนินการทางด้านเอกสาร ได้แก่การจัดทำโปรโตคอลเพื่อระบุวิธีการ ขั้นตอนวิกฤติ และเกณฑ์การยอมรับผลการทดสอบ มีการทบทวนและรับรองโปรโตคอลนั้นก่อนนำไปใช้งาน ระหว่างการทดสอบต้องมีการบันทึกข้อมูล เมื่อดำเนินการตรวจรับรองเสร็จสิ้นต้องมีรายงานซึ่งอ้างอิงถึงโปรโตคอลของการ

ตรวจสอบความถูกต้องและการตรวจรับรอง มีการสรุปผลที่ได้ มีการให้ความเห็นต่อการเบี่ยงเบนที่พบ และให้ข้อสรุปที่จำเป็น รวมถึงข้อเสนอแนะการเปลี่ยนแปลงที่จำเป็นเพื่อแก้ไขข้อบกพร่อง

การระบุขั้นตอนวิกฤตินั้นได้มาจากการประเมินความเสี่ยงต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยา โดยมี การระบุความเสี่ยง การประเมินระดับความรุนแรง ความถี่ในการเกิด และความสามารถในการตรวจพบ เมื่อได้ขั้นตอนวิกฤติแล้ว จึงสามารถจัดเตรียมโปรโตคอลเพื่อทำการยืนยันว่าขั้นตอนวิกฤตินั้นไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยา และจากนั้นทำการประเมินความเสี่ยงใหม่ เพื่อพัฒนาระบบต่อไป

2.2 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประเมินความเสี่ยง [51, 55-56, 65]

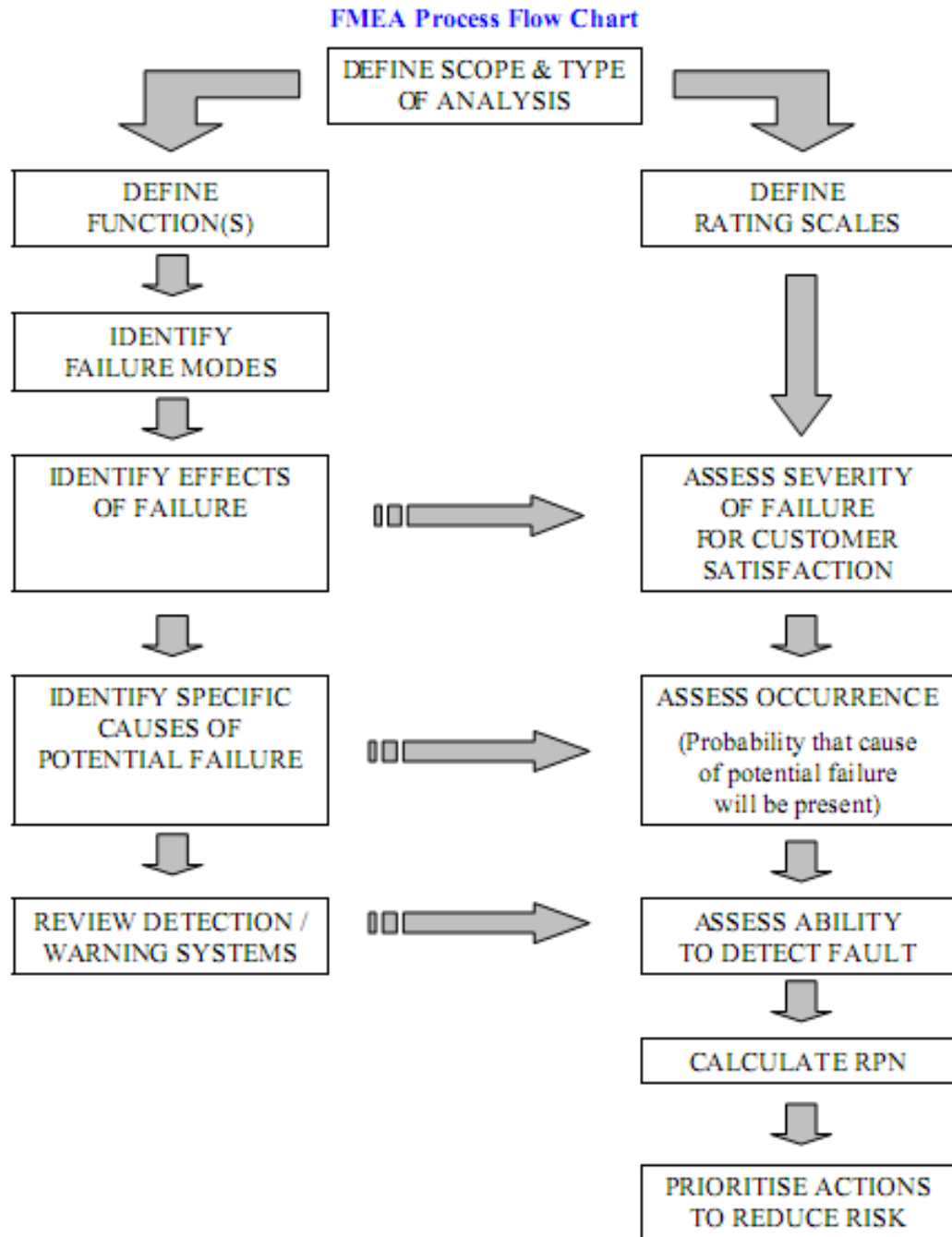
เนื่องจากเทคโนโลยีอุตสาหกรรมที่หลากหลายถูกนำมาใช้ผลิตยาในปัจจุบัน ทำให้มาตรฐาน GMP ไม่สามารถครอบคลุมการดำเนินงานของอุตสาหกรรมทุกอย่างได้ GMP ยุคใหม่จึงไม่เพียงการ ปฏิบัติตามมาตรฐาน แต่ต้องมีการประเมินความเสี่ยง โดยใช้หลัก Risk Based Approach เพื่อประเมิน ความเสี่ยงต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยา ซึ่งด้วยวิธีการนี้จะช่วยให้อุตสาหกรรมไม่จำเป็นต้องทำตาม มาตรฐาน ซึ่งอาจไม่มีความจำเป็นต่อทุกการดำเนินงาน แต่สามารถเลือกทำในสิ่งที่จำเป็นเพื่อเป็นการ รับประกันคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยทั้งหมดนี้อยู่บนพื้นฐานของการประเมินความเสี่ยงและการคิด วิเคราะห์ในทางวิทยาศาสตร์ [25, 53]

เพื่อให้การดำเนินการวิจัยเพื่อจัดทำตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบ Decontamination system ซึ่งประกอบด้วยเครื่อง Autoclave และ Hot Air Oven ในระดับห้องปฏิบัติการควบคุม คุณภาพนี้ มีความเหมาะสมกับกระบวนการทำงาน และสามารถรับประกันคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ ขั้นตอนดำเนินงานจึงต้องเริ่มจากการประเมินความเสี่ยงของกระบวนการ การทำงาน และ ลักษณะเฉพาะของระบบ Decontamination system เพื่อระบุขั้นตอนวิกฤติ และหัวข้อที่จำเป็นต้อง ทำการตรวจรับรอง

หลักการประเมินความเสี่ยง Risk Assessment (RA) นี้ โดยทั่วไปประกอบด้วย 3 หัวข้อดัง แสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยง [64]



รูปที่ 3 ขั้นตอนการทำ FMEA [50]

การประเมินความเสี่ยงมีเครื่องมือในการจัดทำหลายอย่าง ตั้งแต่เครื่องมือพื้นฐาน เช่น การใช้แผนภูมิ, Flowcharts, Check sheets, Process Mapping, Cause/effect diagram และเครื่องมือขั้นสูง เช่น Fault tree analysis (FTA), Failure modes effects analysis (FMEA), Hazards analysis and critical control point (HACCP), Hazard operability analysis (HAZOP) โดยวิธี FMEA ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงานดังแสดงในรูปที่ 3 โดยการทำ FMEA ใช้การจัดลำดับเพื่อประเมิน

- ความรุนแรงเหตุการณ์ที่สามารถเกิดขึ้นได้ (Severity)
- โอกาสที่เหตุการณ์สามารถเกิดขึ้นได้ (Probability)
- ความสามารถในการพบเหตุการณ์นั้นๆ (Detection)

เมื่อทำการให้ค่า rating ของทั้งสามตัวแปรด้านบนแล้วจะหาค่า Risk Priority Number (RPN) เพื่อใช้จัดเรียงลำดับความเสี่ยงโดยคำนวณได้จาก

$$\text{RPN} = \text{Severity} \times \text{Occurrence} \times \text{Detection}$$

ซึ่งการให้ค่า rating ของแต่ละตัวแปรและการประเมินระดับของ RPN นั้นขึ้นกับแต่ละกระบวนการและการใช้งาน จากวิธีการดังกล่าวจะเห็นได้ว่า FMEA เป็นเครื่องมือที่ทำให้สามารถจัดเรียงลำดับความสำคัญของความเสี่ยงได้ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการหาขั้นตอนวิกฤติสำหรับจัดทำ PQ Protocol

การใช้งาน Decontamination system ซึ่งประกอบด้วยเครื่อง Autoclave และ Hot Air Oven ในห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพควบคุมคุณภาพ (Quality Control Laboratory) ของโรงงานต้นแบบผลิตยาชีววัตถุแห่งชาติ (National Biopharmaceutical Facility, NBF) จำเป็นต้องคำนึงถึงตัวแปรที่มีผลกระทบต่อระบบ Decontamination system ดังต่อไปนี้ [12]

- ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่สามารถทำให้ปราศจากเชื้ออย่างสม่ำเสมอและเชื่อถือได้ในสถานะที่ต้องการ
- ต้องพิสูจน์ว่าเครื่องมือและอุปกรณ์ควบคุม (critical control) ที่สำคัญ เช่น อุปกรณ์วัดความดันและอุณหภูมิ สามารถใช้งานได้ในช่วงขอบเขตของค่าควบคุม (parameter) ในกระบวนการ
- เข้าใจหลักการตายของจุลินทรีย์ (microbial death) และความหมายของการปราศจากเชื้อ (sterile)
- เข้าใจลักษณะเฉพาะของวัสดุ (load) ที่จะทำ ให้ปราศจากเชื้อด้วยกระบวนการที่เหมาะสม
- ตรวจสอบความถูกต้องรอบเวลาการทำ ให้ปราศจากเชื้อ (Validate cycle) ที่ใช้ เพื่อพิสูจน์ว่าสามารถทำ ให้ปราศจากเชื้อได้ตามที่กำหนดไว้
- คงสภาพการควบคุมและติดตามตรวจสอบ (monitor) เป็นประจำ ในกระบวนการผลิตไว้เพื่อให้มั่นใจว่ายาที่ผลิตได้มีคุณภาพปราศจากเชื้อในสถานะที่ได้ตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการทำ ให้ปราศจากเชื้อ
- บันทึกเป็นลายลักษณ์อักษรในทุกขั้นตอนที่ทำ

2.3 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับระบบ Decontamination system

Decontamination system เป็นระบบที่ทำให้ปราศจากเชื้อหรือกระบวนการทำลายจุลินทรีย์ โดยระบบนี้ประกอบด้วยเครื่อง Autoclave ซึ่งเป็นการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนชื้นหรือไอน้ำ (Steam Sterilization or Moist Heat Sterilization) และเครื่อง Hot air oven การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง (Dry Heat Sterilization) โดยมีรายละเอียดของ Decontamination system ดังนี้

2.3.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเครื่อง Autoclave [1-8]

Autoclave เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้ไอน้ำร้อนและแรงดันสูง ทำให้ของที่ผ่านการนึ่งแล้วอยู่ในสภาพปราศจากเชื้อ จึงมักใช้เครื่องนี้ในการนึ่งฆ่าเชื้อของเสียทางชีวภาพเพื่อ

กำจัดและป้องกันการปนเปื้อน และนอกจากจะใช้ป้องกันการปนเปื้อนแล้ว เครื่อง Autoclave ยังสามารถใช้ฆ่าเชื้อตัวอย่างก่อนจะนำมาใช้ในการทดลองได้อีกด้วย ส่วนการใช้งานเครื่อง Autoclave นั้น ควรมีการทดสอบเครื่องอย่างสม่ำเสมอเพื่อให้สามารถใช้งานเครื่อง Autoclave ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ในบทความเรื่อง Autoclave ในตอนที่แล้วได้กล่าวถึง หลักการทำงาน ประเภทของ Autoclave การนำไปใช้ประโยชน์และเทคโนโลยีใหม่ในปัจจุบัน

การเตรียมตัวอย่างโดยใช้ Autoclave

เครื่อง Autoclave นั้นนอกจากจะนำไปใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อสำหรับของเสียทางชีวภาพแล้ว ยังใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อเครื่องมือ อุปกรณ์และอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนจะนำมาใช้อีกด้วย โดยใช้อุณหภูมิ ความดัน และเวลาเท่ากันกับที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อของเสียคือ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที การเตรียมตัวอย่างนี้ มีเทคนิคการใช้ที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างของเหลว เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ และ น้ำ กับตัวอย่างวัสดุแห้ง เช่น อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ

หลักการของ Autoclave

หลักการของการนึ่งด้วยไอน้ำร้อนแรงดันสูง (Autoclave) คือ การนำสิ่งของที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อมาไว้ในห้องที่มีความร้อนและแรงดันของไอน้ำสูงกว่าสภาวะบรรยากาศปกติในช่วงระยะเวลาหนึ่ง การนึ่งฆ่าเชื้อโดยทั่วไปจะใช้สภาวะที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้ระยะเวลานึ่ง 15 นาที หากใช้อุณหภูมิสูงมากๆ และแรงดันไอน้ำมากกว่า 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อาจจะมีผลเสียต่ออุปกรณ์ที่เป็นโลหะ เพราะอุณหภูมิที่สูงมากเกินไปจะทำให้เนื้อโลหะมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปและมีอายุการใช้งานสั้นลง รวมทั้งแรงดันไอน้ำที่สูงเกินไปอาจทำให้ผิวโลหะเป็นสนิมและสึกกร่อนได้ (ถึงแม้จะใช้ระยะเวลาที่สั้นก็ตาม) ระยะเวลาในการนึ่งตามที่ได้กล่าวถึงนี้ เป็นเวลาที่ห้องนึ่งมีอุณหภูมิและแรงดันของไอน้ำเป็นไปตามที่กำหนดเท่านั้น ไม่รวมเวลาในการเตรียมห้องนึ่งให้มีอุณหภูมิและแรงดันตามที่กำหนด

ชนิดของ Autoclave

อุปกรณ์ที่ใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อก็คือเครื่อง Autoclave ซึ่งมี 2 ชนิด คือ

1. Autoclave ระบบ Gravity : คือ Autoclave ขนาดเล็กที่มีความจุไม่เกิน 20 ลิตร (มักใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ) มีคุณสมบัติที่สำคัญดังนี้ หากใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำจะเป็น 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และหากใช้อุณหภูมิ 134 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำจะเป็น 30 ปอนด์/ตารางนิ้ว โดยอัตโนมัติ (เมื่อนึ่งในความดันบรรยากาศปกติ) ไม่จำเป็นต้องมีการไล่อากาศออกจากห้องนึ่งก่อนเพิ่มความดันด้วยไอน้ำ เพราะแรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เพียงพอที่จะไล่อากาศออกให้หมดได้อยู่แล้ว

Autoclave ระบบ Gravity ที่ขายกันในตลาดปัจจุบันมี 2 แบบ โดยดูจากวิธีการทำให้ของที่นึ่งแห้งเป็นหลัก ได้แก่

1.1 แบบเก่า เป็นระบบการทำให้แห้งใช้ความร้อนทำให้ของที่นึ่งแล้วแห้ง (Dry Heat) โดยใช้เวลาประมาณ 30 -60 นาที ดังนั้นวัสดุบางอย่างอาจมีลักษณะมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปและทำให้อายุการทำงานสั้นลงอันเนื่องมาจากรับความร้อนนาน (ปัจจุบันไม่นิยมใช้กันแล้ว) ดังแสดงในรูปที่



รูปที่ 5 Autoclave แบบมีระบบดูดให้เป็นสุญญากาศ

ลักษณะของ Autoclave ที่ดี

1. อุณหภูมิที่ใช้สำหรับการนึ่งฆ่าเชื้อควรอยู่ในช่วง 105 – 123 องศาเซลเซียส สูงที่สุดไม่ควรเกิน 134 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรให้น้อยกว่านี้
2. ความแม่นยำของอุณหภูมิควรอยู่ในช่วงไม่เกิน ± 0.1 องศาเซลเซียส
3. ความดันสูงสุดที่ Autoclave ทำได้ไม่ควรต่ำกว่า 26 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
4. ระบบการปล่อยความดันออกควรจะมีแผ่นกรองเพื่อช่วยไม่ให้เกิดการปนเปื้อนจากภายนอกห้องนี้
5. พื้นผิวภายในและภายนอกตู้ควรทำมาจากวัสดุที่ทนความร้อนได้สูง โดยเฉพาะส่วนที่เป็นพลาสติก
6. มีระบบควบคุมความปลอดภัย (Safety Control) เพื่อป้องกันอุณหภูมิและความดันสูงเกินค่าที่ต้องการ
7. ตะกร้าใส่ของและหลอดทดลองควรทำจากสแตนเลสดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 ตะกร้าใส่ของและรางใส่หลอดทดลองสำหรับการนึ่งฆ่าเชื้อ

ประโยชน์ของเครื่อง Autoclave

เครื่อง Autoclave ใช้สำหรับนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อนและแรงดันสูง โดยสิ่งที่สามารถนำมานึ่งฆ่าเชื่อนั้นได้แก่

1. เครื่องมือที่เกิดการปนเปื้อน หรือเครื่องมือที่นำไปใช้เกี่ยวข้องกับเชื้อจุลินทรีย์
2. สิ่งเพาะเลี้ยงและหัวเชื้อที่เกิดการติดเชื้อหรือปนเปื้อนจาก แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส
3. อุปกรณ์อื่นที่เกิดการปนเปื้อนเช่น กระดาษผ้า เสื้อผ้า ปิเปตทิปแบบพลาสติก ปิเปตแก้ว หลอดทดลองทั้งขนาดเล็กและใหญ่ (tube, vial) ถังมือ และจานเพาะเชื้อที่ใช้แล้ว
4. ตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ทั้งที่เกิดและไม่เกิดการติดเชื้อ
5. กรงขังสัตว์ติดเชื้อ
6. ชิ้นตัวอย่างจากเซลล์พืชและสัตว์ที่มีดีเอ็นเอถูกผสม

สิ่งที่ไม่ควรนำมานึ่งฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารแผ้วรังสี พลาสติก โพลีเอทิลีนชนิดต่างๆ และสารละลายที่ระเหยได้หรือสารเคมีที่มีฤทธิ์กัดกร่อน เช่น ฟีนอล อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม ของเสียที่นำมานึ่งฆ่าเชื่อนี้จะต้องใส่อยู่ในถุงใส่ของเสียทางชีวภาพ (Biohazard bag) ก่อนจะนำมานึ่งฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันของเสียไปปะปนอยู่กับน้ำในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ไม่ควรใช้ถุงพลาสติกในการใส่ของเพื่อนำมานึ่งฆ่าเชื้อเพราะถุงพลาสติกอาจจะละลายติดอยู่ในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อและจะทำให้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อเสียหายได้

