



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว)

ปริญญา

เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การลดการปนเปื้อนของ *Escherichia coli* และแบคทีเรีย Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง
เพื่อการส่งออก

The Reduction of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria Contamination in
Asparagus Destined for Export

นามผู้วิจัย นางสาวพนิดา ภัควันต์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์จิ่งแท้ ศิริพานิช, Ph.D.)

กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์, Dr.Ing.)

กรรมการ
(อาจารย์รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล, Dr.Ag.Sc.)

ประธานสาขาวิชา
(ศาสตราจารย์สายชล เกตุษา, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 16 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การลดการปนเปื้อนของ *Escherichia coli* และ แบคทีเรีย Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง
เพื่อการส่งออก

The Reduction of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria Contamination in Asparagus Destined
for Export

โดย

นางสาวพนิดา ภัควันต์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว)
พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1584-1

พินิตา ภัควันต์ 2549: การลดการปนเปื้อนของ *Escherichia coli* และแบคทีเรีย Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยี หลังการเก็บเกี่ยว) สาขาเทคโนโลยี หลังการเก็บเกี่ยว โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประชานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์จรัสแท้ ศิริพานิช, Ph.D. 92 หน้า ISBN 974-16-1584-1

การศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ Coliform ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก ตั้งแต่แปลงปลูกของเกษตรกร จุดผู้รวบรวมผลผลิต จนถึงผู้ส่งออก ในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว โดยสำรวจการปนเปื้อนในอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลง พบว่าหมีวพลาสดักปนเปื้อนมากที่สุดโดยพบ Coliform ประมาณ $6 \log_{10}\text{cfu}$ และพบ *E. coli* ในช่วง $5.2 - 6 \log_{10}\text{cfu}$ และรองลงมาคือตะกร้าโดยพบ Coliform ประมาณ $5.9 \log_{10}\text{cfu}$ และพบ *E. coli* ในช่วง $0.4 - 5.1 \log_{10}\text{cfu}$ ขณะที่น้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งพบ Coliform เพียง $0.8 - 4.4 \log_{10}\text{cfu} / 100 \text{ ml}$. และแทบจะไม่พบ *E. coli* ทั้งนี้พบการปนเปื้อนมากที่สุดในฤดูหนาว การตรวจหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างน้ำและไม่ผ่านการล้างน้ำที่แปลงเกษตรกรพบการปนเปื้อนไม่แตกต่างกันโดยพบ Coliform $4.2 - 4.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ และ *E. coli* ผันแปรมากตั้งแต่ $0 - 4.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ และมีการปนเปื้อนในฤดูร้อนมากที่สุด ขณะที่ฤดูหนาวพบน้อยที่สุด การศึกษา ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต พบว่าการนำหน่อไม้ฝรั่งมาล้างน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งนาน 5 นาที ลด Coliform ได้ $0.6 - 1.8 \log_{10}\text{cfu/g}$ ในฤดูฝนและหนาว แต่ในฤดูร้อนกลับทำให้มีการปนเปื้อนมากขึ้น สำหรับ *E. coli* ลดได้ประมาณ $0.3 \log_{10}\text{cfu/g}$ แต่ในฤดูหนาวไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* การศึกษาประสิทธิภาพของการล้าง ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออก พบว่าการล้างด้วยน้ำคลอรีน $200 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที ลด Coliform ได้ $0.2 - 0.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ แต่ในฤดูฝนไม่พบ *E. coli* ปนเปื้อนทั้งก่อนล้างและหลังล้างน้ำคลอรีน ส่วนในฤดูหนาวและฤดูร้อนการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนอาจทำให้มีการปนเปื้อนมากขึ้น ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออกอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ แต่การลดการปนเปื้อนให้ต่ำลงยังทำได้ไม่สม่ำเสมอ และควรมีการควบคุมการทำความสะอาดตั้งแต่ระดับแปลง โดยต้องนำระบบ GAP มาประยุกต์ใช้ในแปลงและนำหลักการ HACCP มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว

พินิตา ภัควันต์

ลายมือชื่อนิติ



ลายมือชื่อประธานกรรมการ

๕๕ / ๑๔๔ / ๔๑

Panida Phakkhawan 2006: The Reduction of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria Contamination in Asparagus Destined for Export. Master of Science (Postharvest Technology), Major Field: Postharvest Technology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Jingtair Siriphanich, Ph.D. 92 pages. ISBN 974-16-1584-1

The contaminations of *Escherichia coli* (*E. coli*) and Coliform bacteria in asparagus destined for export were studied during crop processing, specifically at the farm production level, supplier's packaging warehouse and exporter's factory. The study was carried out during the rainy, dry and hot season. At the farm level, contamination of utensils and cleaning water was analyzed, particularly in 1) the plastic cap used for shoot tip coverage; 2) the basket for collecting asparagus; and 3) the cleaning water. The result showed that the highest contamination of Coliform and *E. coli* was found in the plastic cap used for shoot tip coverage, at about $6 \log_{10}\text{cfu}$ and $5.2 - 6 \log_{10}\text{cfu}$, respectively. The second highest contamination of Coliform and *E. coli* was found in the collecting basket at about $5.9 \log_{10}\text{cfu}$ and $0.4 - 5.1 \log_{10}\text{cfu}$, respectively. The lowest contamination of Coliform and *E. coli* was found in the cleaning water at a range of $0.8 - 4.4 \log_{10}\text{cfu}/100 \text{ ml}$ and $0.11 \log_{10}\text{cfu}/100 \text{ ml}$, respectively. It is noteworthy that *E. coli* contamination was found to be highest during the dry season. Washing asparagus with tap water did not result in lower contamination. Coliform and *E. coli* were found at a range of $4.2 - 4.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ and $0 - 4.9 \log_{10}\text{cfu/g}$, respectively. Further study at the supplier's packaging warehouse showed that a washing treatment with a chlorine solution at $100 \mu\text{l l}^{-1}$ for 5 minutes was able to reduce Coliform and *E. coli* contaminations at a range of $0.6 - 1.8$ and $0.3 \log_{10}\text{cfu/g}$, respectively. *E. coli* was not found during the dry season. However, results from the study during the hot season showed that a washing treatment with a chlorine solution increased the contamination of Coliform. At the exporter factory, washing with a $200 \mu\text{l l}^{-1}$ chlorine solution for 10 minutes decreased Coliform contamination a range of $0.2 - 0.9 \log_{10}\text{cfu/g}$. However, during the dry and hot seasons washing could increase contamination. The results of all experiments showed that contamination of Coliform and *E. Coli* were at acceptable levels. However, the procedure to reduce contamination was not very effective. The GAP and HACCP should be adopted during the production and postharvest processes, respectively.

Panida Phakkhawan

Student's signature

J. Siriphanich

Thesis Advisor's signature

Apr 24, 06

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อไพศาล คุณแม่สมทรง ภัควันต์ ผู้ซึ่งคอยสนับสนุน ให้โอกาส และเป็นกำลังใจที่สำคัญให้กับข้าพเจ้าตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ จริงแท้ ศิริพานิช ที่คอยช่วยเหลือให้คำปรึกษาในเรื่องงานวิจัย การศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์ กรรมการวิชาเอกอาจารย์ รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล กรรมการวิชาการ และ อาจารย์ วิชชุพร จันทรศรี ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์และสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บริษัท กำแพงแสน คอมเมอร์เชียล จำกัด และคุณไพรัช จันทรอ่อน ที่ให้ความเอื้อเฟื้อและช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดีทุกครั้งที่เข้าไปปฏิบัติงานจนทำให้งานวิจัยชิ้นนี้ประสบความสำเร็จได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คุณเกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ และคุณสุทิน พรหมโชติ สำหรับความช่วยเหลือทั้งกำลังใจและกำลังใจ ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ชาวพีชสวนทุกคนที่ไม่สามารถกล่าวถึงได้ทั้งหมดในที่นี้

ประโยชน์อันพึงเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ และคณาจารย์ทุกท่านที่คอยอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

พนิดา ภัควันต์

พฤษภาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	4
หลักการระบบ HACCP	7
ความสำคัญของการตรวจจุลินทรีย์ในอาหาร	26
อุปกรณ์และวิธีการ	31
อุปกรณ์	31
วิธีการ	31
สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง	37
ผลและวิจารณ์	38
สรุปผลการทดลอง	75
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	77
ภาคผนวก	83
ภาคผนวก ก	84
ภาคผนวก ข	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ข้อกำหนดวิธีปฏิบัติ และเกณฑ์ที่กำหนด ตามระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งระดับ เกษตรกร	15
2 ชนิดของอันตรายและแหล่งที่มาของการปนเปื้อนผลผลิต	18
3 การปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ <i>E. coli</i> ในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูก 3 ฤดู	41
4. ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ <i>E. coli</i> ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลง เกษตรกรใน 3 ฤดู	47
5 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ <i>E. coli</i> ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัด ผู้รวบรวมผลผลิตใน 3 ฤดู	53
6 การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ณ โรงคัดผู้รวบรวม ผลผลิต	56
7 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ <i>E. coli</i> ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัด บรรจุผู้ส่งออกใน 3 ฤดู	63
8 เปรียบเทียบการล้างกับปริมาณ Coliform และ <i>E. coli</i> ณ ระดับแปลงเกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิตและโรงคัดผู้ส่งออกทั้ง 3 ฤดู	66
9 เปรียบเทียบปริมาณ Coliform และ <i>E. coli</i> ทั้ง 3 แปลง ใน 3 ฤดู ณ ระดับแปลง เกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิต ผู้ส่งออก	67
10 การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP) ณ โรงคัดผู้ส่งออก	70
11 การกำหนดมาตรการแก้ไขสำหรับขั้นตอนที่เป็น CCP ของกระบวนการผลิต หน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด	74

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision Tree) ของโลเค็กซ์เพื่อใช้ในการระบุขั้นตอนของกระบวนการผลิตที่จัดเป็นจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม	11
2	แผนภูมิการสุ่มตัวอย่าง	36
3	แผนภูมิการผลิต ณ การบรรจุที่ระดับแปลงเกษตรกร	44
4	แผนภูมิการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง ณ ระดับผู้รวบรวมผลผลิต	50
5	แผนภูมิการผลิตหน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด	60

การลดการปนเปื้อนของ *Escherichia coli* และ แบคทีเรีย Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อการส่งออก

The Reduction of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria Contamination in Asparagus Destined for Export