เทคโนโลยีของเครื่อง Autoclave ในปัจจุบัน

ปัจจุบัน Autoclave มีการพัฒนาไปอย่างมากในหลายๆด้าน ทำให้การใช้ Autoclave มีประสิทธิภาพ และปลอดภัยมากขึ้น ในปัจจุบัน Autoclave มีระบบปิด-เปิดฝาแบบอัตโนมัติ โดยไม่ได้ใช้วิธีการปิดฝาแบบเดิมซึ่งเป็นแบบหมุนวาล์ว ระบบนี้จะมี circumferential ring (แหวนเส้นรอบวง) เป็นตัวล็อกแบบพิเศษซึ่งทำขึ้นมาจากซิลิโคนกันความร้อน โดยเมื่อปิดฝาแหวนนี้ก็จะเข้ามาล็อกฝาปิดไว้ตามรูปที่ 7 โดยไม่จำเป็นต้องใช้แรงบีบอัดของฝาแบบเดิม ระบบนี้จะล็อกฝาปิดอย่างอิสระโดยไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ แต่จะขึ้นอยู่กับความดันภายใน โดยฝาปิดจะไม่ยอมเปิดออกจนกว่าความดันภายในห้องบ่มจะอยู่ในระดับปกติ และสามารถตั้งการทำงานให้ฝาปิดเปิดออกเมื่อความดันอยู่ในระดับปกติแล้วโดยอัตโนมัติได้ ในส่วนของฝาปิดภายในนั้นส่วนใหญ่จะทำมาจากสแตนเลส ส่วนฝาปิดด้านบนซึ่งมีส่วนควบคุม (control panel) และหน้าจอแสดงผลนั้น ทำมาจากพลาสติกชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นฉนวนกันความร้อน จึงมีความเสี่ยงน้อยที่จะเกิดความเสียหายของส่วนควบคุมจากความร้อน ส่วนของตัวให้กำเนิดไอน้ำ (steam generator) ที่อยู่ในตัวเครื่องนั้น เมื่อใช้ร่วมกับการ Pre-heating แล้ว จะสามารถทำความร้อนให้ได้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาเพียง 10 นาที (ในกรณีที่มีเพียงห้องบ่มเปล่าๆ) ส่วนระบบทำความเย็นนั้นจะมีทั้งแบบที่เป็นท่อต่ออากาศเย็นจากภายนอกเข้าสู่ห้องบ่มและระบบทำความเย็นภายในตัวเครื่องเอง ทำให้สามารถลดเวลาในการทำความเย็นได้มาก การปล่อยอากาศออกเพื่อลดความดันภายในและลดอุณหภูมิจะมีแผ่นกรองช่วยกรองอากาศที่ผ่านเข้า-ออกห้องบ่ม โดยในส่วนของฝาปิดด้านในจะพัดลมช่วยในการหมุนเวียนอากาศ และมีระบบทำความเย็นโดยใช้การควบแน่นของน้ำ เพื่อช่วยลดกลิ่นจากของเสียซึ่งอาจมีพิษต่อสุขภาพได้ และมีระบบการทำความเย็นแบบรวดเร็ว โดยใช้เครื่องให้กำเนิดไอน้ำช่วยในการทำความร้อนให้กับภายในห้องบ่ม ทำให้ของที่อยู่ภายในแห้งไวขึ้น นอกจากนี้ Autoclave ในปัจจุบันยังสามารถเชื่อมต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์ ทำให้สามารถเก็บข้อมูล รายงานผลการนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกราฟ และทดสอบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้อีกด้วย

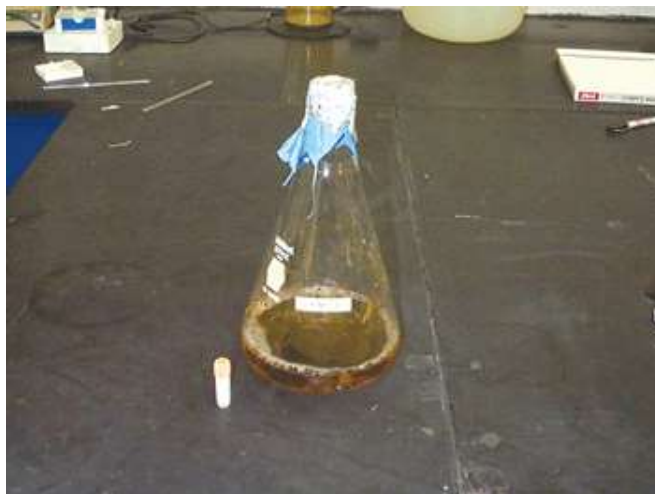


รูปที่ 7 Autoclave แบบมีฝาปิดด้านหน้าและด้านบน

การกำจัดสิ่งติดเชื้อโดย Autoclave ถือเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการกำจัดและลดการปนเปื้อน การเลือกใช้งานเครื่อง Autoclave ก็ควรเลือกเครื่องที่มีคุณสมบัติที่ดี สามารถกำจัดสิ่งติดเชื้อได้ทุกชนิด และมีระบบควบคุมความปลอดภัย เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้งานเครื่อง Autoclave นั้นนอกจากจะใช้สำหรับกำจัดสิ่งติดเชื้อแล้ว ยังสามารถใช้เตรียมตัวอย่างก่อนนำมาทดลองได้

การเตรียมตัวอย่างของเหลว

ของเหลวที่จะนำมาเลี้ยงเชื้อ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ ควรจะใส่ในภาชนะที่มีปริมาตรอย่างน้อยมากกว่าปริมาตรของเหลว 2 เท่า หรือใส่ของเหลวในภาชนะเพียงครึ่งเดียว (half full) เช่น ถ้าต้องการเลี้ยงเชื้ออาหารเหลว 1 ลิตร จะต้องใส่อาหารไว้ในฟลาสที่มีปริมาตรความจุอย่างน้อย 2 ลิตร เป็นต้น เพราะขณะเลี้ยงเชื้อ ของเหลวภายในจะเดือด ถ้ามีที่ว่างภายในภาชนะไม่เพียงพอ แรงดันจากของเหลวอาจทำให้ภาชนะแตกได้ สำหรับการเตรียมตัวอย่างอาหารเหลวในฟลาส ทำโดยเทอาหารเหลวใส่ลงฟลาส โดยมีปริมาตรของตัวอย่างไม่เกินครึ่งหนึ่งของปริมาตรฟลาส จากนั้นอุดปากด้วยสำลีที่หุ้มด้วยผ้าก๊อซ (มีลักษณะเป็นก้อนสำลีกลม) แล้วหุ้มด้วยกระดาษพอยล์อีกครั้งหนึ่งดังแสดงในรูปที่ 8 จึงนำไปเลี้ยงเชื้อได้



รูปที่ 8 ตัวอย่างของเหลวในฟลาส

ภาชนะใส่ตัวอย่างที่มีฝาครอบ (cap) ไม่ควรปิดฝาแน่นจนเกินไปหรืออาจจะเปิดฝาดอกเล็กน้อยก่อนนี้ ส่วนภาชนะที่มีฝาปิดแบบเกลียว ควรปิดฝาให้แน่นและคลายเกลียวออกประมาณครึ่งเกลียว (one-half) ทั้งนี้เพื่อป้องกันแรงดันจากภายใน ทำให้ภาชนะเสียหายในส่วนของการอุ่นนั้น การเตรียมตัวอย่างจะต้องทำการละลายวันซึ่งมีลักษณะเป็นผง ให้ละลายให้หมดก่อน จึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อได้ หลังจากการนึ่งสิ้นสุดลง ให้รอจนอุณหภูมิของอาหารวันลดลงจนอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียสก่อน จึงจะนำไปใช้ได้ ข้อควรระวังสำหรับอาหารวันคือ หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ไม่ควรทิ้งอาหารวันนานเกินไปเพราะจะทำให้วันแข็งตัวก่อนที่จะเทลงในจานเพาะเชื้อได้ แต่ถ้าอาหารวันแข็งตัวโดยที่ยังเปิดใช้ สามารถนำไปอุ่นให้อาหารวันละลายแล้วนำมาใช้ใหม่ได้ไม่จำเป็นต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อใหม่ ตัวอย่างของเหลวหลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนั้นสามารถนำไปใช้ได้ทันทีโดยไม่จำเป็นต้องรอให้ภาชนะใส่แห้งก่อน

การเตรียมตัวอย่างวัสดุแห้ง

วัสดุแห้งโดยทั่วไปแล้วหมายถึงอุปกรณ์หรือเครื่องมือต่างๆ เช่น ปิเปต ทิป ฟลาส และหลอดทดลองเปล่า หรืออุปกรณ์อื่นๆ ดังแสดงในรูปที่ 9 การเตรียมตัวอย่างแห้งไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนยุ่งยากเหมือนการเตรียมตัวอย่างของเหลวเพราะสามารถนำอุปกรณ์เหล่านี้มานึ่งฆ่าเชื้อได้ทันที ส่วนการวางตัวอย่างแห้งภายในห้องนึ่งนั้น ควรวางตัวอย่างห่างจากขอบห้องประมาณ 5 นิ้ว และไม่ควรใส่ตัวอย่างมากเกินไป สำหรับตัวอย่างที่มีความสูงเกินกว่าความสูงของตะแกรงนึ่งนั้น ไม่ควรนำตะแกรงมาใส่ซ้อนทับตัวอย่างนั้นอีกชั้นหนึ่ง เพราะจะทำให้ตัวอย่างเสียหายได้

ตัวอย่างวัสดุแห้งหลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ควรรอให้ตัวอย่างแห้งภายในห้องนึ่งก่อน จึงจะนำไปใช้ได้ และไม่ควรนำของที่นึ่งแล้วออกมาผึ่งให้แห้งภายนอกในขณะที่เปียกชื้น เพราะความชื้นที่หลงเหลืออยู่จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์จากอากาศ มาปนเปื้อนกับตัวอย่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วได้



รูปที่ 9 ตัวอย่างวัสดุแห้งที่สามารถนึ่งฆ่าเชื้อได้

เทคนิคการใช้ Autoclave

1. ถ้าต้องการนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้เวลาน้อยลง อาจใช้ความร้อน 134 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใช้เวลานึ่ง 7 นาที แต่ความร้อนและความดันที่สูงเกินไปอาจทำให้ผิวโลหะเป็นสนิมและสึกกร่อนได้ จึงควรใช้ความร้อนระดับนี้เฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น
2. สำหรับอาหารเหลวที่มีน้ำตาลอยู่เป็นปริมาณมาก การนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันสูงอาจทำให้น้ำตาลในอาหารไหม้ จนอาหารเปลี่ยนสีได้ ดังนั้น การนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเหลวที่มีน้ำตาลปริมาณมากจึงควรใช้ความร้อนในระดับที่ต่ำลงแต่ใช้เวลาในการนึ่งมากขึ้น เช่น ใช้ความร้อน 110 องศาเซลเซียส และเวลาในการนึ่ง 30 นาที แต่ใช้ความดันเท่าเดิม
3. การบรรจุของนึ่งควรให้มีช่องว่างภายในห้องนึ่งเหลือประมาณ 1 ใน 3 ไม่ใส่ของนึ่งให้แออัดจนเกินไป เพราะจะทำให้ไอน้ำไม่สามารถซึมผ่านได้สะดวก และควรติดเทปทดสอบการฆ่าเชื้อ (Autoclave tape) [22, 23] ดังแสดงในรูปที่ 10 ลงไปด้วย เพื่อตรวจสอบสภาวะการฆ่าเชื้อว่าเป็นไปตามที่กำหนดหรือไม่ โดยเมื่อผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เทปจะมีแถบสีเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาลเข้ม
4. ในช่วงของการนึ่งฆ่าเชื้อ สภาวะของห้องนึ่งทั้งอุณหภูมิ แรงดันไอน้ำ และระยะเวลาในการนึ่ง ควรเป็นไปตามที่กำหนดหรือคงที่ตลอดระยะเวลาในการนึ่ง
5. ในกรณีที่ใช้เครื่อง Autoclave ระบบ Gravity แรงดันไอน้ำต้องสามารถไล่อากาศภายในห้องนึ่งออกได้หมด เพราะหากมีอากาศหลงเหลืออยู่จะทำให้ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อมากกว่าเดิมถึง 10 เท่า และเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การทดสอบสปอร์ไม่ผ่าน
6. การนึ่งฆ่าเชื้อของเสียที่ติดเชื้อควรใส่ของเสียไว้ใน Biohazard Bag ดังแสดงในรูปที่ 10
7. ควรตรวจสอบระดับน้ำของ autoclave ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อทุกครั้ง เพราะหากระดับน้ำน้อยเกินไปขณะทำการนึ่งฆ่าเชื้อจะทำให้น้ำแห้ง และเป็นผลให้เครื่องเสียหายได้
8. ของที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว หากยังเปียกชื้นอยู่ห้ามนำออกจากห้องนึ่ง ควรเปิดประตูห้องนึ่งไว้ 1/4 นิ้ว เพื่อให้ไอน้ำระเหยออก โดยไม่ต้องกังวลว่าอากาศภายนอกจะเข้ามาในห้องนึ่ง เพราะไอน้ำและความร้อนจากภายในห้องนึ่งจะพุ่งออกมา จึงช่วยกันไม่ให้อากาศภายนอกเข้าสู่ห้องนึ่งได้ ไอน้ำและความร้อนที่ระบายออกสู่ภายนอกจะนำความชื้นจากของที่นึ่งออกไปด้วย ทำให้เมื่อระบายไอน้ำออกหมดแล้วของที่นึ่งก็จะแห้ง ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับอากาศภายนอกและเข้าสู่ห้องนึ่งภายหลังจึงไม่มีผลต่อของที่นึ่งแล้ว



รูปที่ 10 Biohazard bag และ biohazard tape [22, 23]

การประกันคุณภาพเครื่อง Autoclave

การประกันคุณภาพสำหรับเครื่อง Autoclave นั้น คือการบอกว่าเครื่อง Autoclave สามารถทำอุณหภูมิที่ถูกต้องตามเวลาที่กำหนดได้ โดยตัวบ่งชี้ทั้งหมดที่เป็นตัวบ่งชี้ทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. **ตัวบ่งชี้ทางกายภาพ (Physical indicators)** ประกอบไปด้วยโลหะอัลลอยด์ ที่สามารถทนอุณหภูมิสูงที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีได้ โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ถ้าโลหะนี้เกิดหลอมเหลวหรือเสียหายจากการทำงานของเครื่องจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถมองเห็นได้

2. **ตัวบ่งชี้ทางเคมี (Chemical indicators)** มักพบในบรรจุภัณฑ์ทางยาซึ่งจะมีส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว สำหรับในห้องปฏิบัติการทั่วไปจะมีเทปสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave tape) [22, 23] ดังแสดงในรูปที่ 10 ซึ่งจะมีแถบสีที่จะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีดำหรือน้ำตาลเข้มเมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3. **ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biological indicators)** เป็นตัวบ่งชี้ที่สามารถนำมาใช้ทดสอบเครื่อง Autoclave ได้อย่างดีที่สุด ตัวบ่งชี้ชนิดนี้จะบรรจุสปอร์ของแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้สูงมากดังแสดงในรูปที่ 11 ถ้าเครื่อง Autoclave ไม่สามารถทำอุณหภูมิที่ถูกต้อง สปอร์เหล่านี้จะเจริญเติบโตต่อไปได้

การทดสอบเครื่อง Autoclave [17-21, 47]

การทดสอบเครื่อง Autoclave นั้น ควรทำอย่างสม่ำเสมอเพื่อให้การใช้งานมีประสิทธิภาพดีอยู่ตลอด โดยช่วงเวลาที่ควรทำการทดสอบเครื่องโดยทั่วไป คือ

1. ทุกๆ 40 ชั่วโมง สำหรับเครื่อง Autoclave ที่ใช้เพื่อกำจัดสิ่งติดเชื้อจากมนุษย์หรือสัตว์สายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ เลือด เนื้อเยื่อ ตัวอย่างทางการแพทย์ หรือเชื้อโรคของมนุษย์
2. ทุกๆ 6 เดือน สำหรับเครื่อง Autoclave ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปและไม่เกี่ยวข้องกับการได้กล่าวไว้ข้างต้น

Autoclave ใช้สำหรับกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรค หรือทำความสะอาดอุปกรณ์โดยใช้ไอน้ำร้อนและแรงดันสูง และเพื่อให้เครื่องนี้มีประสิทธิภาพการทำงานสูงอยู่ตลอด จึงควรทดสอบการทำงานของเครื่องอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งการทดสอบการทำงานที่ดีและมีประสิทธิภาพที่สุดคือการทำ Spore test วิธีนี้ทำโดยใช้ชุดทดสอบสปอร์ที่มีวางขายตามท้องตลาดโดยทั่วไป โดยมีลักษณะเป็น Spore strips และ Spore suspension ของแบคทีเรียพวก *Bacillus stearothermophilus* ดังแสดงในรูปที่ 11 เพราะเป็นจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้สูงมาก จึงเหมาะที่จะนำมาทดสอบด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อ วิธีใช้ทำโดยใส่ชุดทดสอบ ซึ่งภายในมีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ หลังจากเริ่มการทำงานของเครื่องแล้ว จะทำให้หลอดแก้วภายในชุดทดสอบแตก สปอร์ที่อยู่ภายในก็จะตกลงไปในอาหารเหลวภายใน หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำชุดทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ถ้าสปอร์ถูกทำลายทั้งหมดสีของอาหารจะยังคงเป็นสีฟ้าเหมือนเดิม แต่ถ้าสปอร์มีการเจริญเติบโตและมีกระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นจะทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 11 ชุดทดสอบควรวางอยู่ในหลายๆตำแหน่งในห้องนึ่ง ทั้งด้านบนล่าง หน้า หลัง และบริเวณกลางห้องนึ่ง และควรวางชุดทดสอบไว้ในตำแหน่งที่ไอน้ำสามารถเข้าถึงได้ยาก เช่น บริเวณกลางถุงใส่ของฆ่าเชื้อด้วย วิธีทดสอบนี้สามารถที่จะบอกได้ว่าการนึ่งฆ่าเชื่อนั้นมีประสิทธิภาพเพียงพอหรือไม่ และหากทดสอบเครื่องไม่ผ่านก็ควรส่งเครื่องเข้าซ่อมแซมและทำการบำรุงรักษาต่อไป



รูปที่ 11 ชุดทดสอบสปอร์ ประกอบด้วย Spore strips และ Spore suspension [47]

ความปลอดภัยในการใช้ Autoclave

วัสดุทุกอย่างที่ติดเชื่อควรจะนำมานึ่งฆ่าเชื่อก่อนจะล้าง จัดเก็บ หรือกำจัดเป็นของเสียทางชีวภาพ ส่วนผู้ใช้งานเครื่อง Autoclave ก็ต้องได้รับการฝึกฝนให้เข้าใจถึงการบรรจุ การใส่ การติดฉลาก รวมทั้งวิธีปฏิบัติเมื่อเกิดเหตุฉุกเฉิน ซึ่งการฝึกฝนควรจะทำตามคู่มือและขั้นตอนที่ถูกต้องโดยทำตามคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญ เครื่อง Autoclave เป็นเครื่องมือที่ก่อให้เกิดความร้อนและความดันสูง ด้วยเหตุนี้ผู้ใช้ทุกคนจึงต้องเข้าใจและคำนึงถึงอันตรายที่จะเกิดขึ้นด้วยเป็นอย่างดี การหยิบจับของร้อนต่างๆ ต้องใส่ถุงมือหนาที่ออกแบบมาให้ใช้กับการจับของร้อน เมื่อกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อเสร็จสมบูรณ์จะต้องรอให้เครื่อง Autoclave เย็นลงสักเล็กน้อยก่อนที่จะเปิดประตูเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อออกมา และเมื่อเปิดประตูก็ควรเปิดอย่างช้าๆ เพื่อให้แรงดันสูงภายในห้องนึ่งค่อยๆ พุ่งออกมาภายนอก ซึ่งเครื่อง Autoclave จะมีวาล์วปล่อยความดันอยู่จึงสามารถปล่อยความดันจากช่องนี้ก่อนเปิดประตูได้ เพื่อ

ความปลอดภัยของผู้ใช้งาน แต่เครื่อง Autoclave รุ่นเก่าบางรุ่นจะไม่มีวาล์วปล่อยความดันนี้ และผนังของตู้ภายนอกก็ไม่มีฉนวนกันความร้อน ดังแสดงในรูปที่ 12 ดังนั้นในระหว่างกระบวนการจึงไม่ควรเข้าไปอยู่ใกล้กับเครื่อง และไม่ควรวางวัสดุไวไฟ เช่น กระดาษหรือพลาสติกหรือของเหลวไวไฟอื่นๆ ไว้ใกล้กับเครื่อง Autoclave



รูปที่ 12 เครื่อง Autoclave รุ่นใหม่ กับ เครื่อง Autoclave รุ่นเก่า

Safety Interlock System

เครื่อง Autoclave ส่วนมากจะมีระบบล็อกภายในตู้ (safety interlock system) ดังแสดงในรูปที่ 13 ซึ่งจะช่วยเพิ่มความปลอดภัยจากการใช้งานเมื่อประตูห้องนี้ปิดสนิทหรือไม่เหมาะสม แต่ในเครื่องรุ่นเก่าอาจจะมีกลไกการควบคุมความปลอดภัยภายในเครื่องนี้ ดังนั้นจึงต้องใช้งานด้วยความระมัดระวังเป็นพิเศษ โดยเฉพาะ การสังเกตและตรวจสอบให้แน่ใจว่าประตูห้องนี้ปิดสนิทก่อนที่จะเริ่มกระบวนการ ถ้าระหว่างกระบวนการนี้ชำรุดหรือมีน้ำรั่วออกมารอบๆรอยต่อของประตู แสดงว่าการปิดประตูไม่สนิทพอ ในกรณีนี้จะต้องหยุดกระบวนการโดยทันที แล้วรอจนให้น้ำหายไปหมด อุณหภูมิเริ่มลดลง และสภาพแวดล้อมภายนอกทุกอย่างปลอดภัยแล้ว จึงค่อยเปิดประตูออก จากนั้นก่อนที่จะเริ่ม กระบวนการต่อควร ตรวจสอบการปิดประตูให้แน่ใจอีกครั้ง แล้วจึงเริ่มกระบวนการใหม่อีกครั้ง ถ้าปัญหาเดิมยังคงเกิดอยู่ ควรส่งเครื่องให้ผู้เชี่ยวชาญหรือผู้ผลิตเพื่อซ่อมแซมและบำรุงรักษา



รูปที่ 13 Safety Interlock System

Biohazard

ของเสียทางชีวภาพควรจะต้องติดฉลากโดยใช้สัญลักษณ์ “Biohazard” บนถุงใส่ของเสียทุกครั้ง เพื่อให้ทราบว่าเป็นของเสียอันตรายและต้องรับกำจัดทันที สำหรับช่วง ระยะเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อของเสียทางชีวภาพ นั้น ถ้าเป็นไปได้ ควรจะนึ่งฆ่าเชื้อเมื่อจบการทำงานในแต่ละวันทุกวัน เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรค

การบรรจุของเพื่อนึ่งฆ่าเชื้อ

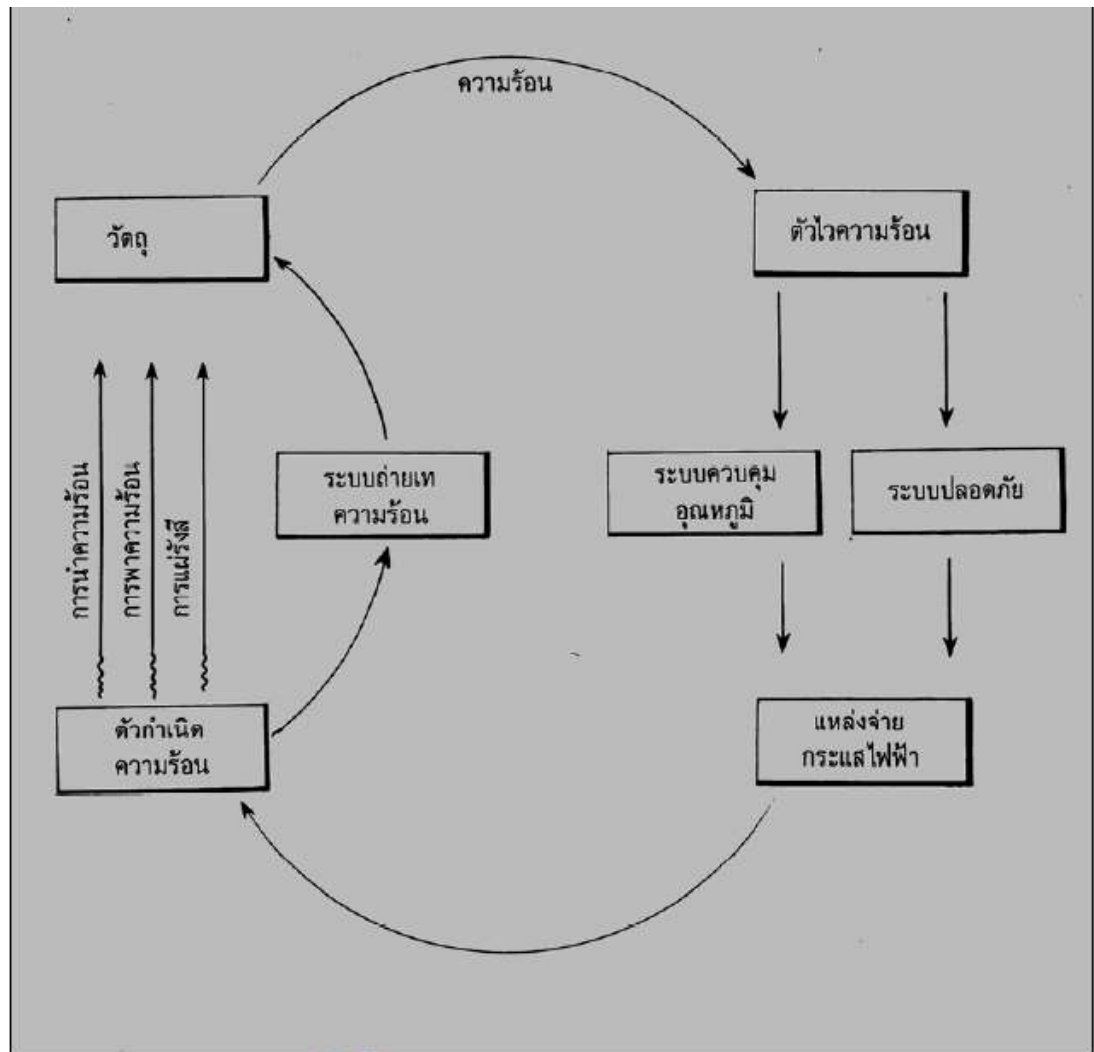
ของเสียทางชีวภาพทุกชนิดนั้นก่อนที่จะนึ่งฆ่าเชื้อจะต้องใส่ลงในถุงสำหรับนึ่งฆ่าเชื้อ ส่วนของมีคม เช่น เข็มและมีดผ่าตัด ต้องห่อหุ้มส่วนที่มีคมเอาไว้ก่อนจะทำการนึ่งฆ่าเชื้อ ไม่ควรใส่ปิเปต ปลายแหลมหรือเศษแก้วแตกลงในถุง ควรจะใส่ในกล่องหรือถังที่นึ่งฆ่าเชื้อได้ ในถุงใส่ของเสียนั้นควรมีน้ำอยู่ประมาณ 50-100 มิลลิลิตร เพื่อให้สะดวกต่อการต่อการเกิดไอน้ำในถุง แต่ถ้ามีน้ำจากของเสียอยู่ในถุงอยู่แล้ว ก็ไม่จำเป็นต้องเติมน้ำเข้าไปอีก เมื่อใส่ของเสียลงในถุง Autoclave แล้ว ควรมัดปากถุงเพื่อป้องกันของภายในล้นออกมา แต่ไม่ควรมัดแน่นเกินไป เพราะแรงดันไอน้ำที่เกิดขึ้นภายในอาจจะทำให้ถุงระเบิดหรือแตกได้ และไม่ควรใส่ถุงซ้อนกัน 2 ชั้น เพราะจะทำให้ห่วงการผ่านเข้าออกของไอน้ำ ทำให้การนึ่งฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง การบรรจุวัสดุลงในเครื่อง Autoclave ไม่ควรบรรจุลงห้องนึ่งโดยตรง แต่ควรใส่ลงใน ตะแกรง สแตนเลสหรือโพลีโพรพิลีน ก่อนจะวางลงในห้องนึ่ง เพื่อป้องกันผนังภายในห้องเสียหาย วัสดุที่เป็นของเหลวไม่ควรใส่ในปริมาณมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ของเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อให้ของเหลวในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไม่ล้นออกมาเพราะการขยายตัวเมื่อได้รับความร้อน และเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการ ในขั้นตอนการปล่อยแรงดันอากาศออก ควรปล่อยออกอย่างช้าๆ และปล่อยให้ของเหลวเย็นลงต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสก่อนจึงเปิดประตูห้องนึ่ง เพื่อป้องกันไม่ให้ของเหลวเดือดเมื่อความดันลดลง

2.3.2 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเครื่อง Hot air oven [15, 29 41-43, 57-58, 66]

ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) เป็นเครื่องมือพื้นฐานชนิดหนึ่งที่พบในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ทั่ว ๆ ไป เพราะใช้สำหรับการอบวัสดุและอุปกรณ์ต่าง ๆ ให้แห้ง ใช้รักษาอุณหภูมิของปฏิกิริยาในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการบางชนิดให้คงที่ ใช้อบฆ่าทำลายเชื้อโรค ใช้อบเพาะเชื้อจุลินทรีย์ ใช้เผาตัวอย่างให้เป็นเถ้า (ashing) เพื่อการนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม ใช้หาความชื้นในตัวอย่าง ใช้เผากากกัมมันตรังสี เป็นต้น

หลักการทำงาน

ความร้อนจากแหล่งกำเนิดความร้อนถูกถ่ายเทให้วัตถุ โดยกระบวนการนำความร้อน (conduction) การพาความร้อน (convection) และการแผ่รังสี (radiation) ความร้อนที่ถูกควบคุมอย่างเหมาะสมด้วยตัวให้ความร้อนและระบบควบคุมอุณหภูมิ ทำให้วัตถุเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว จากของเหลวเป็นไอ หรือจากของแข็งเป็นไอดังแสดงในรูปที่ 14



รูปที่ 14 องค์ประกอบพื้นฐานของตู้อบลมร้อน

ชนิดและองค์ประกอบ

ตู้อบลมร้อนมีหลายแบบดังแสดงในรูปที่ 15 มีชื่อเรียกแตกต่างกันตามอุณหภูมิใช้งานของตู้อบลมร้อนโดยเรียกตู้อบที่ให้อุณหภูมิได้สูงถึง 3,000 องศาเซลเซียสว่า “ตู้อเผา” (furnace) เรียกตู้อบที่ให้อุณหภูมิสูงสุดประมาณ 300 องศาเซลเซียสว่า “ตู้อบแห้ง” (drying oven) หรือ “ตู้อบฆ่าเชื้อ” (sterilizing oven) และเรียกตู้อบที่มีอุณหภูมิสูงสุดประมาณ 100 องศาเซลเซียสว่า “ตู้อบเพาะเชื้อ” (incubating oven) แต่ตู้อบลมร้อนบางชนิดมีช่วงอุณหภูมิการใช้งานกว้างจึงอาจเป็นทั้งตู้อบแห้งและตู้อบเพาะเชื้อ ตู้อบลมร้อนมีองค์ประกอบหลักที่คล้ายกันจะแตกต่างกันในส่วนของการออกแบบและวัสดุที่ใช้ทำดังนี้

1. ผนังตู้อบ โดยทั่วไปจะออกแบบให้มีการกระจายความร้อนภายในได้ดี และป้องกันการสูญเสียความร้อนจากภายในสู่ภายนอก วัสดุที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นโลหะที่ไม่เป็นสนิม ไม่เปลี่ยนรูปร่างและทำความสะอาดง่าย ตัวอย่างเช่น เหล็กกล้าไร้สนิม หรือเหล็กพ่นสีกันสนิม ผนังตู้อบอาจมี 2-3 ชั้น และมีฉนวนหนา 1-2.5 นิ้ว อยู่ระหว่างกลาง ฉนวนกันความร้อนที่ใช้ควรมีความคงทนต่อความร้อน ไม่ดูดความชื้น และนำความร้อนไม่ดี ตัวอย่างเช่น โยแก้ว(glass wool) และอิฐทนไฟ (fire brick) เป็นต้น

2. ตัวกำเนิดความร้อน การสร้างความร้อนไม่เกิน 1,000 องศาเซลเซียส นิยมใช้แท่งความร้อนหรือลวดความต้านทาน (resistance wire) ที่ทำจากโลหะผสมระหว่างนิกเกิลกับโครเมียม (นิโครม) เนื่องจากมีความทนทานต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารเคมีหลาย ๆ ชนิด ตัวอย่างเช่น คลอรีน (chlorine) โบรมีน (bromine) ไอโอดีน (iodine) และฟลูออรีน (fluorine) เป็นต้น แต่ถ้าต้องการอุณหภูมิสูงกว่านี้ต้องใช้ตัวกำเนิดความร้อนที่ทำจาก silicon carbide, molybdenum disilicate หรือ Iron-chromium-aluminum การติดตั้งตัวกำเนิดความร้อนอาจพบได้ 2 แบบคือแบบฝังในผนัง (embedded type) ดังแสดงในรูปที่ 15 (A) และ (B) แบบไม่ฝังในผนัง(opened type) ดังแสดงในรูปที่ 15 (A) และ (B) ซึ่งแบบไม่ฝังในผนังมีข้อดีในด้านการลดการสูญเสียความร้อนให้กับผนังตู้อบ ทำให้สามารถใช้ตัวกำเนิดความร้อนกำลัง (วัตต์) ต่ำ ซึ่งช่วยประหยัดกระแสไฟฟ้าและยืดอายุการใช้งานของตัวกำเนิดความร้อนได้มาก



รูปที่ 15 ตู้อบความร้อนแบบอบแห้งขนาดใหญ่ (A) ขนาดกลาง (B) ตู้เผา (C, D) แบบอบแห้งร่วมกับระบบสุญญากาศ (E) และตู้เพาะเชื้อ(F)

3. ช่องระบายอากาศ (air damper) ส่วนใหญ่ติดตั้งที่ด้านบนของตู้อบ มีส่วนน้อยติดตั้งไว้ที่ด้านหลังตู้อบ มีหน้าที่ระบายควัน ไอน้ำ หรือไอสารเคมีออกจากตู้อบ ทั้งนี้เพื่อลดการสูญเสียความร้อน อันเนื่องมาจากการมีความชื้นในตู้อบมาก ช่องระบายอากาศส่วนใหญ่ปรับขนาดของรูระบายได้เพื่อให้ไอน้ำระบายออกได้อย่างเหมาะสม โดยที่สูญเสียความร้อนออกทางช่องระบายอากาศน้อยที่สุด

4. ระบบถ่ายเทความร้อน ส่วนใหญ่นิยมใช้มีอยู่ 2 แบบ คือ

4.1 การพาความร้อนโดยอาศัยแรงโน้มถ่วง (gravity convection) ทำงานโดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักของอากาศที่ร้อนและเย็น ทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนอย่างช้า ๆ ช่องให้อากาศเย็นไหลเข้า (intake port) มักจะอยู่ส่วนล่างของตู้อบ อากาศร้อนบางส่วนไหลออกทางช่องระบายอากาศด้านบนดังแสดงในรูปที่ 16 (ก) ทำให้ระบบนี้มีผลเสียอยู่หลายประการคือ

4.1.1 หลังจากจ่ายกระแสไฟฟ้ากับตัวกำเนิดความร้อน ต้องใช้เวลานานในการทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นถึงอุณหภูมิที่ต้องการ เนื่องจากการสูญเสียความร้อนให้กับผนังตู้อบ

4.1.2 อุณหภูมิภายในพื้นที่ใช้งานเปลี่ยนแปลง (temperature fluctuation) ได้ง่ายเมื่อเปิดประตูตู้อบ (พื้นที่ใช้งาน หมายถึง พื้นที่ภายในตู้อบเหนือชั้นล่างสุดรวมกับพื้นที่ที่ห่างจากผนังทุกๆ ด้านไม่น้อยกว่า 3 ซม.)