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชผักที่มีความสำคัญและถูกจัดอยู่ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ประเทศไทยได้ส่งออกหน่อไม้ฝรั่งไปต่างประเทศในปี 2544 รวมทั้งสิ้น 7,428 เมตริกตัน เป็นมูลค่า 478.29 ล้านบาท (ฝ่ายพืชผัก กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) โดยตลาดต่างประเทศที่สำคัญคือญี่ปุ่นในปี 2544 มีการส่งออกจำนวน 2,294 เมตริกตัน เป็นมูลค่า 299.92 ล้านบาท ส่วนประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ในปีเดียวกัน มีการส่งออกจำนวน 43 เมตริกตัน เป็นมูลค่า 6.99 ล้านบาท ซึ่งมีแนวโน้มการส่งออกสูงขึ้นจากปี 2543 และ 2542 ตามลำดับ (กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) ประเทศในตลาดแถบนี้จะเน้นความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก และมีมาตรฐานสุขอนามัยที่เข้มงวด ผู้ประกอบการจึงต้องสร้างความเชื่อมั่น ในคุณภาพและมาตรฐานของสินค้าเป็นสำคัญ

ในปัจจุบัน ความปลอดภัยทางด้านอาหาร (Food Safety) มีความสำคัญมากในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ประกอบการด้านอาหารที่ส่งสินค้าไปจำหน่ายในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งผู้ประกอบการต้องยกระดับคุณภาพในการผลิตอาหารให้ปลอดภัย เพื่อเป็นหลักประกันให้กับผู้บริโภค ทั้งนี้เพื่อสร้างความได้เปรียบให้ประเทศคู่ค้ายอมรับผลิตภัณฑ์ ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP) เป็นเครื่องมือในการชี้เฉพาะเจาะจง ประเมินและควบคุมอันตรายที่มีโอกาสเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหาร ระบบนี้ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางจากนานาประเทศถึงประสิทธิภาพการประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้บริโภค เป็นระบบหนึ่งที่สามารถยกระดับมาตรฐานสินค้าให้ประเทศคู่ค้ายอมรับได้

ในภาคการเกษตรด้านการผลิตผัก ผลไม้ ก็มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการผลิตผัก ผลไม้ ให้มีความปลอดภัย ตั้งแต่ขั้นตอนการจัดการฟาร์ม ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการช่วยลดการปนเปื้อนของ

เชื้อจุลินทรีย์และสารพิษตกค้าง และต่อมาคือขั้นตอนระหว่างหรือหลังการเก็บเกี่ยว หลังจากนั้นเป็นขั้นตอนของผู้ประกอบการสินค้าเกษตร ประกอบด้วยขั้นตอนย่อยๆ ที่สำคัญคือขั้นตอนการล้าง เพราะเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคในผักผลไม้ได้และยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร (Simons and Sangugnsri, 1997) แต่การแช่ผัก ผลไม้ในน้ำผสมสารเคมีจะช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยเฉพาะที่ก่อให้เกิดโรคเนื่องจากการบริโภคอาหาร สารเคมีที่ใช้กันส่วนใหญ่ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Beuchat *et al.*, 1998; Zhang and Farber, 1996; Wei *et al.*, 1995; Park *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตาม หากจุลินทรีย์สามารถอยู่รอดและเพิ่มจำนวนได้ ในช่วงการเก็บรักษา อาจทำให้ผักมีความเสี่ยงและความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้ ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการหาขั้นตอนหรือจุดวิกฤต ที่ทำให้ผักมีการปนเปื้อนของ *E.coli* และแบคทีเรีย Coliform ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเริ่มตั้งแต่ฟาร์มจนถึงผู้ส่งออก เพื่อเป็นการประเมินและลดความเสี่ยงที่เกิดจากการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักสดและเป็นการเพิ่มศักยภาพในการส่งออกหน่อไม้ฝรั่งให้สู่มาตรฐานสากล

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของ *E. coli* และแบคทีเรีย Coliform ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของ *E. coli* และ แบคทีเรีย Coliform ในแปลงหน่อไม้ฝรั่งจนถึงบริษัทกำแพงแสนคอมเมอร์เชียล จำกัด

การตรวจเอกสาร

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) คือ ระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ใช้เป็นเครื่องมือในการชี้เฉพาะเจาะจง ประเมิน และควบคุมอันตรายที่มีโอกาสเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหาร สถาบันอาหาร (2547) ระบบนี้ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางจากนานาชาติถึงประสิทธิภาพ การประกันความปลอดภัย ของผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้บริโภค เนื่องจากระบบ HACCP เป็นระบบที่ออกแบบมาเพื่อควบคุมอันตราย ณ จุดหรือขั้นตอนการผลิตที่อันตราย เหล่านั้นมีโอกาสเกิดขึ้น จึงสามารถประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่า การตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุดท้าย หรือ การควบคุมคุณภาพที่ใช้กันอยู่เดิม ซึ่งมีความจำกัดของขนาด ตัวอย่างที่สุ่ม นอกจากนั้นระบบ HACCP ยังมีศักยภาพในการระบุบริเวณหรือขั้นตอน การผลิตที่มีโอกาสเกิดความผิดพลาดขึ้นได้ แม้ว่าจุดหรือในขั้นตอนดังกล่าว จะยังไม่เคยเกิดอันตรายมาก่อนซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินงานใหม่

คณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ FAO/WHO หรือที่เรียกย่อๆ ว่า Codex ก่อตั้งเมื่อ พ.ศ. 2505 ได้พัฒนามาตรฐานอาหาร แนวทางและข้อแนะนำต่าง ๆ ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสนับสนุน การปฏิบัติทางการค้าที่เป็นธรรม และ เพื่อคุ้มครองสุขภาพของผู้บริโภค จากการบริโภค บริโภคผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งในปัจจุบันองค์การการค้าโลก (WTO) ได้ใช้เป็นหลักอ้างอิง ในการดำเนินการทางการค้าระหว่างประเทศ ในส่วนของการรับรองความปลอดภัยด้านสุขภาพของผู้บริโภค และ การคุ้มครองการกีดกันทางการค้า โดย Codex ได้ยอมรับแนวทางในการประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ขึ้น ปัจจุบัน HACCP ถูกใช้เป็นหลักอ้างอิงสำหรับผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์อาหาร และ หน่วยงานควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจาก Codex ได้พัฒนาขึ้นโดยประเทศสมาชิก 160 ประเทศ ดังนั้นระบบคุณภาพ HACCP จึงได้มีการประยุกต์ใช้ในประเทศไทย ในการประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการดำเนินการค้าระหว่างประเทศ

- สร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหาร
- เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหาร อย่างมี

ประสิทธิภาพ

- ลดจำนวนตัวอย่างที่ต้องสุ่มตรวจ
- ลดการสูญเสียของผลิตภัณฑ์
- อำนวยความสะดวกในการดำเนินการค้าระหว่างประเทศ
- เพิ่มอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ สอดคล้องกับข้อกำหนดของประเทศคู่ค้า

สถาบันอาหาร (2542) ได้ให้คำนิยามของคำศัพท์ที่เกี่ยวข้อง ในการประยุกต์ใช้ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ตามแนวทางของ Codex ดังนี้

ควบคุม (Control): กระทำการใดๆที่จำเป็นเพื่อให้มั่นใจและรักษาเกณฑ์ที่กำหนดไว้ในแผน HACCP

การควบคุม (Control): การแสดงว่ายังเป็นไปตามวิธีปฏิบัติที่ถูกต้องและได้ตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้

มาตรการควบคุม (Control measure): การกระทำหรือกิจกรรมใดที่ใช้ป้องกันหรือกำจัดอันตรายในอาหาร หรือลดอันตรายให้เหลืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้

การแก้ไข (Corrective action) ปฏิบัติการที่ต้องดำเนินการเมื่อผลการตรวจติดตามที่จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมแสดงว่าเกิดการสูญเสียการควบคุม

จุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Critical Control Point; CCP): ขั้นตอนซึ่งสามารถทำการควบคุมได้ และเป็นสิ่งจำเป็นในการป้องกันหรือกำจัดอันตราย หรือลดอันตรายให้เหลืออยู่ในระดับที่ยอมรับได้

ค่าวิกฤต (Critical limit): ค่าที่ใช้แยกการยอมรับได้จากการยอมรับไม่ได้

การเบี่ยงเบน (Deviation): ข้อผิดพลาดที่ไม่เป็นไปตามค่าวิกฤต

แผนภูมิการผลิต (Flow Diagram): ระบบที่เป็นตัวแทนลำดับของขั้นตอนหรือกระบวนการที่ใช้ในการผลิตอาหารเฉพาะอย่าง

HACCP: ระบบที่ระบุ ประเมิน และควบคุมอันตรายซึ่งมีความสำคัญต่อความปลอดภัยของอาหาร

แผน HACCP (HACCP Plan): เอกสารที่เตรียมขึ้นตามหลักการ HACCP เพื่อให้มั่นใจในการควบคุมอันตรายที่สำคัญต่อความปลอดภัยของอาหารภายในส่วนของห่วงโซ่อาหารที่พิจารณา

อันตราย (Hazard): สิ่งต่างๆทางด้านชีวภาพ ทางเคมี และทางกายภาพที่ปะปนในอาหาร หรือสถานะของอาหารที่มีแนวโน้มทำให้เกิดผลไม่ดีต่อสุขภาพ

การวิเคราะห์อันตราย (Hazard Analysis): กระบวนการรวบรวมและประเมินข้อมูลของอันตรายและสถานะที่ทำให้เกิดอันตรายและสถานะที่ทำให้เกิดอันตรายเพื่อตัดสินใจว่าสิ่งใดมีความสำคัญต่อความปลอดภัยของอาหารซึ่งจะต้องใส่ไว้ในแผน HACCP

การตรวจติดตาม (Monitor): การดำเนินการสังเกตหรือวัดค่าตัวแปรที่ต้องควบคุมตามขั้นตอนที่วางไว้เพื่อประเมินว่า จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมยังอยู่ภายใต้การควบคุม

ขั้นตอน (Step): จุด/ปฏิบัติ หรือขั้นตอนในโซ่อาหารรวมทั้งวัตถุดิบจากการผลิตเริ่มแรกจนถึงการบริโภคขั้นสุดท้าย

สภาพความใช้ได้ (Validation): มีหลักฐานแสดงว่าเนื้อหาของระบบ HACCP มีประสิทธิภาพ

การทวนสอบ (Verification): การใช้วิธี กระบวนการ การทดสอบ หรือวิธีประเมินอื่นใดนอกเหนือจากการตรวจติดตามเพื่อดูว่าการปฏิบัติยังเป็นไปตาม HACCP