4.1.3 อุณหภูมิภายในพื้นที่ใช้งาน ณ ที่จุดต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ ณ จุดกึ่งกลางของพื้นที่ใช้งานแตกต่างกันมาก เนื่องจากการถ่ายเทความร้อนไม่ดี

4.1.4 ถ้าใส่วัตถุในตู้อบมากจะทำให้วัตถุได้รับความร้อนไม่เท่ากัน กล่าวคือวัตถุที่อยู่ใกล้ตัวกำเนิดความร้อน จะร้อนกว่าวัตถุที่อยู่ไกลกว่าดังแสดงในรูปที่ 16 (ข) ซึ่งจากการทดลองพบว่าวิธีนี้ทำให้อุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 3-5 องศาเซลเซียส ในขณะที่การถ่ายเทความร้อนด้วยพัดลมมีความแตกต่างของอุณหภูมิน้อยกว่า (0.1 องศาเซลเซียส)

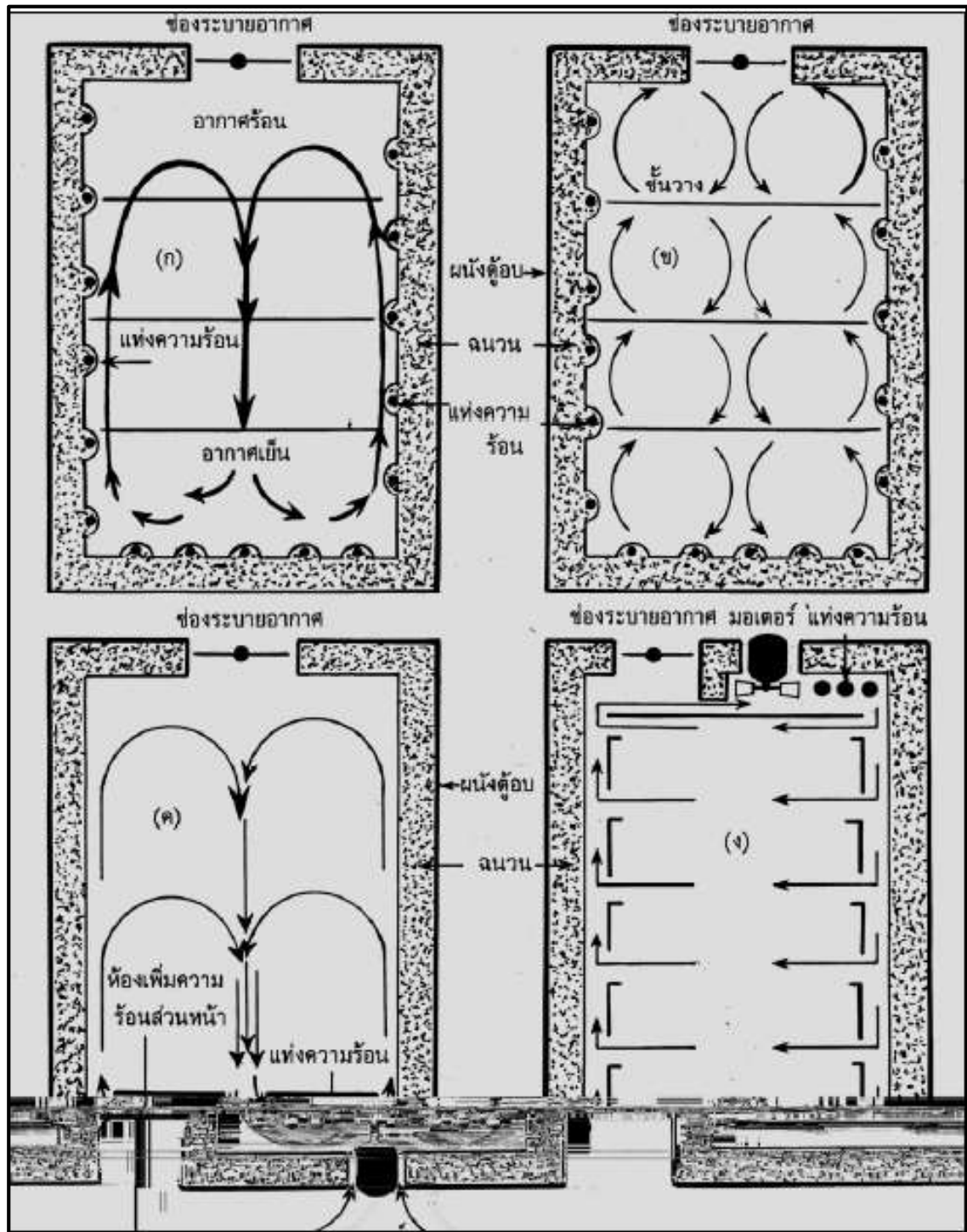
4.2 การพาความร้อนโดยใช้พัดลม (mechanical convection) นิยมใช้มอเตอร์หมุนพัดลมชนิดเหนี่ยวนำ (induction motor) ซึ่งไม่ต้องการการดูแลมากเพราะไม่ได้ใช้แปรงถ่าน มอเตอร์ดังกล่าวจะทำหน้าที่หมุนพัดลม ซึ่งอาจถูกติดตั้งไว้ที่ส่วนล่างของตู้อบเพื่อเสริมการพาความร้อนในแนวตั้ง (vertical convection) ดังแสดงในรูปที่ 16 (ค) หรือติดตั้งไว้ที่ส่วนบนของตู้อบเพื่อเสริมการพาความร้อนในแนวระดับ (horizontal convection) ดังแสดงในรูปที่ 16 (ง) การใช้พัดลมทำให้เกิดผลดีอยู่ 4 ประการคือ

4.2.1 ใช้เวลาในการทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นสั้นกว่า เนื่องจากอากาศภายนอกที่ถูกลดเข้ามาภายในตู้อบจะผ่านตัวกำเนิดความร้อนโดยตรง

4.2.2 อุณหภูมิภายในตู้อบเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเปิดประตูตู้อบ เพราะอากาศที่ถูกลดเข้ามาด้วยพัดลมถูกทำให้อุ่นขึ้นก่อน เมื่อผ่านห้องเพิ่มความร้อนล่วงหน้า (preheating chamber) ตลอดเวลา

4.2.3 อุณหภูมิทุก ๆ จุดภายในตู้อบค่อนข้างสม่ำเสมอ ถึงแม้ว่าจะใส่วัตถุอบเต็มๆ เนื่องจากพัดลมช่วยให้เกิดการถ่ายเทความร้อนที่ดีกว่า

4.2.4 มีเวลาสำหรับเพิ่มอุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส หลังจากเปิดประตูตู้อบกว้างที่สุดนาน 1 นาที (recovery time) น้อย

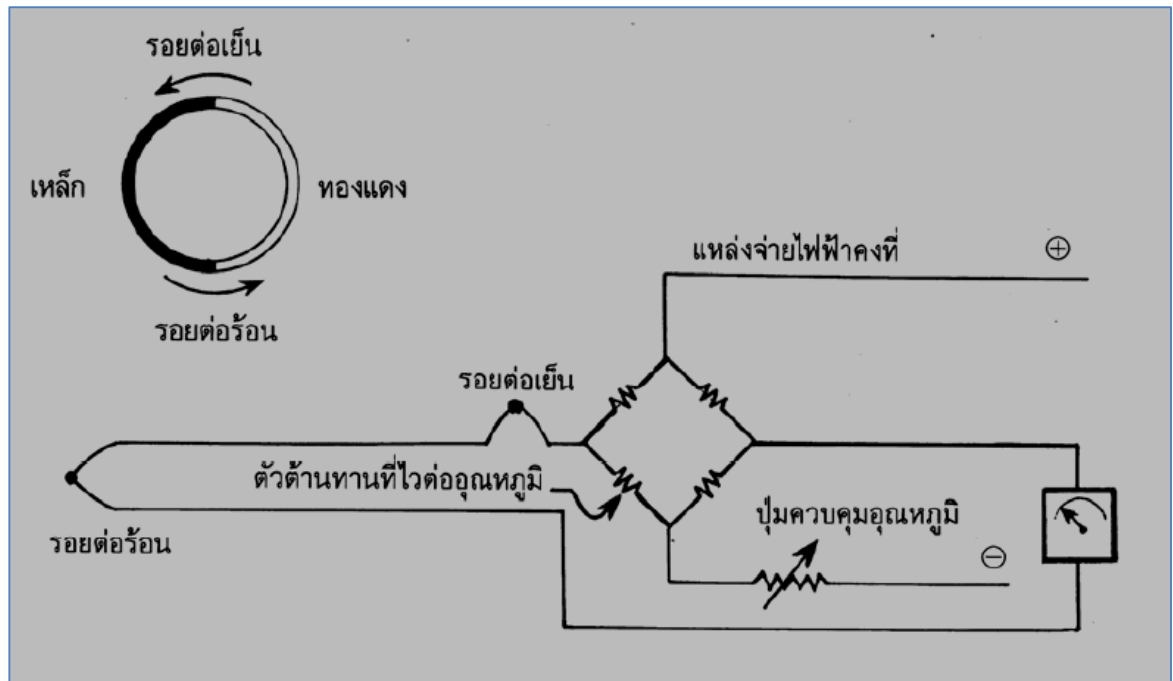


รูปที่ 16 การถ่ายเทความร้อนในตู้อบลมร้อนแบบอาศัยแรงโน้มถ่วง (ก,ข) และแบบใช้พัดลม (ค,ง)

5. ตัววัดความร้อน (temperature sensor) มีหน้าที่ป้อนสัญญาณให้วงจร หรือระบบควบคุมอุณหภูมิ หรือป้อนสัญญาณให้ระบบอ่านค่าอุณหภูมิ ตัววัดความร้อนที่นิยมใช้มีหลายชนิด คือ

5.1 เทอร์มอคัปเปิล (thermocouple) ประกอบด้วยโลหะ 2 ชนิด เชื่อมต่อกัน รอยต่ออันหนึ่งอยู่ที่อุณหภูมิต่ำเรียกว่า “รอยต่อเย็น” หรือ “cold junction” หรือ “reference junction” รอยต่ออีกอันหนึ่งอยู่ที่อุณหภูมิสูงกว่าเรียกว่า “รอยต่อร้อน” หรือ “hot junction” หรือ

“thermocouple” ความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างรอยต่อทั้งสองทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าไหลในวงจร แต่จะไม่มีกระแสไฟฟ้าไหลในวงจรเมื่ออุณหภูมิที่รอยต่อทั้งสองเท่ากัน ในทางทฤษฎีต้องรักษาอุณหภูมิของรอยต่อเย็นให้คงที่เพื่อเป็นตัวอ้างอิง แต่ในทางปฏิบัติกระทำได้ยาก จึงต้องใช้ตัวต้านทานที่ไวต่ออุณหภูมิต่อชดเชยความไม่คงที่ของรอยต่อเย็นดังแสดงในรูปที่ 17 หรืออาจชดเชยความผิดพลาดโดยใช้โลหะผสมที่มีความต้านทานต่ำกว่าโลหะที่ใช้ทำเทอร์มอคัปเปิลทำสายต่อในวงจร



รูปที่ 17 การต่อวงจรบริดจ์ชดเชยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของรอยต่อเย็น

การวัดอุณหภูมิและการควบคุมความร้อนนิยมใช้เทอร์มอคัปเปิล เพราะมีช่วงอุณหภูมิใช้งานกว้าง มีราคาถูก และมีรูปร่างหลายแบบสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับเครื่องมือประเภทต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี

คุณสมบัติของเทอร์มอคัปเปิลแตกต่างกันตามชนิดของโลหะที่นำมาเชื่อมต่อกันดังแสดงในตารางที่ 1 ชนิด B มีอายุการใช้งานนานและใช้วัดอุณหภูมิที่สูง ชนิด J มีราคาถูกจึงเหมาะสำหรับใช้งานทั่วไป สามารถใช้ในสุญญากาศได้ แต่แก๊สไฮโดรเจนจะทำให้เกิดการเปราะ ชนิด R และชนิด S ใช้งานได้ดีในอุณหภูมิสูง และทนต่อการกัดกร่อนได้ดี ชนิด E ทนต่อการกัดกร่อนจากความชื้นและใช้ในสุญญากาศได้ และยังให้สัญญาณการตอบสนองต่ออุณหภูมิดีมาก (6.317 มิลลิโวลต์ ที่ 100 องศาเซลเซียส) ชนิด K ใช้งานได้ทุกที่ แต่ถ้าใช้ในสุญญากาศหรือมีออกซิเจนต่ำอายุการใช้งานจะลดลง ชนิด T เหมาะสำหรับการใช้ในสุญญากาศและทนต่อการกัดกร่อนจากความชื้น

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของเทอร์โมคัปเปิลชนิดต่าง ๆ

ชนิด	องค์ประกอบ	อุณหภูมิใช้งาน (องศาเซลเซียส)	ความผิดพลาด (องศาเซลเซียส)	สัญญาณไฟฟ้า (รอยต่อเย็น 0 องศาเซลเซียส)
B	Pt : 30% Rh, Pt : 6% Rh	0-1,500	$\pm 3 - \pm 4$	1.241 มิลลิโวลต์ ที่ 50 องศาเซลเซียส
E	Ni-Cr : Constantan (chromel)	-200-850	± 3	6.317 มิลลิโวลต์ ที่ 100 องศาเซลเซียส
J	Iron : Constantan	-200-850	$\pm 1 - \pm 3$	5.268 มิลลิโวลต์ ที่ 100 องศาเซลเซียส
K	NiCr : NiAl (chromel:alumel)	-200-1.100	$\pm 0.7 - \pm 3$	4.095 มิลลิโวลต์ ที่ 100 องศาเซลเซียส
R	Pt : 13% Rh-Pt	0-1,500	$\pm 1 - \pm 2$	4.470 มิลลิโวลต์ ที่ 500 องศาเซลเซียส
S	Pt : 10% Rh-Pt	0-1,500	± 3	4.234 มิลลิโวลต์ ที่ 500 องศาเซลเซียส
T	Cu : Constantan	-250-400	± 1	4.277 มิลลิโวลต์ ที่ 500 องศาเซลเซียส

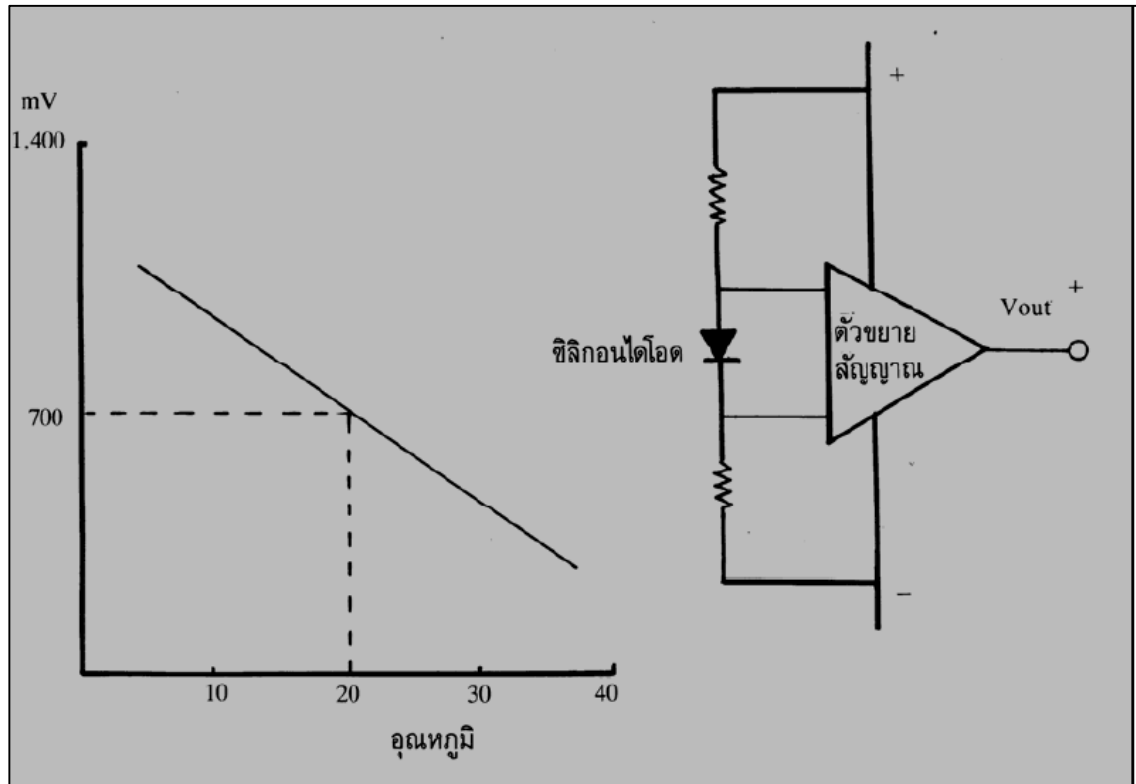
5.2 เทอร์มิสเตอร์ (thermistor) เทอร์มิสเตอร์มาจากคำว่า “Thermal” ซึ่งหมายถึงความร้อนผสมกับคำว่า “resistor” ซึ่งหมายถึงตัวต้านทาน ดังนั้นเทอร์มิสเตอร์จึงหมายถึง สารที่เปลี่ยนแปลงความต้านทานเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงสารเหล่านี้อาจเป็นสารกึ่งตัวนำหรือโลหะผสม

เทอร์มิสเตอร์ มีอยู่ 2 ชนิดคือ ชนิดที่ความต้านทานลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (negative coefficient thermistor) ชนิดที่ความต้านทานเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (positive coefficient thermistor) สำหรับประเภทหลังมักเป็นสารผสมของ Ba, Pb และ strontium titanate แต่ไม่นิยมใช้เทอร์มิสเตอร์แบบแรกเป็นออกไซด์ของเหล็ก แมงกานีส ซิลิเคท โคบอลต์ ทองแดง ไททาเนียม เป็นต้น ออกไซด์เหล่านี้ถูกห่อหุ้มไว้ด้วย อีพอกซี(epoxy) เซรามิก(ceramic) หรือแก้ว เพื่อป้องกันการเสียหายจากการกระแทกหรือถูกกัดกร่อน มีขนาดเล็กตั้งแต่ 1-2.5 มิลลิเมตร จนถึงขนาด 5-25 มิลลิเมตร มีความต้านทานประมาณ 10 กิโลโอห์มที่ 0 องศาเซลเซียส และ 200 โอห์มที่ 100 องศาเซลเซียส

เทอร์มิสเตอร์สามารถใช้งานได้ในช่วง -100 ถึง 300 องศาเซลเซียส โดยไม่จำเป็นต้องใช้เทอร์มิสเตอร์หลายอัน เนื่องจากมีความต้านทานภายในตัวเองสูง ถึงแม้ว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และความต้านทานที่ลดลงจะมีความสัมพันธ์กันแบบเส้นโค้งเอกซ์โพเนนเชียล(exponential curve) ก็ตาม แต่ในช่วงอุณหภูมิที่แคบ ($0-100$ องศาเซลเซียส) สัญญาณไฟฟ้าที่ได้จากเทอร์มิสเตอร์มีความถูกต้องสูงมาก (ผิดพลาดไม่เกิน 0.001 องศาเซลเซียส) เทอร์มิสเตอร์จึงเหมาะสำหรับการใช้งานในช่วงอุณหภูมิไม่สูงมากนัก

5.3 สารกึ่งตัวนำ (semiconductor) ซิลิกอนไดโอด(silicon diode) มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิเป็นเส้นตรงในช่วง -50 ถึง 150 องศาเซลเซียส ให้สัญญาณไฟฟ้าประมาณ 700 มิลลิโวลต์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หรือ -2 มิลลิโวลต์/องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 18 แต่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส

ในระยะหลังได้มีการพัฒนาไอซี ซึ่งรวมเอาทั้งไดโอดและวงจรขยายสัญญาณไว้ด้วยกัน ทำให้สามารถใช้งานได้ในช่วง -50 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า และให้สัญญาณไฟฟ้าที่สูงขึ้นเป็น 10 มิลลิโวลต์ / องศาเซลเซียส และมีความต่างศักย์ไฟฟ้าเป็นศูนย์ที่ -273 องศาเซลเซียส



รูปที่ 18 การตอบสนองและการต่อวงจรเพื่อใช้งานของซิลิกอนไดโอด

5.4 โลหะบริสุทธิ์ มีโลหะบริสุทธิ์หรือเก็บบริสุทธิ์หลายชนิดที่สัมประสิทธิ์ของความต้านทานต่ออุณหภูมิ (temperature coefficient of resistivity) มีค่าคงที่และมีค่าสูง ตัวอย่างเช่น พลาตินัม ($0.03927\% / ^\circ\text{K}$) นิเกิล ($0.0066\% / ^\circ\text{K}$) ทองแดง ($0.00393\% / ^\circ\text{K}$) เงิน ($0.0038\% / ^\circ\text{K}$) และทังสเตน ($0.0045\% / ^\circ\text{K}$) เป็นต้น แต่ชนิดที่นิยมเอามาใช้ควบคุมความร้อนได้แก่ พลาตินัมและนิเกิลเนื่องจากความต้านทานของโลหะแปรผันโดยตรงกับความยาวและอุณหภูมิที่สูงขึ้น แต่แปรผกผันกับพื้นที่หน้าตัดของโลหะ ดังนั้นเมื่อความยาวและพื้นที่หน้าตัดคงที่ ความต้านทานที่เปลี่ยนแปลงจึงสะท้อนให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิทางอ้อม

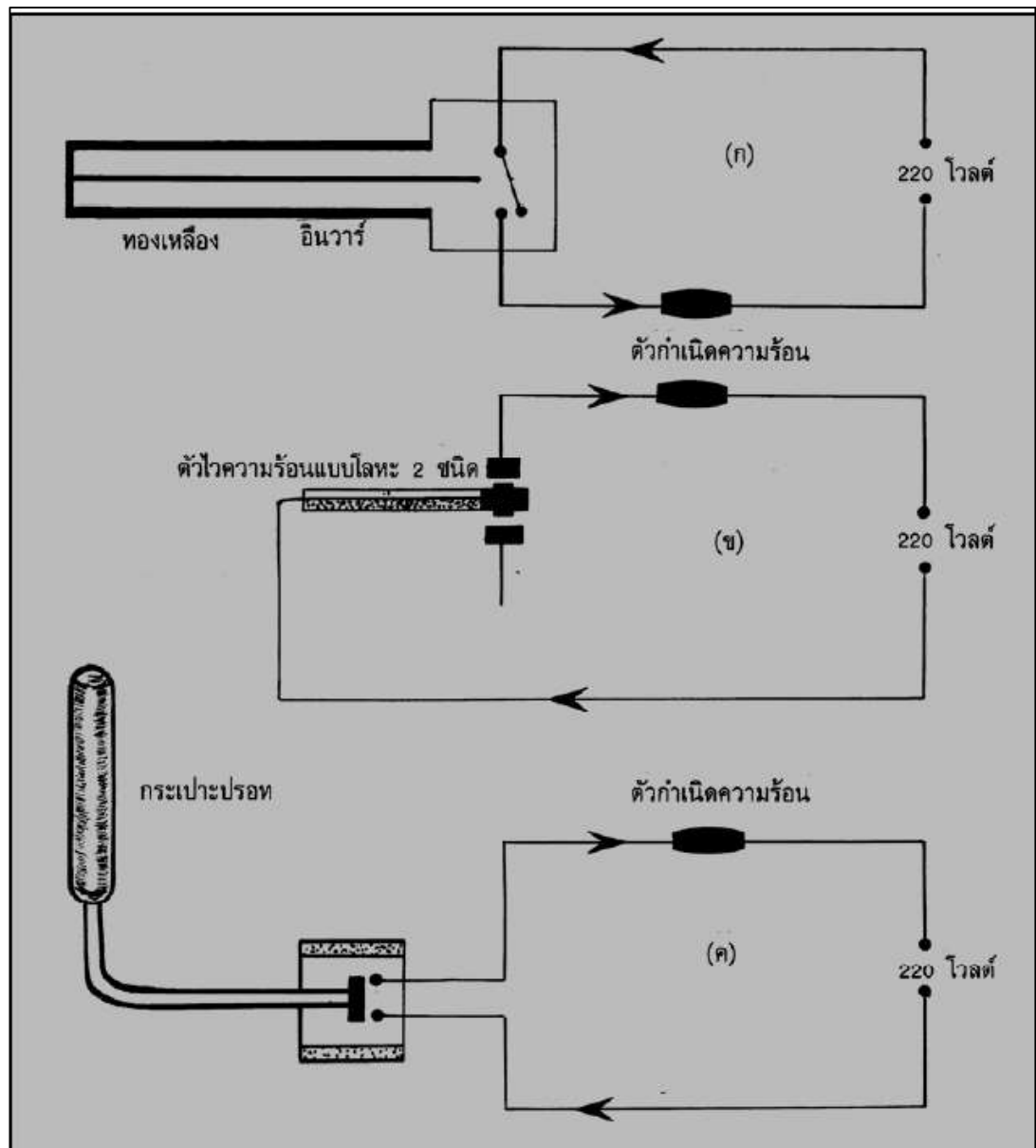
5.4.1 ชนิดพลาตินัม (platinum resistance temperature detector, RTD) สามารถใช้งานได้ในช่วงอุณหภูมิ -200 ถึง 800 องศาเซลเซียส ความต้านทานเพิ่มขึ้นประมาณ 38.5 โอห์มเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 0 องศาเซลเซียส เป็น 100 องศาเซลเซียส ตัวไวความร้อนชนิดนี้มีความแม่นยำในการตรวจวัดอุณหภูมิมาก กล่าวคือมีค่าเปลี่ยนไม่เกิน 0.1 องศาเซลเซียสต่อปี หลังจากการปรับให้ถูกต้องแล้ว มีเสถียรภาพดีที่อุณหภูมิสูง และสามารถลดความยาวของเส้นลวดได้ โดยการเพิ่มจำนวนเส้นลวดพลาตินัมในส่วนที่ใช้วัดความร้อน แต่มีข้อเสียอยู่บ้างตรงที่มีราคาสูงและการตอบสนองต่อความร้อนค่อนข้างช้า

5.4.2 ชนิดนิเกิล มีราคาถูกกว่าชนิดพลาตินัมมาก มีช่วงการใช้งาน -200 ถึง 350 องศาเซลเซียส นิยมใช้งานในเครื่องมือทั่ว ๆ ไปที่ไม่ต้องการความถูกต้องของอุณหภูมิมากนัก ตัวอย่างเช่น เครื่องปรับอากาศ เครื่องทำน้ำร้อน

5.5 การขยายตัวของของแข็ง (solid expansion) ควบคุมความร้อนโดยอาศัยการขยายตัวของของแข็งซึ่งส่วนใหญ่เป็นโลหะ ถูกนำมาใช้ควบคุมอุณหภูมิมาก เพราะมีราคาถูกมาก

และมีความผิดพลาดอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้สำหรับงานทั่ว ๆ ไป ในการประยุกต์ใช้งานอาจพบในรูปแท่งโลหะ (rod sensing probe) ดังแสดงในรูปที่ 19 (ก) ซึ่งประกอบด้วยแท่งโลหะที่ขยายตัวน้อย (ตัวอย่าง เช่น Invar) อยู่ด้านในเพื่อให้เป็นความยาวอ้างอิง ส่วนด้านนอกเป็นโลหะทองเหลืองซึ่งจะหดตัวหรือขยายตัวตามอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง ความยาวของแท่งทองเหลืองจะควบคุมสวิทช์ ซึ่งต่อไปยังภาคจ่ายกระแสไฟฟ้า

ส่วนอีกแบบหนึ่งเป็นแบบแผ่นโลหะ 2 ชนิด (bimetal strip) ที่มีสัมประสิทธิ์การขยายตัวไม่เท่ากันประกบติดกัน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นโลหะจะงอตัวไปทางโลหะด้านที่มีสัมประสิทธิ์การขยายตัวต่ำกว่าดังแสดงในรูปที่ 19 (ข) การโค้งตัวของแผ่นโลหะ ทำให้เกิดการตัดหรือต่อสวิทช์ควบคุมไฟฟ้าเพื่อรักษาอุณหภูมิให้คงที่อยู่เสมอ



รูปที่ 19 ตัวไวความร้อนชนิดอาศัยการขยายตัวของของแข็ง (ก,ข) และอาศัยการขยายตัวของของเหลว (ค)

5.6 การขยายตัวของเหลว (liquid expansion) ของเหลวที่นิยมใช้ได้แก่ปรอท เพราะมีสัมประสิทธิ์ของการขยายตัวสูงมาก อาจพบในรูปของการบรรจุปรอทในท่อโลหะ (ทองแดง เหล็กกล้าไร้สนิม) ที่มีรูขนาดเล็กและสม่ำเสมอ ปลายด้านหนึ่งเป็นกระเปาะใหญ่กว่า อาจทำเป็นรูปตัวยู เป็นแท่งตรง ดังแสดงในรูปที่ 19 (ค) หรือชุดแบบสปริง ปลายอีกด้านหนึ่งต่อกับกลไกซึ่งจะตัดต่อสวิทช์ไฟฟ้าเมื่อปรอทขยายตัวหรือหดตัว

6. ตัวควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller) แบ่งเป็น 2 แบบคือ แบบกล (mechanical type) ที่อาศัยการเคลื่อนที่ของกลไก และแบบอิเล็กทรอนิกส์ (solid state type)

6.1 แบบกล ทำงานโดยการตัด (OFF) หรือต่อ (ON) กระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับตัวกำเนิดความร้อนโดยการเคลื่อนที่ของหน้าสัมผัสของสวิทช์ไฟฟ้าซึ่งถูกควบคุมโดยตัวไวความร้อน แบบกลส่วนใหญ่มีความไวในการควบคุมอุณหภูมิต่ำ จึงเหมาะสำหรับควบคุมอุณหภูมิในเครื่องมือที่ไม่ต้องการความแม่นยำในการควบคุมอุณหภูมิมากนัก

6.2 แบบอิเล็กทรอนิกส์ มีอยู่หลายชนิด ตัวอย่างเช่น

6.2.1 แบบเปิดปิด (ON/OFF) ทำงานโดยการรับสัญญาณจากตัวไวความร้อน แล้วตัดหรือต่อวงจรไฟฟ้าของตัวกำเนิดความร้อนด้วยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์บางชนิด ตัวอย่างเช่น เอสซีอาร์ (SCR) ไตรแอก หรือทรานซิสเตอร์ ฯลฯ ในขณะที่เปิดวงจรไฟฟ้าตัวกำเนิดความร้อนจะดึงกระแสไฟฟ้าอย่างเต็มที่และต่อเนื่องตามวัตต์ของตัวกำเนิดความร้อน ดังนั้นจึงเกิดการกระชากกระแสไฟฟ้ามาก และอุณหภูมิจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงเหมาะสมสำหรับการใช้งานในตู้อบแห้ง

6.2.2 แบบสัดส่วน (proportional control) เป็นตัวควบคุมอุณหภูมิที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความไวสูง และตอบสนองต่อการควบคุมอุณหภูมิได้เร็ว ตัวกำเนิดความร้อนได้รับกระแสไฟฟ้าอย่างเต็มที่หลังจากเปิดวงจรจ่ายกระแสไฟฟ้า แต่เมื่อถึงช่วงแตกต่างแคบ ๆ (ปรับได้ด้วยปุ่มปรับอัตราการขยาย, gain) ระหว่างอุณหภูมิจริงและอุณหภูมิที่กำหนดไว้ กระแสไฟฟ้าจะถูกตัด และถูกควบคุมการจ่ายกระแสไฟฟ้าเป็นช่วง ๆ ของเวลา ซึ่งจะเป็นเวลามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความแตกต่างของช่วงอุณหภูมิดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อให้อุณหภูมิคงที่ ณ อุณหภูมิที่กำหนดไว้ในรูปที่ 20 (ก) เป็นตัวอย่างวงจรควบคุมอุณหภูมิแบบสัดส่วนอย่างง่ายแต่มีประสิทธิภาพดีกล่าวคือผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 1 จากอุณหภูมิที่กำหนดไว้ ถึงแม้ว่ากระแสไฟฟ้าจะมีการเปลี่ยนแปลงถึงร้อยละ 10 แต่การตัดต่อกระแสไฟฟ้าของไตรแอก อาจสร้างคลื่นรบกวนความถี่ต่ำและความถี่ปานกลาง ที่สามารถรบกวนเครื่องมือหรืออุปกรณ์อื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียง



6.2.3 แบบควบคุมเฟส (phase control) ดังแสดงในรูปที่ 20 (ข) เป็น
 วงจรรอง่ายที่ใช้ไตรแอกควบคุม ไตรแอกจะยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านได้ เมื่อขาเกต (gate) ถูก
 กระตุ้นด้วยกระแส ไฟฟ้าที่ผ่านมาจากไดโอด และหยุดนำกระแสไฟฟ้าเมื่อครบครึ่งคลื่น (half cycle)
 ของกระแสที่ขาเกตตัวด้านทานปรับค่าได้ (500 K) มีหน้าที่จำกัดปริมาณกระแสไฟฟ้าที่จะอัด (charge)
 เข้าตัวเก็บประจุ ซึ่งถ้าตัวเก็บประจุมีโวลต์สูงขึ้นถึงประมาณ 30-32 โวลต์ จะกระตุ้นให้ไดโอดทำงานใน
 ระยะสั้น ๆ หลังจากนั้นจึงเริ่มเก็บประจุและกระตุ้นให้ไดโอดทำงานใหม่เรื่อย ๆ ไป ดังนั้นการควบคุม
 ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านตัวกำเนิดความร้อน จึงกระทำได้โดยการปรับความต้านทาน (500 K)
 ส่วน L_1 เป็นโซลส์ (choke) ซึ่งทำหน้าที่ตัดสัญญาณรบกวนเมื่อไตรแอกทำงาน แต่เนื่องจากโวลต์ของ
 กระแสไฟฟ้ามีผลต่อการทำงานของวงจรด้วย ในบางวงจรจึงเพิ่มซีเนอร์ไดโอด (zener diode) เพื่อ
 ควบคุมโวลต์ภายในวงจรให้คงที่

7. ประตูตู้อบ ปกติจะมีประตู 1 บาน แต่ถ้าต้องการรักษาอุณหภูมิภายในให้คงที่มาก ๆ ตัวอย่างเช่น ตู้เพาะเชื้อ อาจมีประตูกระจกชั้นในเพิ่มขึ้นอีก 1 บาน เพื่อให้สามารถมองเห็นวัตถุภายในโดยไม่ต้องเปิดประตูตู้อบบ่อย ๆ

8. ชั้นวาง อาจทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม เหล็กชุบนิเกิล หรือเหล็กชุบพลาสติก แต่ควรเป็นชนิดที่ปรับระดับได้เพื่อความสะดวกในการใช้งาน

9. นาฬิกาตั้งเวลา มีทั้งชนิดที่เดินด้วยลานหรือใช้กระแสไฟฟ้า มีช่วงการตั้งเวลาสูงสุดได้แตกต่างกันตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน

10. สวิตช์ตัดการทำงานเมื่ออุณหภูมิสูงเกิน (overheating cut-off switch) มีความจำเป็นมากเนื่องจากเป็นระบบปลอดภัยเพื่อป้องกันการเกิดอัคคีภัย หรือไฟไหม้วัตถุภายในตู้อบ เพราะระบบควบคุมอุณหภูมิอาจเสียที่เวลาใดเวลาหนึ่งได้เสมอ ปกติจะปรับไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิใช้งาน 5-20 องศาเซลเซียส

11. ช่องดูดอากาศออก พบในตู้อบลมร้อนชนิดใช้สุญญากาศ ช่วยทำให้การระเหยของของเหลวเร็วขึ้น

12. ช่องเติมอากาศ พบในตู้อบชนิดพิเศษบางแบบ อาจเติมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ หรือแก๊สไนโตรเจนเข้าไปในตู้อบ ตามวัตถุประสงค์ของงานนั้น ๆ

13. อุปกรณ์หมุนเวียนอากาศภายใน (stirring device) เป็นพัดลมหมุนเวียนอากาศภายในตู้อบโดยไม่ได้ดูดเอาอากาศภายนอกเข้ามาร่วมหมุนเวียนด้วย พบเฉพาะในตู้อบที่มีขนาดใหญ่มากเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อนของตู้อบดังแสดงในรูปที่ 16 (ง)

ข้อควรปฏิบัติในการใช้ตู้อบลมร้อน

เพื่อยืดอายุการใช้งานตู้อบลมร้อน และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของงาน ผู้ใช้ควรปฏิบัติดังนี้

1. เลือกขนาดตู้อบให้เหมาะสมกับปริมาณวัตถุที่จะนำมาอบ
2. ตั้งตู้อบให้ระดับในที่ที่อากาศถ่ายเทได้ดี ปราศจากฝุ่นละออง และควรห่างจากตู้ทำความเย็น
3. ควรคว่ำภาชนะแก้วหรือพลาสติกให้แห้งจนเหลือน้ำน้อยที่สุดก่อนนำไปอบเพื่อประหยัดพลังงานความร้อน ที่ต้องสูญเสียเพิ่มขึ้นในการทำให้น้ำระเหย
4. หลีกเลี่ยงการอบสารเคมีที่ระเบิดหรือติดไฟได้ง่าย
5. ใช้อุณหภูมิให้เหมาะสมกับวัตถุที่จะนำมาอบ ตัวอย่างเช่น การอบภาชนะพลาสติกธรรมดาไม่ควรใช้อุณหภูมิเกิน 60 องศาเซลเซียส และภาชนะแก้ววัดปริมาตรไม่ควรอบในที่อุณหภูมิเกิน 120 องศาเซลเซียส เป็นต้น
6. ไม่ควรใส่วัตถุวัตถุอบมากเกินไป ในตู้อบลมร้อนที่ใช้ระบบถ่ายเทความร้อนด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก เพราะความร้อนจะกระจายไม่ทั่วถึง
7. ปิดประตูตู้อบให้สนิททุกครั้งก่อนอบวัตถุ
8. ไม่ควรเปิดตู้อบโดยไม่จำเป็น ควรวางแผนล่วงหน้าว่าจะหยิบอะไรหรือใส่อะไรในตู้อบก่อนเปิดประตูตู้อบ
9. สวมถุงมือกันร้อนทุกครั้งที่ยกวัตถุที่ร้อนออกจากตู้อบ

10. ควรฆ่าเชื้อตามพื้น และผนังตู้เพาะเชื้อเสมอๆ

การบำรุงรักษา

ตู้อบลมร้อนเป็นเครื่องมือที่ไม่ต้องการการบำรุงรักษามากนัก แต่ควรทำการบำรุงรักษา
ดังนี้

1. ตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำในการควบคุมอุณหภูมิ ทุก ๆ 6 เดือน
2. ตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบปลอดภัย ทุก ๆ 6 เดือน
3. ตรวจสอบการรั่วไหลของความร้อนที่ยางขอบประตู และผนังตู้อบลมร้อนทุก ๆ ครั้งที่
ใช้งาน
4. ตรวจสอบการขาดหรือการลัดวงจรของแท่งกำเนิดความร้อน หรือลวดกำเนิดความ
ร้อนทุก ๆ เดือน
5. ตรวจสอบความถูกต้องของนาฬิกาตั้งเวลา ทุก ๆ 6 เดือน
6. ตรวจสอบความเร็ว และหล่อลื่นมอเตอร์กระจายความร้อนทุก ๆ 6 เดือน
7. ทำความสะอาดภายนอกและภายในตู้อบด้วยผงซักฟอกอย่างอ่อนเมื่อตู้อบสกปรก
8. หล่อลื่นบานพับและสลักปิดประตูทุก ๆ 6 เดือน
9. ทำความสะอาดแผงวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ทุก ๆ ปี
10. ทำความสะอาดตัวไวความร้อนและตัวกำเนิดความร้อนทุก ๆ ปี

การเลือก

การเลือกซื้อหรือเลือกใช้ตู้อบลมร้อนควรพิจารณาถึงสิ่งต่อไปนี้

1. มีช่วงอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดอยู่ในช่วงที่ต้องการใช้งาน ไม่ควรเลือกตู้อบลมร้อนที่
ควบคุมอุณหภูมิได้ในช่วงสูงมาใช้งานในช่วงอุณหภูมิต่ำ เพราะการควบคุมอุณหภูมิมักจะคลาดเคลื่อน
และยังสิ้นเปลืองกระแสไฟฟ้ามากกว่าปกติ
2. พัฒนาระบายความร้อนในตู้อบควรมีขนาดใหญ่ หรือมีขนาดเล็กแต่มีความเร็วรอบสูง
3. มีความถูกต้องและความแม่นยำในการควบคุมอุณหภูมิเพียงพอ สำหรับงานทาง
ห้องปฏิบัติการแต่ละประเภท
4. มีช่องระบายอากาศที่ปรับขนาดได้ เพื่อช่วยควบคุมการสูญเสียความร้อนให้มี
ประสิทธิภาพมากที่สุด
5. ระบบควบคุมความร้อนควรเป็นแบบอิเล็กทรอนิกส์ หรือมีระบบไมโครโพรเซสเซอร์
ช่วยควบคุม เพราะมีความละเอียดและความแม่นยำในการควบคุมอุณหภูมิดีมาก
6. มีระบบตัดกระแสไฟฟ้าเมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่าอุณหภูมิที่กำหนดไว้มาก
7. มีการสูญเสียความร้อนที่ขอบประตู ผนังตู้อบน้อย
8. ภายในตู้อบควรทำด้วยโลหะไร้สนิมที่ทนความร้อน และทำความสะอาดได้ง่าย
9. ตู้อบขนาดใหญ่ควรมีประตูแยกเป็นหลาย ๆ บาน เพื่อลดการสูญเสียความร้อนขณะ
เปิดประตูตู้อบ
10. พัฒนาระบายความร้อนควรมีเสียดังรบกวนน้อยที่สุด