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2547) รายงานว่า ผู้นำเข้าอาหารสำคัญๆ ของไทย เช่น สหรัฐอเมริกา ได้มีการบังคับผู้ผลิตอาหารทะเลนำระบบนี้ไปใช้ ประชาคมยุโรปได้มีการประกาศให้ใช้ระบบนี้ในโรงงานผลิตอาหาร และประเทศญี่ปุ่น ได้มีการบรรจุระบบ HACCP ไว้ในกฎหมายอาหารด้วย ส่วนในประเทศไทย ขณะนี้หน่วยงานของรัฐได้ให้ความสำคัญและส่งเสริมให้ผู้ผลิตอาหารทุกประเภทโดยเฉพาะเพื่อการส่งออกนำระบบ HACCP ไปดำเนินการแล้ว

หลักการระบบ HACCP

หลักการของระบบ HACCP จะครอบคลุมถึงการป้องกันอันตรายจาก 3 สาเหตุ ได้แก่

1. อันตรายจากสารเคมี เช่น อันตรายจากสารพิษตกค้าง ยาฆ่าแมลงในผักผลไม้
ยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ เป็นต้น
2. อันตรายทางกายภาพ เช่น เศษกรวด ดิน แก้ว ไม้ โลหะ เป็นต้น
3. อันตรายทางชีวภาพ เช่น อันตรายจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งเป็น
อันตรายที่สำคัญที่สุด เพราะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคและพิษภัยที่เกิดขึ้นอาจร้ายแรงถึงเสียชีวิตได้

การจัดทำระบบ HACCP

ระบบ HACCP สามารถนำไปใช้ในวงจรการผลิตอาหาร โดยเริ่มตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การรับวัตถุดิบ การเตรียม/ปรุง แปรรูป บรรจุ เก็บรักษา และการขนส่ง ตลอดจนถึงการจำหน่าย การจัดทำระบบ HACCP ในโรงงานผลิตอาหารจะต้องดำเนินการร่วมกับระบบพื้นฐานที่เรียกว่า Pre-requisite Program โดยเฉพาะระบบพื้นฐานที่เกี่ยวกับสุขลักษณะทั่วไป (Umbrella GMP) หรือมาตรฐานวิธีการปฏิบัติด้านสุขาภิบาล (SSOP) และ หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practice: GMP) เฉพาะผลิตภัณฑ์ (Specific GMP) ซึ่งจะครอบคลุมในเรื่องของอาคารสถานที่ การควบคุมกระบวนการผลิต สุขาภิบาล สุขลักษณะคนงาน การอบรมคนงาน รวมถึงการบันทึกและรายงาน ซึ่งจะทำให้ระบบ HACCP ดำเนินการต่อไปอย่างเหมาะสม รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

การประยุกต์ใช้หลักการของ HACCP ประกอบด้วย การดำเนินการ 12 ขั้นตอน ซึ่ง 5 ขั้นตอนแรกจะเป็นการเตรียมการเพื่อจัดทำระบบ HACCP ส่วนอีก 7 ขั้นตอนหลังเป็นหลักการของ HACCP ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่	หลักการของ HACCP	รายละเอียด
1.	ขั้นตอนเตรียมการ	การจัดทำคณะทำงาน HACCP (Assemble HACCP Team)
2.	ขั้นตอนเตรียมการ	การบรรยายรายละเอียดของผลิตภัณฑ์ (Describe Products)
3.	ขั้นตอนเตรียมการ	ระบุวิธีการนำไปใช้ (Identify Intended Use)
4.	ขั้นตอนเตรียมการ	การสร้างแผนภูมิการผลิต (Construct Flow Diagram)
5.	ขั้นตอนเตรียมการ	ทวนสอบแผนภูมิที่จุดการผลิตจริง (On-Site Confirmation of Flow Diagram)

ระบบ HACCP เป็นระบบที่เกี่ยวข้องกับระบบเอกสาร ซึ่งนอกจากจะต้องมีหลักการพื้นฐานต่าง ๆ แล้ว สิ่งที่สำคัญเป็นหัวใจของระบบ HACCP ก็คือแผน HACCP หรือ HACCP Plan ซึ่งหมายถึงเอกสารที่เตรียมตามหลักการทั้ง 7 ของระบบ HACCP เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าสามารถควบคุมอันตรายซึ่งมีนัยสำคัญต่อความปลอดภัยของอาหารดังนี้

ขั้นตอนที่	หลักการของ HACCP	รายละเอียด
6.	หลักการที่ 1 (Principle 1)	ระบุอันตรายทั้งหมดที่มีโอกาสเกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนการผลิตวิเคราะห์อันตรายและพิจารณามาตรการป้องกัน เพื่อควบคุมอันตรายที่ระบุไว้ (List all potential hazards associated with each step, conduct a hazard analysis, and consider any measures to control identified hazards)
7.	หลักการที่ 2 (Principle 2)	กำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Determine Critical Control Points : CCP)
8.	หลักการที่ 3 (Principle 3)	กำหนดค่าวิกฤตสำหรับจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมแต่ละจุด (Establish Critical Limit for Each CCP)

ขั้นตอนที่	หลักการของ HACCP	รายละเอียด
9.	หลักการที่ 4 (Principle 4)	จัดทำระบบตรวจติดตามสำหรับจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมแต่ละจุด (Establish a Monitoring System for Each CCP)
10.	หลักการที่ 5 (Principle 5)	การกำหนดวิธีการแก้ไข (Establish Corrective Action)
11.	หลักการที่ 6 (Principle 6)	กำหนดกระบวนการตรวจสอบ (Establish Verification Procedures)
12.	หลักการที่ 7 (Principle 7)	จัดทำระบบเอกสารและการเก็บบันทึก (Establish Documentation and Record Keeping)

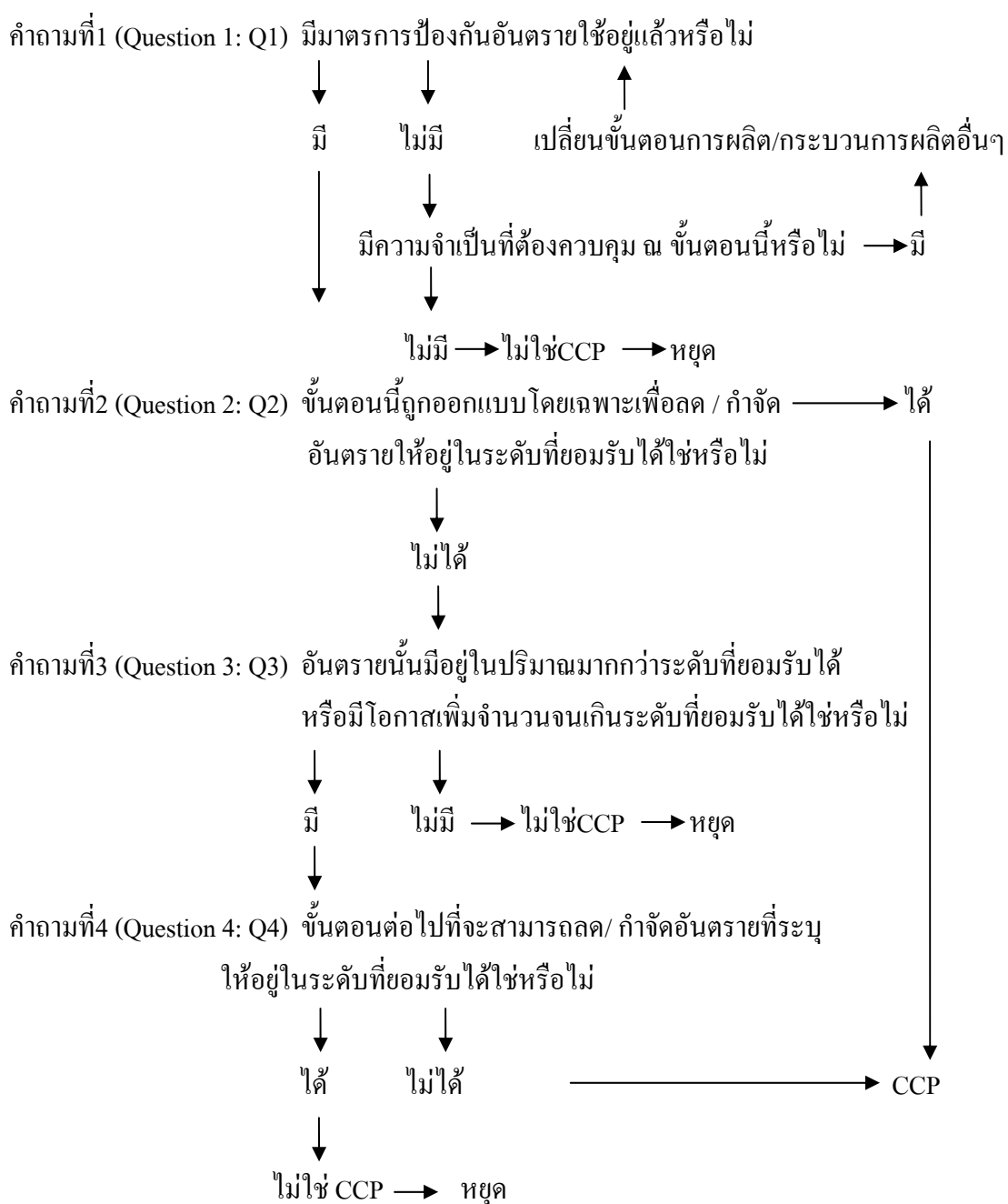
วรารุณี (2547) กล่าวว่าสาเหตุที่ต้องจัดทำ GMP เพื่อป้องกันผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตขึ้นจากการปนเปื้อนของอันตรายทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ซึ่งอาจมาจากสิ่งแวดล้อม อาคารผลิต เครื่องจักร หรืออุปกรณ์ โดยข้อกำหนดของ GMP สำหรับสุขลักษณะทั่วไปมีข้อกำหนดหลัก 6 ข้อ ประกอบด้วย 1. สถานที่ตั้งและอาคารผลิต 2. เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการผลิต 3. การควบคุมกระบวนการผลิต 4. การสุขาภิบาล 5. การบำรุงรักษาและการทำความสะอาด และ 6. บุคลากรและสุขลักษณะ สำหรับผู้ที่ผลิตอาหารเข้าประเทศสหรัฐอเมริกาต้องเตรียมเอกสารวิธีการปฏิบัติมาตรฐานด้านสุขาภิบาลอาหาร (Sanitation Standard Operating Procedure : SSOP) มีเนื้อหาโดยย่อดังนี้

1. ความปลอดภัยของระบบน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตและน้ำที่ใช้ในโรงงาน
2. การรักษาความสะอาดและสภาพการรักษาความสะอาดของผิวสัมผัสต่างๆ ที่สัมผัสกับอาหาร
3. การบำรุงรักษาอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ใช้ในการล้างมือและการฆ่าเชื้อที่มือ
4. การป้องกันการปนเปื้อนข้ามระหว่างขั้นตอนการผลิต
5. การป้องกันสารปลอมปน
6. การเก็บ การใช้ และการปิดฉลากของสารเคมีที่เป็นพิษ