ปัญหาและสาเหตุ

ปัญหาที่อาจพบได้เมื่อใช้งานตู้อบลมร้อนมีดังแสดงในตารางที่ 2 ตัวอย่างสาเหตุที่กล่าวไว้ เป็นเพียงสิ่งที่อาจเกิดขึ้นได้ ส่วนการหาสาเหตุที่แท้จริงควรคำนึงถึงสาเหตุอื่นที่ไม่ได้กล่าวถึงด้วย

ตารางที่ 2 ปัญหาและสาเหตุที่อาจพบในตู้อบลมร้อน

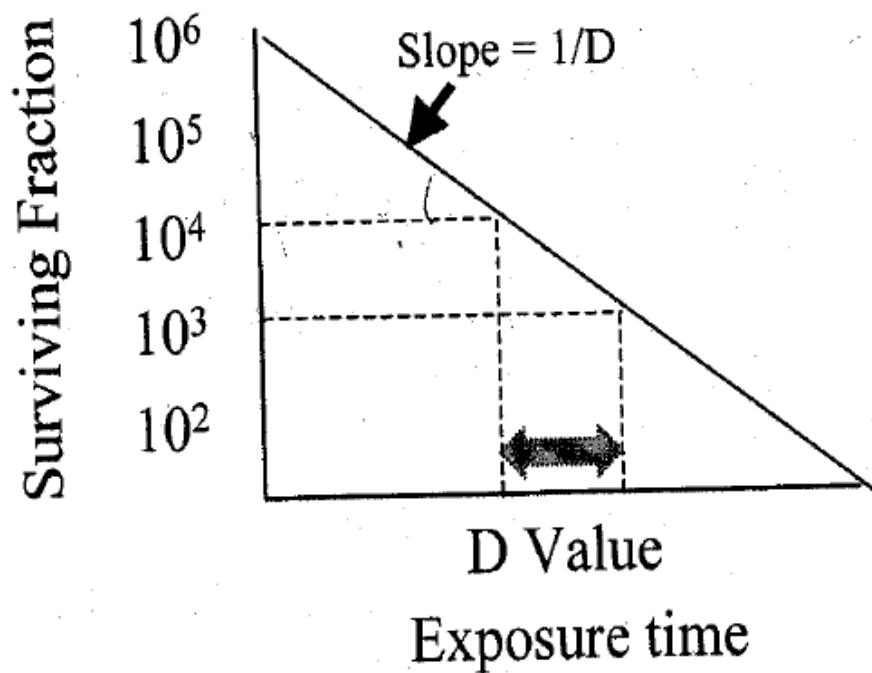
ปัญหา	สาเหตุ
ภายในตู้อบไม่ร้อน	- ไม่ได้เสียบปลั๊กไฟฟ้า - ฟิวส์ขาด - นาฬิกาตั้งเวลาทำงานเสีย - ตัวกำเนิดความร้อนขาด - สวิตช์เปิดปิดกระแสไฟฟ้าเสีย - รีเลย์ป้องกันความร้อนเกินเสีย
ภายในตู้อบมีความร้อนน้อยกว่าปกติ	- ตั้งปุ่มควบคุมอุณหภูมิต่ำเกินไป - ตั้งปุ่มป้องกันอุณหภูมิเกินต่ำกว่าอุณหภูมิของปุ่มควบคุมอุณหภูมิ - ตัวไวนความร้อนเสีย - วงจรควบคุมความร้อนเสีย - มีความร้อนรั่วมากที่ขอบประตูหรือผนังตู้อบ - ตัวกำเนิดความร้อนบางอันขาด - ตัวกำเนิดความร้อนสกปรกมาก
ความร้อนเกิดช้า	- ความร้อนรั่วออกนอกตู้อบมาก - ตัวกำเนิดความร้อนมีวัตต์ต่ำ - โวลต์ของกระแสไฟฟ้าตก - มีน้ำในวัตถุที่นำไปอบมาก - การถ่ายเทความร้อนไม่มี - วงจรควบคุมความร้อนเสีย
ภายในตู้อบมีความร้อนมากกว่าปกติ	- ตัวไวนความร้อนเสีย - วงจรควบคุมความร้อนเสีย - ตัวไวนความร้อนสกปรกมาก
ตัวกำเนิดความร้อนมีความร้อนตลอดเวลา	- ตัวกำเนิดความร้อนต่อกราวด์ - สวิตช์ไฟฟ้าเสีย - นาฬิกาตั้งเวลาทำงานเสีย - รีเลย์เสีย

จากคุณลักษณะที่ค่อนข้างทนทาน แข็งแรงของตู้อบลมร้อนทั่ว ๆ ไป จึงไม่ค่อยพบว่าตู้อบลมร้อนชำรุดเสียหายบ่อยนัก เว้นแต่ตู้อบลมร้อนจะขาดการบำรุงรักษาหรือใช้งานไม่ถูกต้องอยู่เสมอๆ ปัญหาที่พบบ่อยคือ เกิดความเสียหายแก่วัตถุที่นำไปใส่ในตู้อบลมร้อน เพราะผู้ใช้ใช้อุณหภูมิสูงเกินกว่าที่วัตถุนั้น ๆ จะทนได้ ผู้ใช้วางวัตถุแน่นและชิดกันเกินไปทำให้การกระจายความร้อนไม่ทั่วถึงเปิดประตูตู้อบบ่อยเกินไปทำให้อุณหภูมิภายในไม่คงที่ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสิ่งที่ผู้ใช้ควรให้ความสำคัญอยู่เสมอในขณะที่ใช้ตู้อบลมร้อน

2.3.3 กระบวนการทำลายจุลินทรีย์ (Process of microbial destruction) [12, 16, 27, 30, 34, 48, 52, 60-62]

การทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนหรือสารเคมี หรือรังสีนั้น เมื่อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ได้รับความร้อนหรือสารเคมีหรือรังสีในระดับที่เพียงพอ จุลินทรีย์เหล่านั้นจะถูกทำลายหรือตายไป โดยมีความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์และเวลาที่ใช้ในกระบวนการปัจจัยที่สำคัญของการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนได้แก่ อุณหภูมิ เวลา จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ และกระบวนการการวัดประสิทธิภาพหรือความสามารถของกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ โดยการใช้ค่าต่างๆเหล่านี้ประกอบด้วย

2.3.3.1 D Value (Decimal Reduction) หมายถึงเวลาเป็นนาทีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งเฉพาะได้ 90 เปอร์เซ็นต์ของประชากรของเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆหรือ 1 log cycle ณ อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่งดังแสดงในรูปที่ 21 [44-45]

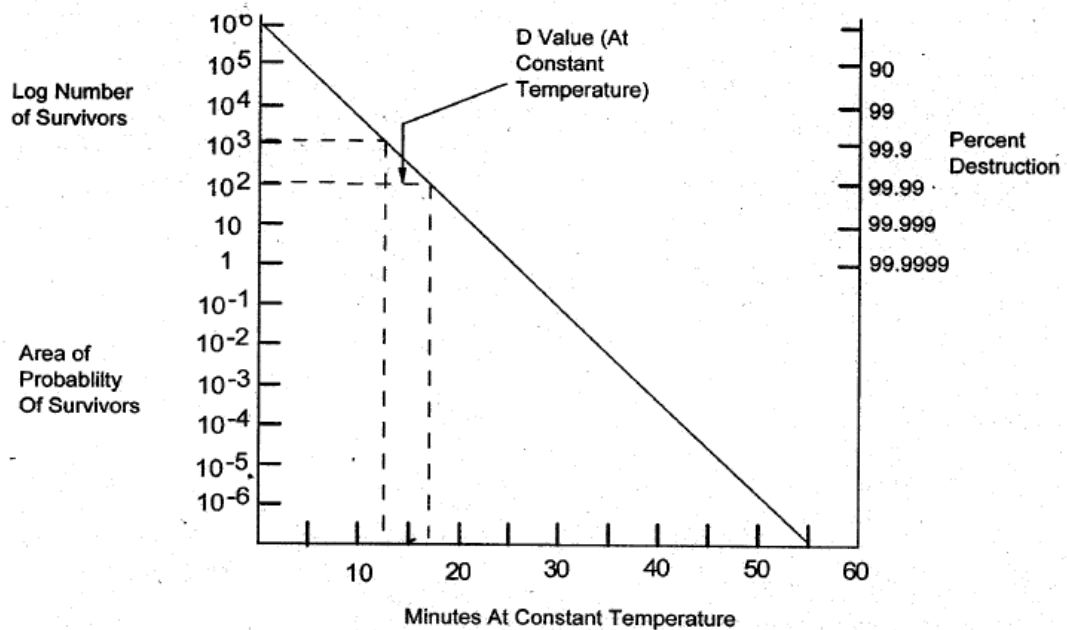


รูปที่ 21 D Value

ค่า D Value แปรผันตามชนิดของจุลินทรีย์, การเก็บรักษาจุลินทรีย์, สภาวะการบ่งเพาะเชื้อ, อุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อชนิดของน้ำยาหรือผลิตภัณฑ์, ระยะเวลาการเก็บหลังจากการฆ่าเชื้อ, ความอึดตัวของไอน้ำและภาชนะบรรจุหรือวัสดุหีบห่อ

การคำนวณค่า D Value (D Value Determination) มี 2 วิธีดังนี้

1) The Survival Curve Method วิธีนี้เป็นการหาค่าเชิงปริมาณ (quantitative method) เป็นการทำลายจุลินทรีย์บางส่วนที่ใส่ลงไป และนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตเหลืออยู่ (survival) ดังแสดงในรูปที่ 22



รูปที่ 22 Hypothetical Survival Curve at Constant Temperature

2) **Fraction Negative Method** มี 2 วิธี คือ Spearman-Kärber Method ใช้หาค่า mean time of survival และ Stumbo - Murphy Cochran Method ใช้หา Most Probable Number (MPN)

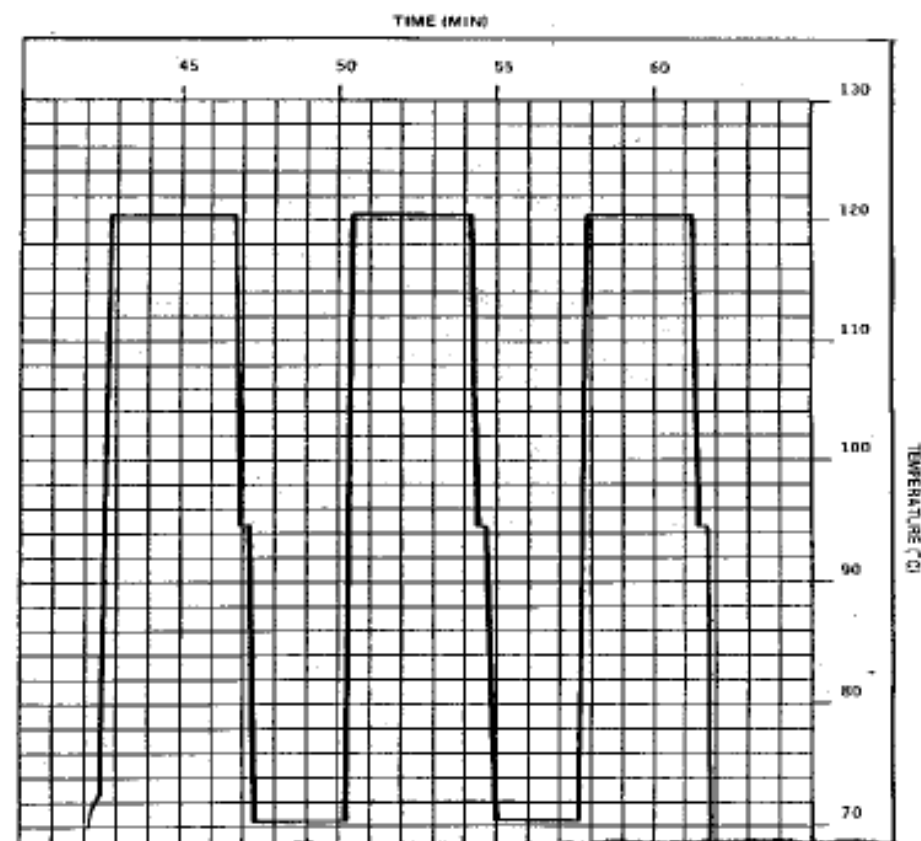
อุปกรณ์ที่ใช้ในการหา D Value ประกอบด้วย

- 1) กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดู Spore forming bacteria
- 2) Biological Indicator Evaluator Resistometer (BIER) ดังแสดงในรูปที่ 23 เป็น autoclave เล็กๆ ช่วงเวลาที่อุณหภูมิขึ้น (heat up) และลดลง (cool down) ใช้เวลาเป็นวินาทีเท่านั้น เวลาและอุณหภูมิมีความเที่ยงตรงสูงมาก ซึ่ง BIER เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองหา D Value และ Z Value ที่ดีที่สุด temperature chart เป็น square wave ดังแสดงในรูปที่ 24

- 3) oil bath ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้เที่ยงตรงและแม่นยำ แทน BIER ได้

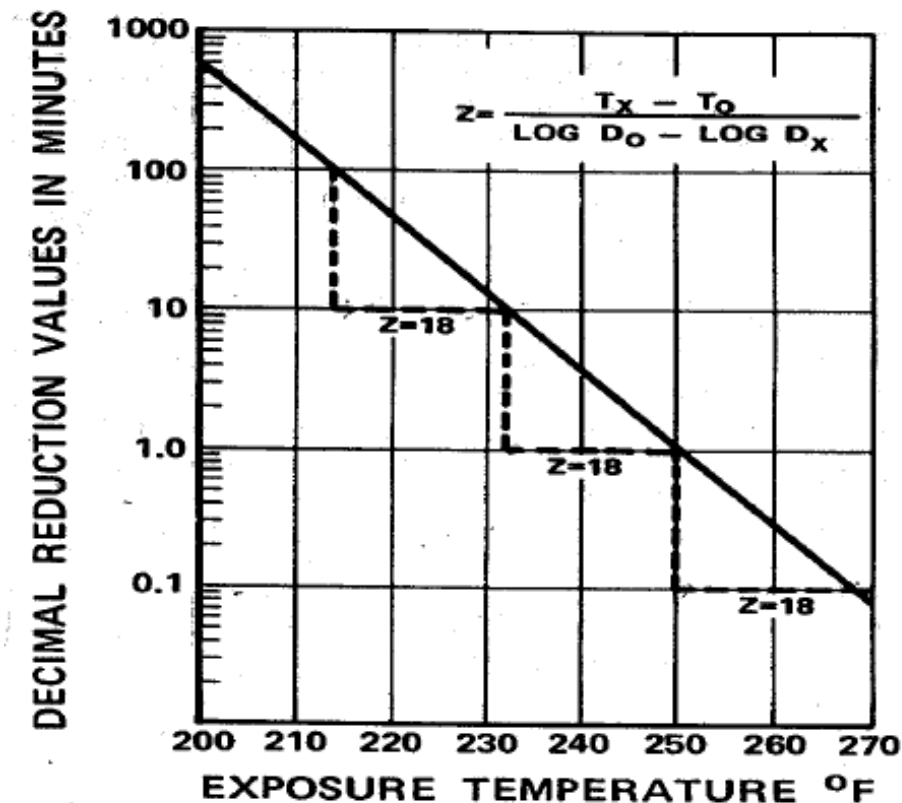


រូបទី 23 BIER VESSELS



រូបទី 24 Temperature chart for BIER / steam vessel

2.3.3.2 Z Value (Temperature Coefficient) ได้มีการทดลองพบว่าความทนทานต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จะเปลี่ยนไปเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ อัตราการเปลี่ยนแปลงของการฆ่าเชื้อเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ คือค่า Z Value ซึ่งหมายถึงจำนวนองศาของอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปแล้วทำให้ D value มีค่าเปลี่ยนไป 10 เท่า ดังแสดงในรูปที่ 25 Z Value เป็นค่าเฉพาะของจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่ง ในกรณีที่ไม่มีข้อมูลการหา Z Value โดยทั่วไปสำหรับ steam sterilization Z Value มีค่าเท่ากับ 10 องศาเซลเซียส (18 °F) และสำหรับ dry heat sterilization Z Value มีค่าเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส [44-45]



รูปที่ 25 Z Value

D_o = D value at initial temperature T_o

D_x = D value at the subsequent temperature T_x

2.3.3.3 Lethal rate หรือ Instantaneous F_o หมายถึงเวลาเทียบเท่าของประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ณ อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง กับอุณหภูมิ (T) Lethal Rate (L) มีสูตรคำนวณดังนี้

$$L = 10^{(T_o - T_b) / Z}$$

T_o = อุณหภูมิภายในวัสดุที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

T_b = อุณหภูมิที่อ้างอิง (Reference temperature)

Z = Z Value ของจุลินทรีย์ที่ใช้

2.3.3.4 F_o Value (accumulated F_o) เป็นการวัดประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนขึ้น หมายถึงจำนวนเวลาทั้งหมดของรอบการทำให้ปราศจากเชื้อ (sterilization cycle) เป็นนาฬิกาที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้นที่

อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสโดยมีค่า Z Value เท่ากับ 10 องศาเซลเซียส เช่น F_0 value เท่ากับ 8 หมายความว่า ประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิหนึ่งอุณหภูมิใดมีประสิทธิภาพเทียบเท่าการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเท่ากับ 8 นาที (รวมเวลา heat up และ cool down) โดยมี Z Value เท่ากับ 10 องศาเซลเซียส

2.3.3.5 F_H Value เป็นการวัดประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแห้ง หมายถึง จำนวนเวลาเป็นนาทีของการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง (Dry heat sterilization) มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส โดยมี Z Value เท่ากับ 20 องศาเซลเซียส

2.3.4 การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนชื้นหรือไอน้ำ (Steam Sterilization or Moist Heat Sterilization) [12, 16-21, 24, 27, 30, 34, 48, 52, 60-62]

การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนชื้นหรือไอน้ำเป็นการทำลายโปรตีน (denature protein) ของเซลล์ วิธีนี้มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด รวมทั้ง spore ที่มีความต้านทานสูง (high resistant spores) ภายใน 15 นาที ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psig

2.3.4.1 Sterilization cycle เป็นการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนชื้นหรือไอน้ำ โดยการจะเลือกใช้วิธีการทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์วิธีไหนขึ้นกับการความคงทนต่อความร้อนของวัสดุหรือผลิตภัณฑ์ที่จะทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ การไม่เสื่อมสลายของวัสดุหรือผลิตภัณฑ์ นั้นๆ รวมทั้งจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ก่อนฆ่าเชื้อ และทุกวิธีที่ใช้จะต้องบรรลุความปราศจากเชื้อให้ได้ Sterility Assurance Level ไม่น้อยกว่า 6 log reduction สามารถจำแนก sterilization cycle ตามหลักการของความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดังนี้