7. การตรวจสอบสุขภาพของพนักงาน
8. การควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค

HACCP เป็นระบบบริหารความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ

1. HA หรือ Hazard Analysis หมายถึง การวิเคราะห์อันตรายต้องครอบคลุมทุกชนิดของอันตรายและทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์
2. CCP หรือ Critical Control Point หมายถึง จุดวิกฤติที่ต้องควบคุมซึ่งเป็นกระบวนการที่ต่อเนื่องจากการวิเคราะห์อันตรายที่พบว่าขั้นตอนการผลิตขั้นตอนใดที่อาจจะเป็นสาเหตุให้เกิดอันตรายในผลิตภัณฑ์จนก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ขั้นตอนการผลิตนั้นต้องได้รับการตรวจติดตาม การควบคุมและป้องกันอย่างเข้มงวดซึ่งต้องอาศัยการวิเคราะห์อย่างมีเหตุผลและอาศัยข้อมูลทางวิชาการมาเป็นบรรทัดฐานในการตัดสินใจ การระบุหรือการหาจุดวิกฤติที่ต้องควบคุมอาศัย แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision Tree) ของโคเด็กซ์ (Codex) ดังภาพที่ 1



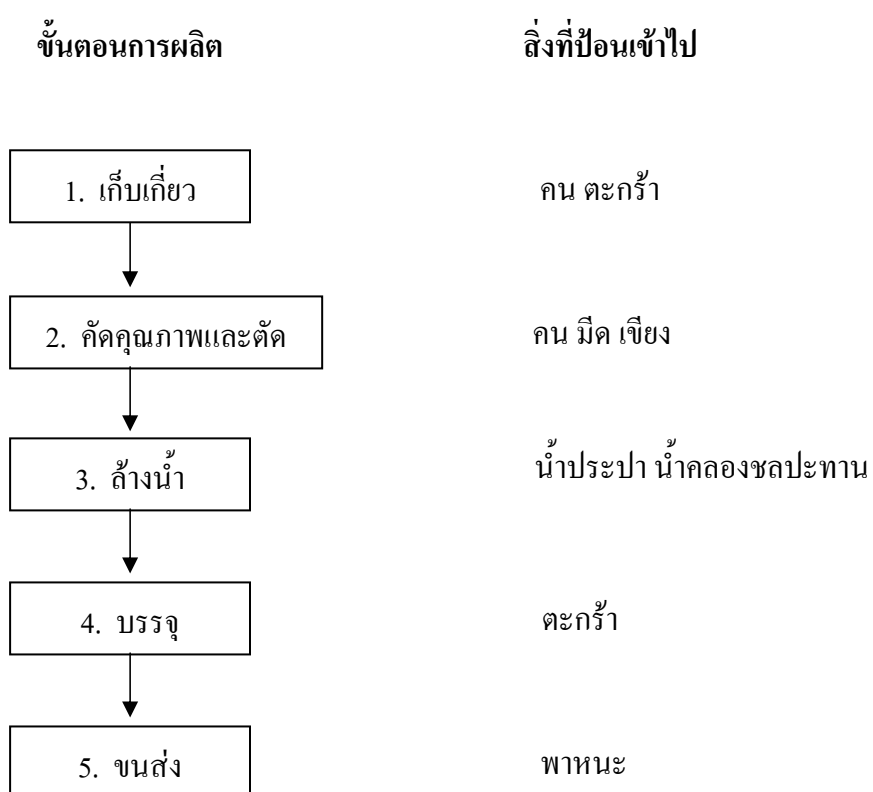
ภาพที่ 1 แผนภูมิการตัดสินใจ (Decision Tree) ของโคเด็กซ์เพื่อใช้ในการระบุขั้นตอนของกระบวนการผลิตที่จัดเป็นจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม

หมายเหตุ CCP (Critical Control Point) จุดควบคุมวิกฤต

การประยุกต์ใช้ระบบ HACCP ในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก สามารถสร้างแผนภูมิการผลิตได้ดังนี้

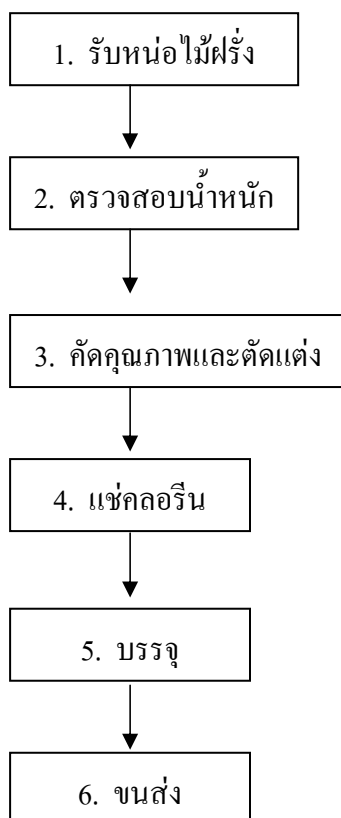
ขั้นตอนการปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งในระดับเกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก

1. ระดับเกษตรกร



2. ระดับผู้รวบรวมผลผลิต

ขั้นตอนการผลิต



สิ่งที่ป้อนเข้าไป

ตะกร้า คน

เครื่องชั่งน้ำหนัก คน

คน มีด ไม้ขีด เขียง

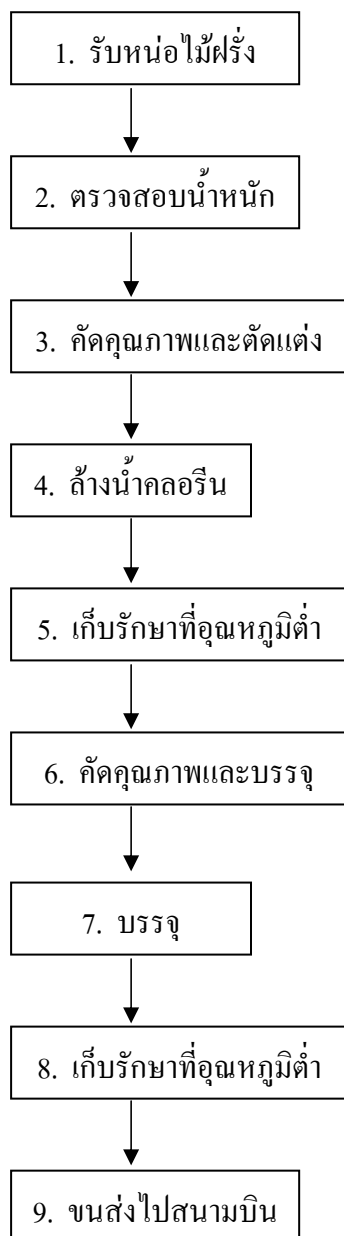
น้ำประปา คลอรีน อ่างแช่คลอรีน

คน ตะกร้า แท่นรองสินค้า

พาหนะ

3. ระดับผู้ส่งออก

ขั้นตอนการผลิต



สิ่งที่ป้อนเข้าไป

ตะกร้า คน

เครื่องชั่งน้ำหนัก คน

คน มีด โต๊ะ เจียงสแตนเลส

น้ำประปา คลอรีน
อ่างแช่คลอรีน

ห้องเย็น

คน โต๊ะ ถาด

กล่อง ลัง

ห้องเย็น

พาหนะ

กรมวิชาการเกษตร (2549) รายงานว่าระเบียบปฏิบัติการผลิตทางการเกษตรอย่างถูกต้อง และเหมาะสม (Good Agricultural Practice: GAP) ของระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งระดับเกษตรกรมี ข้อกำหนด และเกณฑ์ที่กำหนด ดังตารางที่ 1 ซึ่งเกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติในระบบการผลิต หน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรได้

ตารางที่ 1 ข้อกำหนดวิธีปฏิบัติ และเกณฑ์ที่กำหนด ตามระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งระดับเกษตรกร

ลำดับข้อกำหนด	เกณฑ์ที่กำหนด
1. แหล่งน้ำ	-น้ำที่ใช้ ต้องได้จากแหล่งที่ไม่มีสภาพแวดล้อมซึ่งก่อให้เกิด การปนเปื้อน
2. พื้นที่ปลูก	-ต้องเป็นพื้นที่ที่ไม่มีวัตถุอันตรายที่จะทำให้เกิดการตกค้างหรือ ปนเปื้อนในผลิตผล
3. การใช้วัตถุอันตราย ทางการเกษตร	-หากมีการใช้ ให้ใช้ตามคำแนะนำหรืออ้างอิงคำแนะนำของ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์หรือตามคำ แนะนำในฉลากที่ขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ -ต้องใช้สารเคมีให้สอดคล้องกับรายการสารเคมีที่ประเทศคู่ค้า อนุญาตให้ใช้ -ห้ามใช้วัตถุอันตรายที่ระบุในทะเบียนวัตถุอันตรายทาง การเกษตรที่ห้ามใช้
4. การจัดการเพื่อให้ได้ คุณภาพหน่อตามความต้อง การของตลาด	
4.1 การเตรียมเมล็ดพันธุ์	-เลือกพันธุ์ปลูกที่ตรงกับความต้องการของตลาด -เลือกเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพตรงตามมาตรฐานเมล็ดพันธุ์ จากแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่มีประวัติการผลิตที่น่าเชื่อถือ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับข้อกำหนด	เกณฑ์ที่กำหนด
5. ปลอดจากศัตรูพืช	-สำรวจการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผัก ถ้าพบกลุ่มไข่มากกว่า 1 กลุ่มต่อ 5 กอหรือหนอนมากกว่า 1 ตัวต่อกอต้องป้องกันกำจัด -สำรวจการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายถ้าพบมากกว่า 1 ตัวต่อ 2 กอ ต้องป้องกันกำจัด -สำรวจการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟหอมถ้าพบมากกว่า 1 ตัวต่อ 5 หน่อ หรือมากกว่า 20 ตัวต่อกอ ต้องป้องกันกำจัด -สำรวจการเข้าทำลายของโรคเน่าเปื่อย -ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวแล้วต้องไม่มีเพลี้ยไฟไขและตัวหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และศัตรูพืชอื่น ถ้าพบต้องคัดแยกไว้ต่างหาก
6. การเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว	-เก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งที่มีขนาดตรงตามความต้องการของตลาด เลือกเก็บเกี่ยวหน่อที่ปลายหน่อแน่น ไม่มีช่อใบโพล่พันกาบใบ (หน่อไม่บาน) หน่อยาวประมาณ 20-25 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางโคนหน่อมากกว่า 0.8 เซนติเมตร อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บเกี่ยว ภาชนะบรรจุ และวิธีการเก็บเกี่ยว จะต้องไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคุณภาพของหน่อและปนเปื้อนสิ่งอันตรายที่มีผลต่อการบริโภค -คัดแยกหน่อตามความต้องการของแต่ละตลาดอย่างระมัดระวัง ตัดโคนหน่อให้เสมอกันใช้กระดาษหุ้มแล้วมัดด้วยเชือกหรือยาง -บรรจุหน่อไม้ฝรั่งที่คัดแยกและคัดขนาดแล้วลงในตระกร้าพลาสติกให้ยอด้งขึ้น เพื่อป้องกันมิให้ยอคด -คัดแยกหน่อที่เสียหายจากการเก็บเกี่ยวหรือมีตำหนิจากโรคและแมลง หรือหน่อที่ไม่ได้คุณภาพตามความต้องการของตลาด

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับข้อกำหนด	เกณฑ์ที่กำหนด
6. การเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว (ต่อ)	หรือมีศัตรูพืชติดอยู่ แยกไว้ต่างหาก
7. การเก็บรักษาและการขนย้ายผลิตผล	-สถานที่เก็บรักษาต้องสะอาด มีอากาศถ่ายเทได้ดี สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากวัตถุแปลกปลอมวัตถุอันตราย และสัตว์พาหะนำโรค -อุปกรณ์และพาหนะในการขนย้ายต้องสะอาดปราศจากการปนเปื้อนสิ่งอันตรายที่มีผลต่อความปลอดภัยในการบริโภค -ต้องขนย้ายผลิตผลอย่างระมัดระวัง มิให้เกิดรอยชำ
8. การบันทึกข้อมูล	-ต้องมีการบันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการใช้วัตถุอันตราย -ต้องมีการบันทึกข้อมูลการสำรวจศัตรูพืช

ที่มา: กรมวิชาการเกษตร (2549)

นอกจากนี้ Department of Agriculture, Fisheries and Forestry – Australia [AFFA] (2001) รายงานว่า อันตรายทางด้านความปลอดภัยของอาหารที่เกี่ยวข้องกับผลิตสดแบ่งได้ 3 หมวด ได้แก่ อันตรายทางด้านชีวภาพ เคมี และ กายภาพ ดังตารางที่ 2 แสดงถึงความเป็นไปได้ของอันตรายในแต่ละหมวดหมู่และแหล่งที่มาของการปนเปื้อน การปนเปื้อนของผลิตผลสามารถเกิดขึ้นโดยทางตรงและทางอ้อม โดยการสัมผัสกับผิวหรือส่วนประกอบอื่นๆ ของผลิตผล

ตารางที่ 2 ชนิดของอันตรายและแหล่งที่มาของการปนเปื้อนผลิตผล

ชนิดของอันตราย	อันตราย	แหล่งที่มาของการปนเปื้อน
ชีวภาพ	จำนวนจุลินทรีย์บนผลิตผลอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเจ็บป่วยในผู้บริโภคที่ไวต่อเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ปรสิต ยีสต์ รา	- อุจจาระจากสัตว์หรือมนุษย์ปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการชลประทาน การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช การเก็บเกี่ยว การถ่วงสินค้า การล้าง การใช้น้ำแข็งวางด้านบน การใช้น้ำเย็น การทำความสะอาด - ปุ๋ยจากมูลสัตว์ไม่ได้รับการจัดการที่ดี และนำมาใช้ในการปรับปรุงดินทำให้เกิดการสัมผัสผลิตผลโดยตรงและทางอ้อมโดยผ่านทางดิน - การเก็บผลิตผลที่หล่นบนพื้นดินทำให้เกิดการปนเปื้อน - การทำความสะอาดไม่เพียงพอของภาชนะที่ใช้และอุปกรณ์ใช้ในการเก็บเกี่ยว การคัดคุณภาพและการบรรจุ ถูกปนเปื้อนจากดิน วัตถุที่เน่าเปื่อย และอุจจาระของหนู นกและแมลง - พาลเลต ลัง และถังบรรจุที่มีดินและอุจจาระปนเปื้อนสามารถสัมผัสกับผลิตผลได้เมื่อนำมาวางซ้อนกัน - บรรจุภัณฑ์และวัสดุในการบรรจุ ถูกปนเปื้อนด้วยอุจจาระจากหนู นกและแมลง - การปฏิบัติต่อผลิตผลโดยพนักงานที่เป็นโรคเนื่องจากอุปกรณ์และเครื่องใช้ในการล้างมือหรือห้องน้ำมีไม่เพียงพอ การปฏิบัติต่อสุขลักษณะขั้นพื้นฐานไม่ดีพอ และสาเหตุการเจ็บป่วยของพนักงาน เช่น โรคตับอักเสบ

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของอันตราย	อันตราย	แหล่งที่มาของการปนเปื้อน
เคมี	สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง ในผลผลิตมากเกินไป MRL	- สารกำจัดศัตรูพืชไม่ได้ถูกขึ้นทะเบียนหรือถูกอนุญาตให้ใช้ในพืชเป้าหมาย - การผสมไม่ถูกต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าอัตราการใช้ในฉลาก - ไม่ปฏิบัติตามช่วงเวลาให้หยุดฉีดพ่นก่อนการเก็บเกี่ยว
	การหลงเหลือของสาร กำจัดศัตรูพืชที่ไม่ได้ขึ้น ทะเบียนหรือไม่ได้รับ อนุญาตให้ใช้กับผลผลิต	- อุปกรณ์ไม่ได้รับการสอบเทียบ - การแพร่กระจายของสารเคมีจากแปลงใกล้เคียง - สารกำจัดศัตรูพืชในดินจากการใช้มาก่อนปลูก - สารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในถังบ่มหรือถังบรรจุ - อุปกรณ์ไม่ได้ทำความสะอาดหลังจากใช้งาน - ใช้อุปกรณ์หลายจุดประสงค์เช่น ใช้ในการล้างและการฉีดพ่นสารเคมี - การทิ้ง การหกหรือการรั่วไหลของสารกำจัดศัตรูพืชลงในดินหรือแหล่งน้ำ
	การหลงเหลือของโลหะ หนักบนผลผลิตมากเกินไป ระดับสูงสุด	- การให้ปุ๋ยที่มีโลหะหนักเป็นส่วนประกอบในระดับสูงติดต่อกัน - โลหะหนักในดินมีอยู่สูงตามธรรมชาติหรือจากการใช้มาก่อน
	สารพิษจากธรรมชาติ	- การเพิ่มค่านาไฟฟ้าของดินสูงขึ้นเกี่ยวกับโลหะหนักโดยพืชปลูก เช่น สภาพเป็นกรด สภาพเป็นเกลือ

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของอันตราย	อันตราย	แหล่งที่มาของการปนเปื้อน
เคมี (ต่อ)	การปนเปื้อนของสารเคมีที่ไม่ได้ใช้สารกำจัดศัตรูพืช	-สภาพการจัดเก็บไม่เหมาะสม เช่น การจัดเก็บมันฝรั่งในที่มืดแสง -สารเคมีและปุ๋ยหกหล่นบนพาลเลต -การรั่วไหลของสารเคมีและปุ๋ยระหว่างการขนส่ง -การผลิตผล -การรั่วไหลของน้ำมันและจารบีปนเปื้อนอุปกรณ์ที่สัมผัสผลิตผล -การหกล้นของสารเคมี เช่น สารเคมีที่ใช้ควบคุมศัตรูพาหะนำโรคอยู่ใกล้กับผลิตผลหรือบรรจุภัณฑ์ -การใช้สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดไม่เหมาะสม -การหลงเหลือในภาชนะที่ใช้จัดเก็บสารเคมี ปุ๋ย น้ำมัน และอื่นๆ
กายภาพ	สิ่งแปลกปลอมจากสภาพแวดล้อม(เช่น ดิน หิน ไม้ เมล็ดวัชพืช)	-การเก็บเกี่ยวส่วนของพืชได้ดินขณะเปียกชื้น - อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวและการบรรจุสกปรก - ภาชนะบรรจุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการบรรจุสกปรก - แผ่นพาลเลต ลัง และถังขยะด้านบนที่สกปรกถูกวางด้วยผลิตผล
	แก้ว	- หลอดไฟแตกเหนืออุปกรณ์ที่ใช้ในการบรรจุและพื้นที่ที่วางผลิตผล

ตารางที่ 2 (ต่อ)