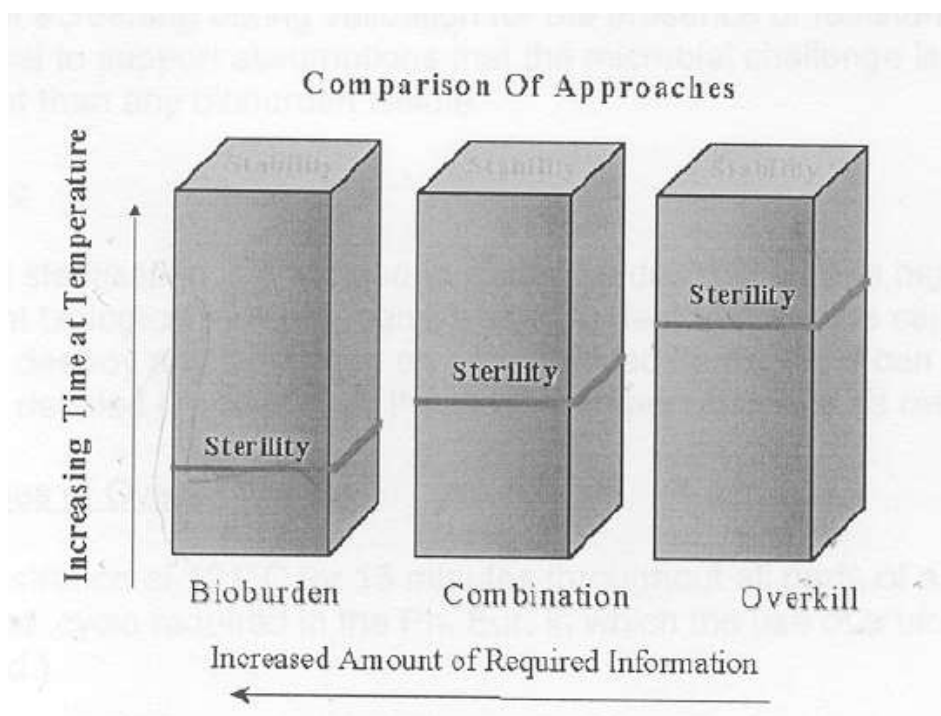
1) **Overkill Sterilization** เป็นวิธีการทำลาย biological indicator ที่ทนความร้อนสูงมากและปริมาณมาก เพื่อแสดงให้เห็นว่ากระบวนการที่ใช้สามารถทำลาย bioburden ทุกชนิดใน load ได้ โดยไม่ต้องรู้จำนวนและการทนความร้อน (heat resistance) ของ bioburden วัตถุประสงค์ของ overkill cycle เป็นการประกันระดับความปราศจากเชื้อ (Sterility Assurance Level, SAL) โดยไม่คำนึงถึงการทนความร้อนและจำนวนของ bioburden ใน load ด้วยการทำลายจุลินทรีย์ที่มี D-value อย่างน้อย 1 นาทีที่ 121°C ได้ไม่ต่ำกว่า 12 log reduction จุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูงมากเท่านั้นที่มี D_{121} มากกว่า 0.5 1 นาที หรือ Cycle ที่ทำลายจำนวน 10^6 spores *Bacillus stearothermophilus* วิธีนี้ไม่ได้กำหนดให้หา bioburden แต่จะเป็นการควบคุม bioburden และสภาพแวดล้อมเนื่องจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบอาจทำให้เกิด endotoxin ได้ โดยการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนชื้นหรือไอน้ำไม่สามารถจะกำจัด endotoxin ได้

2) **Bioburden / Bioindicator (Combination) Sterilization** เป็นการทำลาย Biological indicator ที่ D Value มีค่าสูงกว่า bioburden ในผลิตภัณฑ์โดยตรวจสอบความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ (microbial challenge) ของ Bioburden และ Bioindicator ร่วมกัน ซึ่งหลังจากเสร็จสิ้นการทำ ให้ปราศจากเชื้อแล้วสามารถที่จะให้ความปราศจากเชื้อในระดับ SAL 10^{-6} โดยการคำนวณจาก bioburden ในผลิตภัณฑ์และบางส่วนที่ยังมีชีวิต (partial survive) ของ

biological indicator วิธีนี้จะต้องมีความรู้เกี่ยวกับการทนความร้อนของ bioburden และ Biological indicator อย่างดี และมีความรู้เกี่ยวกับการควบคุมจำนวน bioburden

3) **Bioburden Sterilization** เป็นวิธีทำลายแบบ worst case ของ spore ที่ทนความร้อนสูงสุด (most heat resistant microorganisms) ที่เตรียมจาก bioburden ในผลิตภัณฑ์ เพื่อแสดงว่ากระบวนการที่ใช้เชื่อถือในความสามารถทำลาย bioburden ที่มีในผลิตภัณฑ์นั้นๆ ซึ่งวิธีการนี้จะบรรลุผลได้จะต้องรู้จำนวนและความทนความร้อน ของ bioburden อย่างดี

การทำให้ปราศจากเชื้อทั้ง 3 วิธีนี้ให้ความปราศจากเชื้อได้ในระดับเดียวกันดังแสดงใน **รูปที่ 26** จะพบว่า Bioburden Sterilization ต้องมีข้อมูลมาก เช่น จำนวนและชนิดของ bioburden คุณสมบัติของสารและการควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เข้มงวด การมีข้อมูลมากทำให้มีความเชื่อมั่นในการทำให้ปราศจากเชื้อได้ แม้จะใช้ความร้อนน้อยกว่าแต่เวลามากกว่าวิธีอื่นและส่งผลให้การคงสภาพ (stability) ของยาได้ดีกว่า



รูปที่ 26 การเปรียบเทียบวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อ

วิธี bioburden sterilization นี้เหมาะที่สุดกับการทำให้ปราศจากเชื้อของยาที่อยู่ในภาชนะบรรจุ (terminal sterilization) วิธี Overkill ใช้ข้อมูลน้อยกว่า อาจเก็บช่วงเริ่มต้นหรือเป็นระยะ และต้องใช้ความร้อนสูงทำให้เกิดการเสื่อมสลายของยาได้ ส่วนวิธี bioburden / biological indicator (BB/BI) หรืออาจเรียกวิธี combination ก็ได้ อยู่ระหว่างกลางของอีก 2 วิธี การจะใช้วิธีใดขึ้นอยู่กับ การคงทนต่อความร้อนและการพิจารณาเลือกจาก cycle development และ validation

Sterilization cycle ที่กำหนดตาม Pharmacopoeia ซึ่งแบ่งตามมาตรฐานของ USP และ BP ได้ดังนี้

- 1) BP 2013

- Steam sterilization of terminal sterilization the reference condition for aqueous preparations is heating at a minimum of 121 °C for 15 minutes.

- F_0 concept โดยใช้อุณหภูมิและเวลาร่วมกันในสภาวะที่ทำให้บรรลุผล Sterility Assurance Level (SAL) 10^{-6} หรือมากกว่า

2) USP 36

- กำหนด sterilization cycle โดยใช้ Sterility Assurance Level (SAL) 10^{-6}

2.3.4.2 Sterilization Cycle Development เป็นกระบวนการหาคุณสมบัติทางกายภาพของ sterilization cycle ที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อของผลิตภัณฑ์ ส่วนประกอบและ/หรืออุปกรณ์ ในรูปแบบการจัดเรียงที่กำหนด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์ว่าผลิตภัณฑ์และ/หรือวัสดุ มีคุณสมบัติความปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ พร้อมทั้งคงสภาพการใช้งานได้ตามปกติในช่วงการยอมรับของสภาวะการทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์นั้น ๆ โดยมีเกณฑ์การยอมรับของความปราศจากเชื้อจุลินทรีย์คือ Sterility Assurance Level (SAL) 10^{-6} จะต้องให้ได้ Probability of Non Survival Unit (PNSU) น้อยกว่า 1 ในล้านหน่วย วัตถุประสงค์หลักของ sterilization cycle development คือเพื่อหาค่าตัวแปรที่เหมาะสม (optimal sterilization parameter) ในกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ช่วงเวลาที่ทำให้ปราศจากเชื้อ (exposure time), ค่า F_0 , และอุณหภูมิที่ใช้ เป็นต้น มาตรฐาน USP และ BP ได้กำหนดให้ sterilization cycle เป็น overkill สำหรับสารที่ทนความร้อนสูง โดยไม่กระทบต่อความเสื่อมสลาย (degradation) ของสารนั้น และสามารถรักษาความคงสภาพ (stability) ของสารนั้นได้ตลอดจนถึงวันสิ้นอายุ สำหรับสารที่เสื่อมสภาพเมื่อถูกความร้อนสูง (Heat labile products) ใช้วิธี overkill ไม่ได้ ต้องพัฒนา sterilization cycle ที่เหมาะสมโดยพิจารณาจาก bioburden โดยการทำให้ปราศจากเชื่อนั้นจะต้องบรรลุ Sterility Assurance Level (SAL) ได้หรือมากกว่า 10^{-6} Sterilization cycle ที่ดีจะต้องให้ Sterility Assurance Level ที่เหมาะสมถูกต้อง ขณะเดียวกันก็มิผลกระทบต่อการเสื่อมสลายของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด Cycle development จะต้องทำก่อนทดสอบความถูกต้อง (validation testing) ซึ่งถือเป็นส่วนหนึ่งของ pre-validation program

การพิจารณาการทำ Sterilization Cycle development ขึ้นกับรายละเอียดดังนี้

- 1) คุณสมบัติการทนต่อความร้อนของผลิตภัณฑ์ (Heat stability of the product)
- 2) ชนิดของภาชนะบรรจุ จุกยางและฝาปิด (Type of primary container and closure)
- 3) ประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อจากการซึมผ่านของความร้อนที่เข้าไปในผลิตภัณฑ์ (Heat penetration)
- 4) ชนิดของ Autoclave (Autoclave technology)
- 5) การทนความร้อนของจุลินทรีย์ (Heat resistant microorganism) จุลินทรีย์ที่มี spore เท่านั้นที่ทนความร้อนได้สูงซึ่งต้องหา D-Value และสามารถใช้เป็น biological indicator ได้ พวกที่ไม่มี spore สามารถแยกออกได้ด้วยการทำ heat shock
- 6) จำนวนของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในวัสดุหรือผลิตภัณฑ์ก่อนฆ่าเชื้อ

ค่าตัวแปรสำคัญได้แก่ เวลา อุณหภูมิ และการทนความร้อนของจุลินทรีย์ (resistance of microorganism) จะต้องศึกษาในสภาวะ worst case ซึ่งเป็นหลักการที่ใช้กันมากที่สุด ในการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการ (process validation) เช่น กระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อที่

sterilization cycle ปกติ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที การตรวจสอบความถูกต้องในสภาวะ Worst case ที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที

Cycle development จะต้องข้อมูลของ bioburden เพียงพอและกำหนดจำนวนใน action level เพื่อใช้ในการคำนวณ หา Sterility Assurance Level (SAL)

ขั้นตอนการทำ Cycle Development [44-45]

- 1) ตรวจสอบ bioburden ในผลิตภัณฑ์ ภาชนะบรรจุ จำนวนจุลินทรีย์ในสภาวะแวดล้อมและสาธารณสุขโลก
- 2) Bioburden และจุลินทรีย์ที่ได้ในขั้นตอนที่ 1 นำมาคัดแยกหาจุลินทรีย์ที่ทนความร้อน (screen for heat resistance) ด้วยการทำ heat shock 80 - 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 - 15 นาที
- 3) คำนวณ DT Value ของ สปอร์จุลินทรีย์ที่ได้ในขั้นตอนที่ 2 แยกเก็บข้อมูลและเก็บสปอร์นั้นๆไว้
- 4) เก็บเฉพาะสปอร์จุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูงสุด (most heat resistant microorganism) หมายถึงจุลินทรีย์ที่มี D Value สูงสุด ในขั้นตอนที่ 3 เพื่อใช้เป็น biological indicator (BI)
- 5) การยืนยันและตรวจสอบ D Value ด้วยการหา Spore Log Reduction (SLR) ที่ได้ในขั้นตอนที่ 4

$$SLR = \log A - \log B$$

A = number of spores/unit x number of unit

B = number of survivors

- 6) หา lethality rate (L) ของ (D_T) เทียบกับ D_{121}
- 7) คำนวณหาค่า F_0 ต่ำสุดที่ต้องใช้ในกระบวนการ (Determination of Minimum Required F_0 Value) จากค่า D Value ที่ได้ขั้นตอนที่ 5 นำ มาหา minimum F_0 โดยให้ได้ SAL 10^{-6}
- 8) คำนวณหาเวลาของกระบวนการ (Determination of Process Time)
- 9) ทดสอบ biological challenge ใน validation testing โดยใช้ spore suspension ของ most heat resistant microorganism) ที่ได้จากขั้นตอนที่ 4 เป็น biological indicator (BI)

2.3.4.3 Validation program of steam sterilization ได้กำหนดขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ [31-32, 37, 40, 46, 49, 54]

1) The installation qualification stage เป็นขั้นตอนแรกของการติดตั้งเครื่องจักร เพื่อตรวจสอบว่าอุปกรณ์ควบคุมและเครื่องมือได้ออกแบบถูกต้องตามกำหนดและผ่านการสอบเทียบ (calibrate) พร้อมทั้งคุณภาพของระบบสาธารณสุขโลก (utility) ที่ต้องการเช่น ไอน้ำ, น้ำและอากาศ โดยจะต้องบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษร

2) The operational qualification stage เพื่อเป็นการยืนยันว่าการทำ งานของ autoclave ขณะ empty chamber มีอุณหภูมิ ที่ตำแหน่งต่างๆ เป็นไปตามกำหนดใน protocol ด้วยการใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (multiple temperature sensing device) และบันทึกเป็นลายลักษณ์

อักษร (heat profile records) โดยมีเกณฑ์การยอมรับคือ อุณหภูมิ ± 1.0 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 121 องศาเซลเซียส (Acceptance range of temperature in empty chamber is when the chamber temperature is not less than 121°C)

3) The confirmatory stage ขั้นตอนนี้ทำในขณะปฏิบัติงานจริงมีผลิตภัณฑ์เรียงในรูปแบบที่กำหนด โดยใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ สอดเข้าไปตัวอย่าง พร้อมกับทดสอบการทำลายจุลินทรีย์ (microbial challenge) โดยใช้ Biological indicator การทดลองนี้เป็นการหา lethality of sterilization process โดยใช้ปัจจัยหลัก 2 อย่างคือ ประสิทธิภาพของความร้อนที่เข้าไปในผลิตภัณฑ์ (heat penetration) และเวลาที่ใช้

4) The final stage ขั้นตอนนี้เป็นการจัดทำเอกสารที่จะต้องใช้ในการสนับสนุนข้อมูลที่ได้ในการทำ validation

2.3.4.4. การทดสอบความถูกต้อง (Validation testing) [28, 35-36, 38-39]

1) การจัดเตรียม (Preparing for validation)

1.1) จัดทำ Validation protocol ประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ขอบเขต ผู้รับผิดชอบ การตรวจสอบเกณฑ์การยอมรับเอกสารอ้างอิง ผู้จัดทำ ผู้มีอำนาจลงนาม

1.2) จัดเตรียมเครื่องมือวัดอุณหภูมิที่ผ่านการสอบเทียบ (calibration) และเครื่องบันทึกอุณหภูมิ เครื่องมือวัดอุณหภูมิที่ใช้ในการทำ validation มี 2 ชนิด คือ

1.2.1) Cable System เป็นระบบหลาย probe เชื่อมต่อกับเครื่องวัด เป็น การอ่านข้อมูลและแสดงให้เห็น ณ เวลานั้นๆ (real time) ระบบนี้ประกอบด้วย

- Probes เป็นสายเชื่อมต่อกับ Thermocouple การนำความร้อน (thermal conductivity) ของสายเชื่อมทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวัดอุณหภูมิได้ การสอบเทียบควรต้องกำหนดช่วงแคบ

- Electronics Thermocouple ส่ง Voltage signal ไปยัง Amplifier อุณหภูมิอาจจะไม่คงที่เนื่องจากรอยเชื่อม (cold junction) ซึ่งสามารถชดเชยได้โดยการสอบเทียบ ณ จุดใช้งานและปรับก่อนการทดสอบทุกครั้ง

- Calibration ในการใช้ Thermocouple จะต้องทำ การสอบเทียบ ก่อนและหลังการทดสอบทุกครั้ง

1.2.2) Wireless Loggers เป็นระบบไร้สายโดยมี probe เป็นอิสระต่อกัน แต่ละ probe มีการเก็บข้อมูลในตัวมันเอง ข้อมูลจะอ่านได้เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการ ระบบนี้ประกอบด้วย

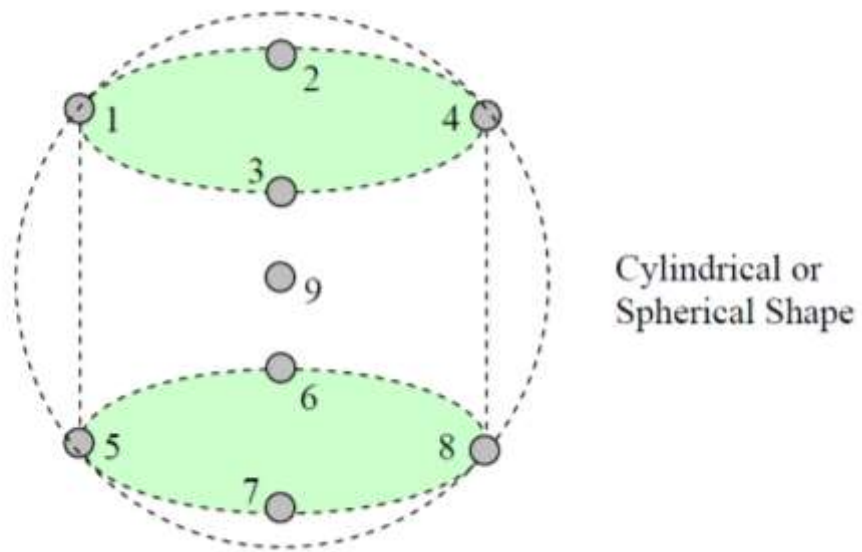
- Probes เป็น Resistance Thermometer Detector (RTD) ห่อหุ้มในหลอดเพื่อความไวในการอ่านและคงที่ที่ดีที่สุด

- Measuring electronics แต่ละ Logger มีตัววัดในตัวเอง

- High performance battery วัดอุณหภูมิได้สูงถึง 140 องศาเซลเซียส

- Calibration ทำการสอบเทียบเป็นระยะๆ และสอบเทียบในช่วงการทำงานจริง

รูปที่ 27 การวางเครื่องมือวัดอุณหภูมิ ตามตำแหน่งต่างๆใน chamber ที่มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยม



รูปที่ 28 การวางเครื่องมือวัดอุณหภูมิ ตามตำแหน่งต่างๆใน chamber รูปทรงกระบอก

- ดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อ (sterilization) ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที หรือ cycle ที่ใช้ในการผลิตปกติ

- หลังเสร็จสิ้นการทำให้ปราศจากเชื้อ ตรวจสอบผลที่ได้เพื่อหาอุณหภูมิสูงสุดต่ำสุด และค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลา

- การแปรผลจากอุณหภูมิที่ได้เทียบกับเกณฑ์การยอมรับ
- ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งตามขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้น

เกณฑ์การยอมรับ (Acceptance criteria)

- ค่าเบี่ยงเบนในแต่ละช่วงเวลา ± 1 องศาเซลเซียส จากค่าเฉลี่ย
- USP 36: Acceptance range in temperature in the empty chamber is when the unit is operating at not less than 121°C