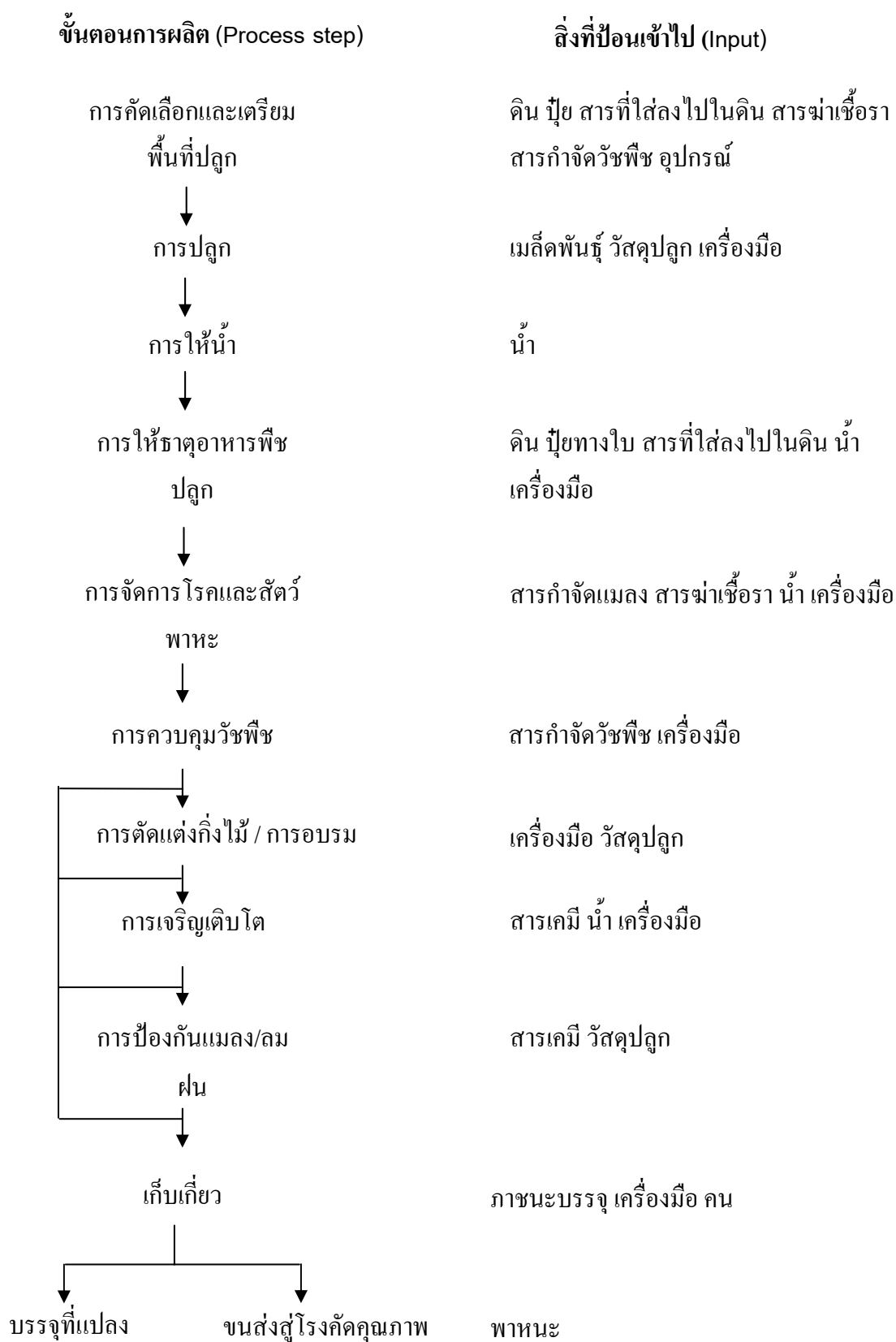
ชนิดของอันตราย	อันตราย	แหล่งที่มาของการปนเปื้อน
กายภาพ (ต่อ)	สิ่งแปลกปลอมจากอุปกรณ์และภาชนะบรรจุ (เช่น เศษไม้ เศษโลหะ เศษพลาสติก แผ่นสะเก็ดสี)	- ภาชนะบรรจุที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวและแผ่นพาลเลตเสียหาย - การทำความสะอาดหลังจากการซ่อมแซมและบำรุงรักษาไม่เพียงพอ - พื้นที่ที่ใช้ปฏิบัติการอยู่ใกล้พื้นที่บรรจุและพื้นที่ที่ใช้ในการจัดเก็บ
	สิ่งแปลกปลอมจากการปฏิบัติของมนุษย์ (เช่น เครื่องประดับพลาสติก อู้งมือ)	- พนักงานไม่ได้รับการฝึกอบรม - เสื้อผ้าไม่เหมาะสม

ที่มา: AFFA (2001)

ขั้นตอนการผลิตและสิ่งที่ป้อนเข้าไป

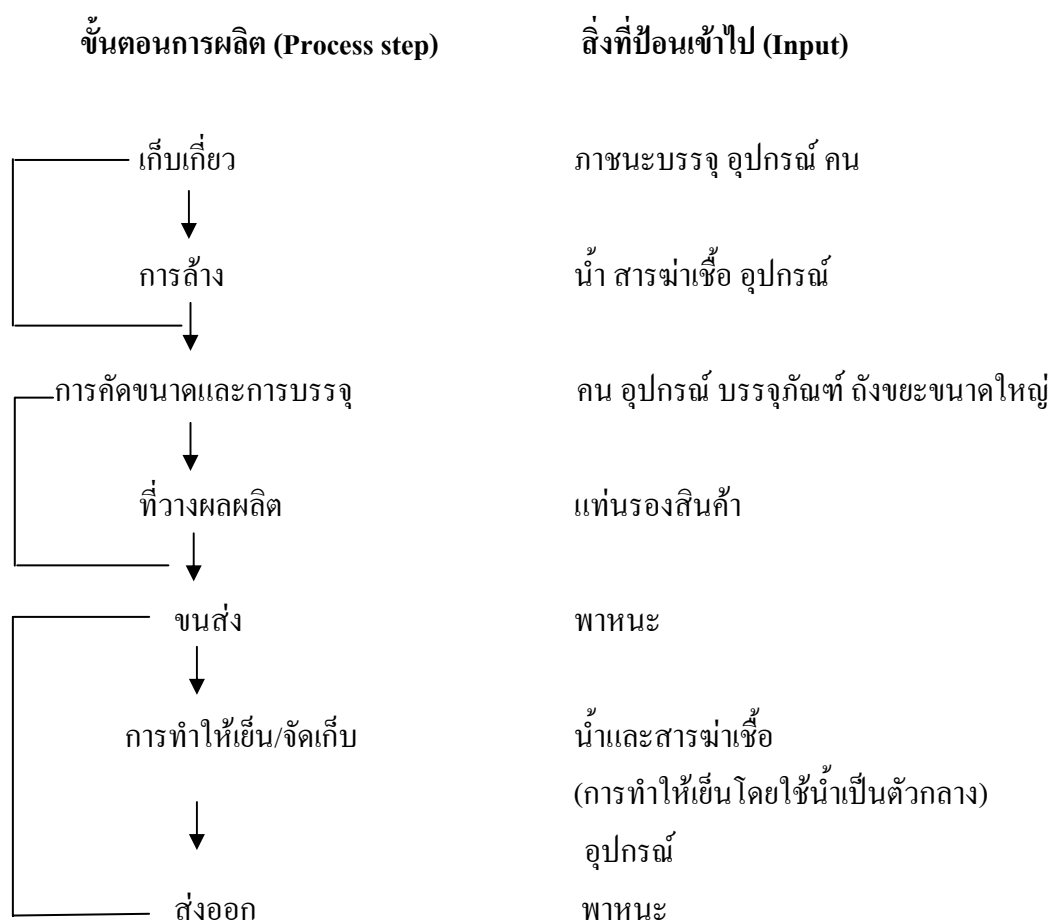
1. แผนภูมิการผลิต ณ ระดับการปลูกพืช

แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตที่แปลงปลูกบนดินและสิ่งที่ป้อนเข้าไป (input) สามารถป้อนอันตรายทางด้านความปลอดภัยของอาหาร สำหรับการใช้งานหลังจากขั้นตอนการปลูกพืชไปแล้วบางขั้นตอนอาจไม่มีความจำเป็นที่ต้องปฏิบัติให้เหมือนกันในทุกพืช เช่น การปลูกพืชไร่ดิน การให้สารละลายธาตุอาหารและวัสดุปลูกชนิดพิเศษเพื่อคำนวณราคา (AFFA, 2001)



2. แผนภูมิการผลิต ณ การบรรจุที่ระดับแปลง

แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการบรรจุที่ระดับแปลงของผลผลิตสด และสิ่งที่ป้อนเข้าไปในแต่ละขั้นตอนซึ่งนำไปสู่อันตรายด้านความปลอดภัยของอาหาร บางขั้นตอนไม่จำเป็นในการปลูกพืช ตัวอย่างเช่น พืชที่ปลูกบางชนิดไม่ผ่านการล้างก่อนบรรจุ และไม่ผ่านขั้นตอนการทำให้เย็นก่อนการส่งออก (AFFA, 2001)

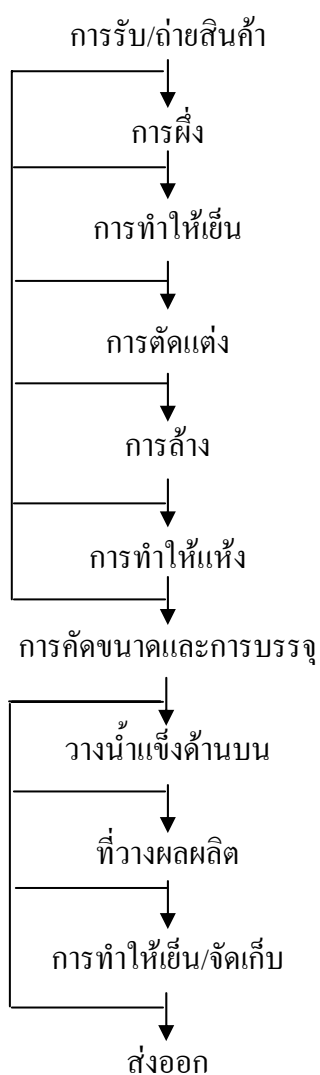


3. แผนภูมิการผลิต ณ โรงคัดคุณภาพ

แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการบรรจุที่ระดับแปลงของผลผลิตสดและสิ่งที่ป้อนเข้าไปในแต่ละขั้นตอนซึ่งนำไปสู่อันตรายด้านความปลอดภัยของอาหาร ขั้นตอนดังกล่าวอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามชนิดผลผลิต (AFFA, 2001)

ขั้นตอนการผลิต (Process step)

สิ่งที่ป้อนเข้าไป (Input)



น้ำ คน อุปกรณ์

ถึงขนาดใหญ่

น้ำ และสารฆ่าเชื้อ

(การทำให้เย็นโดยใช้น้ำเป็นตัวกลาง) อุปกรณ์

คน น้ำ สารเคลือบผิว อุปกรณ์

น้ำ สารฆ่าเชื้อ อุปกรณ์

อุปกรณ์

คน บรรจุภัณฑ์ ถึง อุปกรณ์

น้ำแข็ง อุปกรณ์

แท่นรองสินค้า

น้ำและสารฆ่าเชื้อ(การทำให้เย็นโดยใช้

น้ำเป็นตัวกลาง) อุปกรณ์

พาหนะ

การประเมินอันตราย

บริเวณที่ควรประเมินอันตรายคือขั้นตอนการปลูกและการเก็บเกี่ยว ขั้นตอนการบรรจุที่โรงคัด การบรรจุวัตถุดิบและบริเวณที่จัดเก็บทุกขั้นตอนจนถึงการกระจายสินค้าสู่ผู้บริโภค เช่น การปนเปื้อนจากน้ำ hydrocooling (การทำให้เย็นโดยใช้น้ำเป็นตัวกลาง) ประเมินอันตรายทางเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมี

การกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

การกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในระบบ HACCP ทำได้โดยการใช้ผังตัดสินใจ ในกรณีที่มีการระบุว่าอันตรายอยู่ในขั้นตอนการผลิต จำเป็นต้องมีการควบคุมเพื่อให้เกิดความปลอดภัย เช่น ระบบการฉีดคลอรีนจากเครื่อง hydro-cooler

กำหนดค่าวิกฤตสำหรับจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมแต่ละจุด

ค่าวิกฤตต้องกำหนดขึ้นมาเพื่อใช้แยกการยอมรับได้ออกจากการยอมรับไม่ได้และเป็นขอบเขตในการตัดสินใจว่ากระบวนการผลิตกำลังผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัย เช่น ระดับความเข้มข้นคลอรีนที่ 100 – 150 ppm ($\mu\text{l l}^{-1}$) ของน้ำที่เครื่อง hydro-cooler และ pH 6.0 – 7.5

การตรวจติดตามสำหรับจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมแต่ละจุด

การตรวจติดตามเป็นแผนการตรวจวัดหรือการสังเกตความสัมพันธ์ระหว่างจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมกับค่าวิกฤต ซึ่งวิธีการตรวจติดตามต้องสามารถตรวจพบการสูญเสียการควบคุมที่จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมได้ ดังนั้นจำเป็นต้องกำหนดผู้ตรวจติดตามและความถี่ในการตรวจติดตาม ผลการตรวจติดตามอยู่ในรูปเอกสารเช่น การตรวจสอบระดับความเข้มข้นคลอรีนด้วยชุดทดสอบและตรวจวัด pH ทุกชั่วโมงที่เครื่อง hydro-cooler ด้วยกระดาษลิตมัส หรือชุดทดสอบอื่นๆ และจดบันทึกทุกครั้ง ที่ทำการตรวจสอบโดยผู้ตรวจสอบที่เครื่อง hydro-cooler

กำหนดวิธีการแก้ไขเมื่อเกิดการเบี่ยงเบนจากค่าวิกฤตของจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

วิธีการแก้ไขเมื่อเกิดการเบี่ยงเบนจะถูกคาดการณ์และเขียนวิธีปฏิบัติไว้ล่วงหน้า การเบี่ยงเบนทั้งหมดจะถูกควบคุมโดยการปฏิบัติเพื่อควบคุมผลิตภัณฑ์ที่มีปัญหา และแก้ไขสาเหตุของปัญหานั้น เช่น ถ้าพบความเข้มข้นคลอรีนต่ำกว่า $25 \mu\text{l l}^{-1}$ (AFFA, 2001) ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำให้เย็นโดยใช้น้ำเป็นตัวกลางนั้นต้องถูกหยุด ระดับคลอรีนต้องถูกปรับและนำผลิตภัณฑ์ทั้งหมดนั้นที่มีการตรวจพบครั้งสุดท้ายไปผ่านเครื่อง hydro-cooler ใหม่ตามค่าวิกฤตที่กำหนด

กำหนดกระบวนการทวนสอบ

การทวนสอบเป็นการประเมินประสิทธิภาพของแผน HACCP และพิสูจน์ว่าระบบ HACCP เป็นไปตามแผน การทวนสอบควรดำเนินการ หลังจากศึกษาแผน HACCP แล้ว เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงในผลิตภัณฑ์ ส่วนประกอบ กระบวนการผลิต เมื่อมีการเบี่ยงเบนซึ่งเป็นผลมาจากการระบุนอันตรายชนิดใหม่ เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดไว้

การกำหนดระบบเอกสารและการเก็บบันทึกข้อมูล

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับระบบ HACCP จะต้องถูกเก็บรักษาไว้และหยิบใช้ได้ง่าย บันทึกข้อมูลรวมถึง บันทึกการผลิต เช่น บันทึกการตรวจสอบผู้จัดส่ง บันทึกการเก็บเกี่ยว เช่น วันที่เก็บเกี่ยว และ ปริมาณ บันทึกการตรวจติดตามจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมทั้งหมด จัดเก็บแฟ้มการเบี่ยงเบน เช่น การเบี่ยงเบนของแผน HACCP และการแก้ไข (Gorny and Zagory, 1999)

ความสำคัญของการตรวจจุลินทรีย์ในอาหาร

จุลินทรีย์ที่พบในอาหารแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์ (Hurst *et al.*, 1997) กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคจัดว่ามีความสำคัญเนื่องจากส่งผลกระทบโดยตรงในด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ปัจจุบันผู้ผลิตอาหารประเภทต่าง ๆ มักจะให้ความสำคัญในเรื่องความปลอดภัยของอาหารเป็นหลัก เนื่องจากตลาดและผู้บริโภคตระหนักในเรื่องนี้ทั้งสิ้น การตรวจจุลินทรีย์ก่อโรคในทางปฏิบัตินั้นทำได้ยาก เนื่องจากมีขั้นตอนที่ซับซ้อน ใช้เวลานาน และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ปัจจุบันจึงต้องตรวจจุลินทรีย์กลุ่มอื่นที่สามารถแสดงโอกาสที่จะพบจุลินทรีย์ก่อโรคได้ เรียกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่า จุลินทรีย์ดัชนี (indicator organisms) (Jay, 1992)

จุลินทรีย์ดัชนีสามารถใช้เป็นดัชนีบอกถึงการสุขาภิบาลของโรงงาน ความปลอดภัยของอาหารที่จะบริโภค หรืออายุการเก็บรักษาอาหารได้ Jay (1992) ได้กล่าวถึงลักษณะที่สำคัญของจุลินทรีย์ดัชนีไว้ดังนี้

1. มีน้อยชนิดและมีคุณสมบัติที่เฉพาะในจุลินทรีย์กลุ่มนั้น ๆ

2. มีแหล่งที่มาเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ก่อโรค
3. ไม่ก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์
4. มีปริมาณมากกว่าจุลินทรีย์ก่อโรคทำให้สามารถตรวจพบได้ง่าย
5. เมื่อตรวจพบแสดงถึงโอกาสที่จะพบจุลินทรีย์ก่อโรคมิสูง
6. วิธีการตรวจไม่ยุ่งยาก ใช้ระยะเวลาน้อย และเสียค่าใช้จ่ายน้อย
7. ความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่กดดัน ตัวอย่างเช่น ทนต่อความเป็นกรด และทนต่อแรงดันออสโมติก เป็นต้น
8. มีความสัมพันธ์ในด้านพันธุกรรมกับจุลินทรีย์ก่อโรค

การตรวจวิเคราะห์อาหารโดยทั่วไปนิยมตรวจจุลินทรีย์ดรรชนี 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียฟีคัล โคลิฟอร์ม (Fecal coliform bacteria) และเอนเทอโรคอกไค (Enterococci) ซึ่งใช้เป็นดรรชนีบ่งบอก สุนัขลักษณะของอาหารที่นำมาบริโภคได้แบคทีเรียในกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Escherichia* sp., *Klebsiella* spp. และ *Citrobacter* spp. พบในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น การตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ ในอาหารแสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อนในอาหาร สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มนี้ออกจาก กลุ่มอื่น ๆ ได้โดยเลี้ยงในอาหารเหลว EC (*E. coli* broth) หรืออาหาร mFC (modified fecal coliform) ที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอาหารที่พบว่ามีการพัฒนาให้สามารถตรวจ แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้รวดเร็วขึ้น (Vanderzant, 1992; Garcia *et al.*, 1995) สำหรับแบคทีเรียโคลิฟอร์มซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีทั้งกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มและเอนเทอโรคอกไคจัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ได้แก่ *Escherichia* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. และ *Citrobacter* spp. มีรูปร่างเป็นท่อน สั้น ไม่สร้างสปอร์ ย้อมติดสีแกรมลบ บางชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถเจริญได้ในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน ใช้น้ำตาลแลกโตส ผลิตภัณฑ์และแก๊สภายใน 48 ชั่วโมง เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 32-35 องศาเซลเซียส บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย *E. coli* เป็นต้น (Jay, 1992) การตรวจพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มนี้ยังไม่สามารถระบุได้ แน่ชัดว่ามีการปนเปื้อนมาจากสิ่งปนเปื้อน แต่สามารถใช้เป็นดรรชนีบ่งบอกถึงการสุขาภิบาลไม่ถูก สุนัขลักษณะของโรงงานได้

จุลินทรีย์ในกลุ่มเอนเทอโรคอกไค (Enterococci) พบในสัตว์เลือดอุ่น แต่แตกต่างจาก แบคทีเรียกลุ่มอื่น เนื่องจากมีความต้านทานต่อสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 6.5 และสามารถเจริญได้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำระดับเยือกแข็งและอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ (Smoot and Pierson, 1997)

แบคทีเรียตระกูล Enterobacteriaceae พบได้ทั่วไป ในน้ำ ในดิน พืชผัก ลำไส้คน และสัตว์ แม้แต่ในแมลงจึงปนเปื้อนได้ทุกที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มีความชื้น หรือที่ที่อาจปนเปื้อนจากสิ่งจับ่าย เช่น ในบริเวณส้วม ภาชนะ และสิ่งของเครื่องใช้ที่ผ่านการหยิบจับด้วยมือจึงเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนในน้ำ อาหาร เครื่องดื่ม ยารักษาโรค และเครื่องสำอางได้โดยง่าย ในด้านการก่อโรค เชื้อโรคในกลุ่มนี้มีบทบาทในการก่อโรคทางลำไส้ที่สำคัญได้แก่ *Salmonella*, *Shigella* (นันทนา, 2537)

ความสำคัญของ *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยในลำไส้เล็กตอนปลายและลำไส้ใหญ่ของคนและสัตว์เลื้อยคลาน จัดเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ในลำไส้เล็ก ด้วยเหตุนี้การตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้จึงบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนอุจจาระของคนหรือมูลสัตว์ในน้ำและอาหาร โดยปกติ *E. coli* ไม่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากบริโภคอาหาร แต่ปัจจุบันพบบางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารจึงเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า diarrheagenic *E. coli* หรือ pathogenic *E. coli* การก่อโรคขึ้นอยู่กับ virulence factors ของแต่ละพันธุ์ ความรุนแรงของโรคจะแสดงอาการตั้งแต่อาการระแวงเป็นน้ำ (water diarrhea) ไปถึงอาการระแวงเป็นมูกเลือดเนื่องจากมีอาการอักเสบของลำไส้ (inflammatory diarrhea) diarrheagenic *E. coli* แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ใหญ่ ๆ ที่สำคัญคือ enteropathogenic *E. coli* (EPEC) enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) enteroinvasive *E. coli* (EIEC) และ enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) ซีโรไทป์ (serotype) ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *E. coli* O157:H7 จัดเป็นแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจากการระบาดของสารพิษจากอาหาร ได้แก่ เนื้อโคที่ปรุงไม่สุกและนมดิบ (Beuchat, 1995) แบคทีเรียชนิดนี้สร้าง Shiga Toxin (ST) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ST I และ ST II อาการของโรคทางเดินอาหารมีตั้งแต่ท้องร่วงอย่างไม่มีรุนแรงถึงอาการรุนแรง มีอาการอุจจาระร่วงเป็นน้ำ หรือถ่ายเป็นเลือดจากการอักเสบของลำไส้ (haemorrhagic colitis) และอาจมีอาการของไตวาย (haemolytic uremic syndrome (HUS)) (อริยา, 2540)