2.2) Load Chamber Temperature Distribution เพื่อศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิที่มีผลกระทบจากรูปแบบการเรียง (load pattern) และจำนวนของที่เข้า autoclave จะต้องศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิ ในแต่ละ autoclave ที่ maximum and minimum load ของแต่ละรูปแบบการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ (configuration) อย่างน้อย 1 ครั้ง ใช้ probes อย่างน้อย 9 probes วางตำแหน่งต่างๆ (ไม่ได้สอดเข้าไปในผลิตภัณฑ์) ของ chamber และทดลองขณะปฏิบัติงานปกติ ซึ่งมีวิธีการปฏิบัติโดยใส่ของที่ sterile ในรูปแบบตามปกติใน autoclave และวาง probes ตามตำแหน่งต่างๆ ทดลองเหมือน empty chamber

3) Heat penetration studies เป็นการศึกษาและประกันว่าผลิตภัณฑ์ตรงตำแหน่งที่ได้รับความร้อนน้อยสุด (the coolest item) ใน load pattern และได้รับความร้อนเพียงพอที่ทำให้ปราศจากเชื้อ (sterile) และตำแหน่งที่ได้รับความร้อนสูงสุด (hot point) ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสลาย (product degradation) โดยปกติทดลองพร้อมกับ microbial challenge studies โดยการทำ minimum and maximum load

Minimum load size ถือเป็น worst case ของการทำลายจุลินทรีย์ (biological challenge) เนื่องจากใช้เวลาน้อยในการ heats up และ cool down maximum load ถือเป็น worst case ของเสื่อมสลายของผลิตภัณฑ์ (product degradation) เนื่องจากอาจได้รับความร้อนมากเกินไป

ก่อนทำ Heat penetration จะต้องหาจุดที่ความร้อนเข้าถึงสูงสุดในน้ำยาที่บรรจุในภาชนะ โดยเฉพาะ Large Volume Parenteral (LVP) ด้วยการทำ container mapping

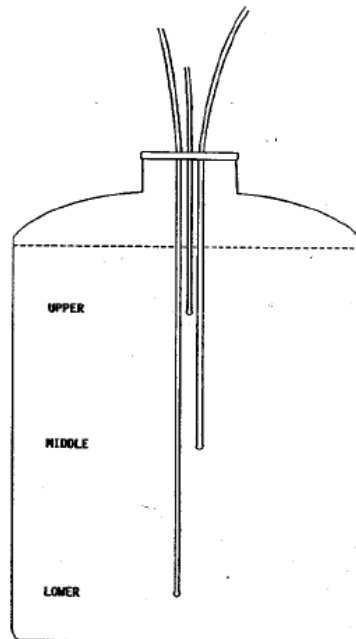
Container Mapping--- Container cool point เป็นการศึกษาหาจุดที่น้ำยาในภาชนะบรรจุได้รับความร้อนต่ำสุด (cool point) เป็นตำแหน่งที่ใช้วัดอุณหภูมิในการทำ Heat penetration

วิธีการทำ container mapping ทำได้ 3 วิธีดังนี้

3.1) ใช้ เครื่องมือวัดอุณหภูมิ 3 ชุด เสียบเข้าไปในภาชนะบรรจุเดียวกันตำแหน่งบน กลาง ล่าง ตามรูปที่ 29 เข้า sterile เพื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิหาอุณหภูมิต่ำสุด

3.2) ใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ 3 ชุด เสียบเข้าไปในภาชนะบรรจุ 3 ชุด ตำแหน่ง บน กลาง ล่าง ในแต่ละขวดเข้า sterile แล้วเปรียบเทียบแต่ละขวดหาอุณหภูมิต่ำสุด วิธีนี้จะได้ค่าที่แม่นยำ น้อยกว่าวิธีแรก

3.3) ตำแหน่งตรงกลางระหว่างระดับน้ำยาและก้นขวด



รูปที่ 29 Container mapping

4) Microbial Challenge Studies เป็นการศึกษาความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ ภายใต้สภาวะที่กำหนดโดยใช้ Biological Indicators (BI) ซึ่งเป็นตัวแทนของสปอร์จุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูง เพื่อทดสอบความสามารถว่าทำลายสปอร์จุลินทรีย์ได้กี่ Log ทำการทดลองพร้อมกับ Load chamber heat penetration การศึกษา Microbial challenge ไม่ได้ดูผลจากการทำ Sterility test

4.1) Biological Indicators for Sterilization มี 3 ชนิด แต่ละชนิดจะต้องรู้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ (species microorganisms) และจำนวนของจุลินทรีย์ ดังนี้

- spores are add to a carrier (a disk or strip of filter paper , glass, plastic, or other materials)
- spore suspension
- self-contained indicator

Biological indicator ชนิดต่างๆ ที่ซื้อมาใช้ (commercial product) จะต้องทำ performance evaluation ในฐานะ User's Responsibility (USP 36<1035>) และ ทำ Resistance Performance Test (USP 36 < 55>) เพื่อตรวจสอบ D Value

Biological indicator ที่เตรียมได้จากการ cycle development เป็น noncommercial product ใน กรณี นี้ จะ ต้อง ทำ Performance evaluation ในฐานะ Manufacturing's Responsibility (USP 36 <1035>)

Biological indicators for steam sterilization ตามมาตรฐาน USP คือ *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Clostridium sporogenes*

4.2) Heat Penetration and Microbial Challenge Studies

4.2.1) กำหนดการจัดเรียงยา (load configuration) ที่ sterile ตามปกติ

4.2.2) ใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิที่ผ่านการสอบเทียบอย่างน้อย 9 จุด สอดเข้าไปในน้ำยาให้ probes อยู่ตำแหน่งกลางระหว่างระดับน้ำยาและกันขวดหรือจากการทำ container mapping

4.2.3) วางขวดยาที่สอด probes ตามข้อ 4.2.2) ตรงตำแหน่ง load cold point

4.2.4) ใช้ Biological Indicator (BI) ตามประเภทของ sterilization cycle ใส่ในขวดน้ำยาหรือ placebo กรณีที่น้ำยามี preservative หรือ anti - microbial agent และเก็บ BI ไว้ 1 หลอดเพื่อเป็น positive control ข้อควรระวัง การใส่ BI ชนิด self-contained หรือ carrier ใน น้ำยาไม่ควรให้ BI สัมผัสโดยตรงกับภาชนะบรรจุ เนื่องจาก BI ได้รับความร้อนก่อนน้ำยา

4.2.5) วางขวดที่ใส่ BI (inoculated container) จากข้อ 4.2.4) ตรงตำแหน่งติดกับขวดที่สอด probes

4.2.6) ดำเนินการ sterilization ตาม cycle ปกติที่ใช้ในการผลิต

4.2.7) หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการทำ ให้ปราศจากเชื้อ นำขวดที่ใส่ BI ออกมาทำให้เย็นทันที และนำขวดน้ำยาที่อยู่ติดกับขวดใส่ BI เป็น negative control

4.2.8) ขวดที่ใส่ BI ไปเพาะเชื้อ หา Spore Log Reduction (SLR)

$$SLR = \text{Log A} - \text{Log B}$$

A = number of spore per unit x number of units

B = number of survivors

4.2.9) ตรวจสอบผลจาก บันทึกลง เพื่อหา minimum F_0 ที่ ความร้อนเข้าไป ในผลิตภัณฑ์ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4.3) BI ตามประเภท cycle

4.3.1) Overkill Approach : *B.stearothermophilus*

4.3.2) Combination Approach : *B. stearothermophilus*, *B. subtilis*, *C. sporogenes*, *B. coagulans*

4.3.3) Bioburden Approach : Most resistant bioburden isolate (BB)

4.4) เกณฑ์การยอมรับ

4.4.1) Overkill Approach

- Heat Penetration: Minimum $F_0 = 12$ นาที
- Microbial Challenge: BI จะถูกทำลายทั้งหมดเมื่อ minimum SAL 10^{-6}

4.4.2) Combination Approach

- Heat Penetration: minimum F_0 ไม่น้อยกว่าที่กำหนดใน cycle development
- Microbial Challenge: Spore Log Reduction (SLR) ที่ ให้ minimum SAL = 10^{-6}
- BI อาจมีบางส่วนที่มีชีวิตเจริญเติบโตได้
- BB ถูกทำลายหมด

4.4.3) Bioburden Approach

- Heat Penetration: minimum F_0 ไม่น้อยกว่าที่กำหนดใน cycle development
- Microbial Challenge: Spore Log Reduction (SLR) ที่ ให้ minimum SAL = 10^{-6}
- BB ถูกทำลายหมด

5) การสุ่มตัวอย่างเพื่อทดสอบ เป็นการตรวจสอบความปราศจากเชื้อ (Sterility test) โดยเก็บตัวอย่างจากตำแหน่งที่อุณหภูมิต่ำสุด (load cold point) ที่ทำ heat penetration การตรวจสอบความคงสภาพ (Stability test) และการตรวจวิเคราะห์ด้านเคมีและกายภาพเก็บตัวอย่างจากตำแหน่งที่อุณหภูมิสูงสุด (load heat point)

6) การสรุปผลการตรวจสอบความถูกต้อง (Summary of validation) รวบรวม บันทึกทั้งหมดจากการทำ validation protocol, validation testing และ cycle development พร้อมข้อมูลสนับสนุน (data sheet) และสภาวะควบคุมต่างๆ เช่น time, temperature, F_0 , bioburden การอนุมัติผ่านหรือไม่ผ่านและรับทราบผลจากผู้เกี่ยวข้อง

2.3.4.5 การตรวจสอบติดตามอย่างต่อเนื่อง (Ongoing Monitoring) สภาวะที่ใช้ทำ validation เช่น ค่าอุณหภูมิ ความดัน เวลา F_0 , bioburden, environmental control, load

configuration จะต้องคงสภาพไว้และมีการตรวจสอบ รวมทั้งเก็บบันทึกตลอดทุก cycle บันทึกจำนวน bioburden และจุลินทรีย์ในสภาวะแวดล้อม เก็บเป็นประวัติเพื่อกำหนด Alert level และ Action level และควรปรับปรุงค่าที่กำหนดเป็นระยะหรือทุกปี เพื่อแสดงถึงกระบวนการที่ได้ปรับปรุงดีขึ้นหรือใช้เทคโนโลยีใหม่

2.3.4.6 การตรวจสอบความถูกต้องซ้ำ (Revalidation) ทำการตรวจสอบซ้ำปีละครั้ง เพื่อยืนยันการทำงาน ที่ถูกต้องของ autoclave โดยการทำ Performance Qualification ด้วยการทดลอง heat penetration และ microbial challenge อย่างน้อย 1 ครั้ง ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงระบบการควบคุม กระบวนการผลิต หรือเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อคุณภาพ จะต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องและได้รับการอนุมัติ

2.3.4.7 การควบคุมการเปลี่ยนแปลง (Change Control) การเปลี่ยนแปลงระบบของ autoclave ต้องมีฝ่ายวิศวกรรมผลิตและประกันคุณภาพร่วมพิจารณาถึงผลกระทบต่อคุณภาพของกระบวนการการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับ autoclave chamber รูปแบบการจัดเรียงของผลิตภัณฑ์ ระบบสาธารณูปโภค และระบบควบคุมการทำงาน ของ autoclave จะต้องทดลองทำ temperature distribution และ heat penetration ควรมีมาตรฐานสำหรับวิธีการปฏิบัติ (Standard Operating Procedure, SOP) ของการควบคุมการเปลี่ยนแปลง (change control) โดยมีรายละเอียดดังนี้

- 1) วัตถุประสงค์ของการเปลี่ยนแปลง
- 2) เหตุผลในการเปลี่ยนแปลง
- 3) วิธีการทดสอบและ ตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการทำให้ปราศจากเชื้อหลังจากการเปลี่ยนแปลง
- 4) เอกสารที่เกี่ยวข้องที่มีผลกระทบได้รับการแก้ไขหลังจากมีการเปลี่ยนแปลง
- 5) เอกสารสนับสนุนการทดสอบ Equipment Qualification (EQ)

2.3.4.8 การบำรุงรักษา (Preventive Maintenance, PM) Autoclave เหมือนเครื่องจักรอื่นๆที่สำคัญ ซึ่งจำเป็นต้องทำการบำรุงรักษา เพื่อให้ส่วนประกอบที่สำคัญเช่น ประเก็น (gasket) วาล์ว ข้อต่อ ท่อและหัวฉีด (nozzle) อยู่ในสภาพการใช้งานสมบูรณ์ โดยมี SOP กำหนดและระบุส่วนที่ต้อง ทำ PM ให้ชัดเจนพร้อมทั้งความถี่ในการตรวจสอบซึ่งขึ้นกับประวัติการใช้งาน พร้อมบันทึกส่วนที่ทำ PM และการแก้ไขปัญหา

2.3.5 การทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง (Dry Heat Sterilization) [12, 16, 27, 30, 34, 48, 52, 60-62]

ตู้อบ (Hot air oven) เป็นเครื่องมือสำหรับฆ่าเชื้ออุปกรณ์หรือภาชนะบรรจุสำหรับการเตรียมยาปราศจากเชื้อ โดยใช้ความร้อนแห้งในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ตัวเครื่องจะต้องมีระบบกรองอากาศ อุปกรณ์ควบคุมเวลาและอุณหภูมิ

วัตถุประสงค์ของการใช้ความร้อนแห้งในการทำลายเชื้อ

2.3.5.1 การทำให้ปราศจากเชื้อ (Sterilization) จุดประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ ความร้อนที่ใช้สูงกว่าความร้อนขึ้น และใช้เวลานานกว่า

2.3.5.2 การทำให้ปราศจากเชื้อและปราศจากไพโรเจน (Sterilization and Depyrogenatio) จุดประสงค์เพื่อทำลายไพโรเจนหรือ endotoxins แต่ความร้อนที่ใช้สูงกว่าในการ

sterilization ดังนั้นในกระบวนการทำลายไฟโรเจน ก็จะบรรลุวัตถุประสงค์ของการปราศจากเชื้อด้วยการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง เพราะความร้อนขึ้นไม่ได้เป็นการทำลายไฟโรเจน ปัจจัยสำคัญในการทำให้ปราศจากเชื้อและปราศจากไฟโรเจน คือ เวลาและอุณหภูมิ หลักการในการฆ่าเชื้อต้องคำนึงถึงเวลาและอุณหภูมิ เหมือนกับการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนขึ้น

2.3.5.3 Sterilization cycle มี 2 cycles ดังนี้

1) **Overkill approach** หลักการใช้ความร้อนสูงในการทำลายสปอร์ *Bacillus subtilis var niger* โดยไม่ได้คำนึงถึง bioburden ใน ผลิตภัณฑ์

2) **Validated SAL 10⁻⁶ cycle** หลักการเหมือน steam sterilization ใช้ F_H แทน F_0

3) สถานะการทำให้ปราศจากเชื้อตามเภสัชตำรับ :

3.1) BP 2013

- minimum of 160 °C at least 2 hours
- SAL 10⁻⁶ or better

3.2) Remington

- 160 °C 120 to 180 minutes
- 170 °C 90 to 120 minutes
- 180°C 45 to 60 minutes

4) สถานะการทำให้ปราศจากไฟโรเจน:

4.1) BP 2013

- greater than 220 °C 3 log reduction in heat resistance endotoxin

4.2) Remington

- 230 °C 60 to 90 นาที
- 250 °C 30 to 60 นาที

2.3.5.4 Cycle Development มีหลักการและขั้นตอนการทำเหมือน steam sterilization และ Operating parameter ต้องมีการกำหนดระหว่าง cycle development รวมทั้งการศึกษา bioburden, pyroburden biochallenges, heat temperature setting, cycle time, F_H value, penetration temperature profile เพื่อหา minimum F_H ที่จะบรรลุ SAL 10⁻⁶

2.3.5.5 Depyrogenation Cycle กำหนดจากการทำลายไฟโรเจน โดยขึ้นกับ pyroburden ไม่ได้ขึ้นกับ bioburden Cycle development จะต้องศึกษา endotoxin challenge ด้วย *Escherichia coli* โดยการวางที่ตำแหน่ง coldest point ใน load (หลักการเหมือนทำ bioindicator challenge in steam sterilization) endotoxin challenge ขึ้น กับ pyroburden กรณีที่เป็น depyrogenation cycle ไม่ต้องทำ bioindicator challenge ด้วย *Bacillus subtilis*

2.3.5.6 การทดสอบความถูกต้อง (Validation Testing)

1) **การจัดเตรียม (Preparing for Validation)** จัดทำ Validation Protocol และสอบเทียบอุปกรณ์ที่ใช้วัดอุณหภูมิ

2) **Heat distribution studies** เป็นการศึกษา Empty Chamber Heat Distribution และ Load Chamber Heat Distribution โดยมีหลักการและวิธีทำเหมือนกับการทดสอบของ Autoclave ใช้อุปกรณ์วัดอุณหภูมิวางตำแหน่งต่างๆ อย่างน้อย 9 ตำแหน่ง ใน hot air oven เพื่อศึกษาการกระจายความร้อนได้ทั่วถึงทุกจุด โดยการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง มี Acceptable range in temperature in the empty chamber is $\pm 15^{\circ}\text{C}$ when the unit is operating at not less than 250°C (USP 36)

3) **Heat penetration studies** หลักการและวิธีทดสอบเหมือนกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้น ทำ load chamber heat distribution ใช้ อุปกรณ์วัดอุณหภูมิสอดเข้าไปใน ผลิตภัณฑ์ ที่ตำแหน่งเป็น cold point เพื่อหา minimum F_H หรือ อุณหภูมิต่ำสุด ที่ซึมผ่านเข้าไปในผลิตภัณฑ์ การทำ heat penetration ปกติทำ 3 ครั้ง

4) **Microbial Challenge Studies** เพื่อศึกษาประสิทธิผลของการทำลายจุลินทรีย์ โดยใช้ *Bacillus subtilis* เป็น Biological indicator หรือใช้ spore of most resistant microorganism ที่ได้จาก bioburden ในการทำ cycle development ใส่ในผลิตภัณฑ์ ที่ตำแหน่ง cold point ซึ่งศึกษาจากการทำ heat penetration กรณีที่เป็น sterilization and depyrogenation cycle ความร้อนที่ใช้สูงมากไม่ต้องทำ biochallenge ทำเฉพาะ endotoxin reduction Spore Log Reduction (SLR) = F_{170}/D_{170}

5) **Endotoxin reduction** เพื่อศึกษาประสิทธิผลในการทำลาย endotoxin โดยใช้ *Escherichia coli* endotoxin 100 to 10,000 นาโนกรัม (500 to 50,000 endotoxin unit)

6) **การสรุปผลการตรวจสอบความถูกต้อง** สรุปรายงานการทำ cycle development, validation testing, data, monitoring and operating parameter

2.3.5.7 การตรวจสอบติดตามอย่างต่อเนื่อง/การตรวจสอบความถูกต้องซ้ำ/การควบคุมการเปลี่ยนแปลง (Ongoing Monitoring / Revalidation / Change control)

สถานะควบคุมเช่น clean room, bioburden, pyroburden และ operating parameter หลังจาก validation จะต้องติดตามตรวจสอบตลอดทุก cycle การตรวจสอบความถูกต้องซ้ำ (Revalidation) จะต้องทำ การตรวจสอบความถูกต้องปีละครั้ง กรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิต อุปกรณ์ หรือ software ที่มีผลกระทบต่อความปลอดภัย คุณภาพของผลิตภัณฑ์ จะต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องซ้ำ การเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อคุณภาพจะต้องจัดทำมาตรฐานสำหรับวิธีการปฏิบัติโดยระบุสาเหตุวิธีการโดยใช้หลักการเดียวกับการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้น