การปนเปื้อนของ *Escherichia coli*

ในช่วงปี พ.ศ. 2519 – 2540 พบว่า ผักที่ผ่านการแปรรูปขั้นต่ำ (minimal process) พบจุลินทรีย์สูงถึง $9 \log_{10}$ CFU/g และพบจุลินทรีย์ชนิดที่ก่อให้เกิดเชื้อมีอยู่ด้วย ซึ่งได้แก่

Listeria monocytogenes, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp. (Hurst and Schuler, 1992; Odumeru *et al.*, 1997; Hagenmaier and Baker, 1998)

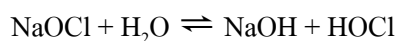
Enterotoxigenic *E. coli* ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง อาการอุจจาระร่วงมักพบในผู้เดินทางชาวต่างประเทศเดินทางไปยังประเทศกำลังพัฒนา การปนเปื้อนในผักสดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคนี้ ตัวอย่างเช่นในการประชุมที่เมืองเม็กซิโกซิตี ในปี พ.ศ. 2517 พบว่าผู้เข้าร่วมการประชุม 59 คน ป่วยจากการรับประทานสลัดที่ประกอบด้วยผักสด สาเหตุเนื่องจากการปนเปื้อนของ Enterotoxigenic *E. coli* (Merson *et al.*, 1976) และในปี พ.ศ. 2537 – 2538 ผู้โดยสารของสายการบินป่วยจากการรับประทานสลัดที่ประกอบด้วยผักกาดแก้ว Romaine lettuce เอนไดฟ์ (Endive) และแครอทหั่นฝอย มีรายงานว่ารับประทาน tossed salad สลัดประกอบด้วยผักสดหลายชนิด เช่น หอมหัวใหญ่ แครอท ชุกคินี (zucchini) พริกหวาน บร็อคโคลี เห็ด และมะเขือเทศ ทำให้ป่วยจำนวน 78 คน (Mintz, 1994; Beuchat, 1995)

Odumeru *et al.* (1997) ได้ศึกษาการรอดชีวิตของ *E. coli* ในผักสดพร้อมบริโภครวมและผักสดที่ไม่ผ่านการแปรรูป ซึ่งได้แก่ ผักกาดหอมหั่น แครอทหั่นเป็นแท่ง สลัดผสมดอกกะหล่ำ ผักก้าน้ำเต้า (celery) หั่น โคลสลอร์ บลอคโคลี และพริกหวานหั่น พบ *E. coli* 1.5% (1 ตัวอย่างใน 65 ตัวอย่าง ที่ผ่านการแปรรูปแล้ว) พบ *E. coli* น้อยกว่า 3.0 MPN / g และ 9.1 MPN / g ในผักกาดหอมหั่น และพริกหวานหั่น ที่เก็บภายใต้อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 และ 11 วัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบ *E. coli* ในตัวอย่างผักสดพร้อมบริโภคที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

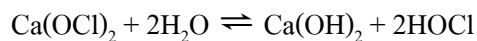
ประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์

ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของสารประกอบคลอรีนเหล่านี้ จะขึ้นอยู่กับ การแตกตัวให้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้มากที่สุด ดังสมการการแตกตัวดังต่อไปนี้

โซเดียมไฮโปคลอไรท์



แคลเซียมไฮโปคลอไรท์



แก๊สคลอรีน



Fair *et al.* (1948) อ้างโดย (Wei *et al.*, 1985) รายงานว่า OCl^- มีประสิทธิภาพในการทำลาย *E. coli* ดีกว่า HOCl โดย OCl^- มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เพียง 0.0125 เท่าของ HOCl แต่ประสิทธิภาพของ HOCl ขึ้นอยู่กับความเป็นกรด – ด่าง HOCl จะมีประสิทธิภาพดีในช่วงค่าความเป็นกรด – ด่าง คือ 4 – 6

Golden *et al.* (1987) ทดลองใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 ppm ในการล้าง bell peppers มะเขือเทศ พืช และแคนตาลูป เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ราและยีสต์ พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ล้างด้วยสารละลายคลอรีน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- (1) แผ่นเพาะเชื้อสำเร็จรูป 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate และ 3M Quick Swab บริษัท 3 เอ็ม (ประเทศไทย) จำกัด
- (2) อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ตามวิธีการบริษัท 3M (ประเทศไทย) จำกัด
- (3) เครื่องคอมพิวเตอร์ และ โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ
- (4) หน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร
- (5) คลอรีนผง Calcium hypochlorite 65 %

วิธีการ

งานวิจัยแบ่งออกเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

1. สำรวจการปนเปื้อนจากวัสดุที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูก

แผนการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย คือ

1. วัสดุหรืออุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่ง มี 3 ระดับ 1. ตะกร้าเก็บหน่อไม้ฝรั่งจากแปลง 2. หมวกครอบหน่อไม้ฝรั่ง 3. น้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่ง

2. แปลงเกษตรกร มี 3 ระดับ คือ แปลงเกษตรกร 3 แปลง

ทำการทดลอง 9 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ สุ่มเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง โดยเก็บตัวอย่าง 1 ครั้งต่อสัปดาห์จำนวนทั้งหมด 108 หน่วยทดลอง จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (3x3 Factorial in Completely Randomized Design) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ฤดู

วิธีการ

1. นำก้าน swab มาทาที่ ตะกร้าและหมวกครอบหน่อไม้ฝรั่ง โดยใช้ 3M Quick Swab เป็นชุดสว็อบพร้อมใช้ประกอบด้วยก้านสำลียาว 5 นิ้ว และเลซินบัพเฟอร์ 1 มล. สว็อบพื้นผิวที่ต้องการ แล้วถ่ายตัวอย่างที่เก็บได้ลงแผ่น 3M Petrifilm™ เพื่อตรวจเชื้อตามภาคผนวก ข

2. เก็บตัวอย่างน้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทุกแปลงเกษตรกร แล้วปฏิบัติตามภาคผนวก ข.

3. นับโคโลนีบนแผ่น 3M Petrifilm ตามวิธีการอ่านผลในภาคผนวก ข.

นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

2. ศึกษาการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ณ จุดคัดแยกหน่อของเกษตรกร

แผนการทดลอง

ปัจจัยที่ใช้ศึกษามี 2 ปัจจัย คือ

1. การล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรมี 2 ระดับ คือ ล้างด้วยน้ำประปา และไม่ล้าง
2. แปลงเกษตรกร มี 3 ระดับ คือ แปลงเกษตรกร 3 แปลง

ทำการทดลอง 6 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ จำนวนทั้งหมด 24 หน่วยทดลอง จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2x3 Factorial in Completely Randomized Design) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 จุดๆ ละ 1 ครั้ง

วิธีการ

1. นำหน่อไม้ฝรั่งที่เกษตรกรเก็บมาจากแปลงมาคัดเลือกเบื้องต้นโดยใส่ภาชนะ และแยกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาใส่ถุงพลาสติกโดยไม่ผ่านการล้าง ส่วนหลังมาล้างน้ำประปาที่ โคนหน่อไม้ฝรั่งโดยล้างแบบใช้น้ำไหล ชั่งน้ำหนักหน่อไม้ฝรั่งประมาณ 200 กรัมต่อหน่วยทดลอง

2. นำหน่อไม้ฝรั่งใส่ถุงพลาสติก

3. เมื่อถึงห้องปฏิบัติการตัดหน่อไม้ฝรั่งให้มีความยาวประมาณ 12 ซม. แล้วนำไป ตรวจเชื้อ *E. coli* และ Coliform ตามวิธีในภาคผนวก ข.

นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างซึ่งใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3 ศึกษาการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ณ โรงคัดคุณภาพหน่อของผู้รวบรวมผลผลิต

แผนการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษา มี 2 ปัจจัย คือ

1. ขั้นตอนการล้างหน่อไม้ฝรั่ง มี 2 ระดับ คือ 1.ไม่ล้างน้ำประปา 2. ล้างน้ำคลอรีนที่ $100 \mu\text{l l}^{-1}$ เวลา 5 นาที

2. แปลงเกษตรกร มี 3 ระดับ คือ แปลงเกษตรกร 3 แปลง

ทำการทดลอง 6 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ จำนวนทั้งหมด 24 หน่วยทดลอง จัดตั้งทดลองแบบแฟคทอเรียลใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2×3 Factorial in Completely Randomized Design; CRD) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 ฤดู ฤดูละ 1 ครั้ง

วิธีการ

1. นำหน่อไม้ฝรั่งจากจุดคัดแยกหน่อของเกษตรกรในการทดลองที่ 2 ที่ผ่านการ

ล้างด้วยน้ำจากแปลงเกษตรกรรมตัดที่โรงคัดคุณภาพหน่อของผู้รวบรวมผลผลิตให้ได้ความยาว 18 ซม. ตามข้อกำหนดการรับซื้อของบริษัท ใส่ถุงพลาสติกชั่งน้ำหนักประมาณ 200 กรัม/หน่วยทดลอง ทั้งหมด 12 หน่วยทดลอง

2. นำหน่อไม้ฝรั่งมาแช่คลอรีนเฉพาะบริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งประมาณ 10 ซม. ที่ $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ใส่ถุงพลาสติก ชั่งน้ำหนักประมาณ 200 กรัม/หน่วยทดลอง ทั้งหมด 12 หน่วยทดลอง

3. ขนส่งโดยรถห้องเย็นและรถของผู้จัดส่ง

4. เมื่อถึงห้องปฏิบัติการที่บริษัทให้ตัดหน่อไม้ที่มีความยาว 12 ซม. แล้วนำไปตรวจเชื้อตามภาคผนวก ข.

นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

4 ศึกษาการลดการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง ที่ระดับผู้ส่งออก

สุ่มหน่อไม้ฝรั่งจากขั้นตอนการล้างหน่อไม้ฝรั่งจากโรงคัดคุณภาพหน่อของผู้รวบรวมผลผลิตในการทดลองที่ 3

แผนการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยคือ

1. แปลงเกษตรกร มี 3 ระดับ คือ แปลงเกษตรกร 3 แปลง

2. การทำความสะอาด มี 3 ระดับ คือ ล้างน้ำคลอรีน 100 และ $200 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที และไม่ล้างน้ำ

ทำการทดลอง 9 ทริทเมนต์ ทริทเมนต์ละ 4 ซ้ำ จำนวนทั้งหมด 36 หน่วยทดลอง จัดสิ่ง

ทดลองแบบแฟกทอเรียลใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (3x3 Factorial in Completely Randomized Design; CRD) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมด 3 จุด จุดละ 1 ครั้ง

วิธีการ

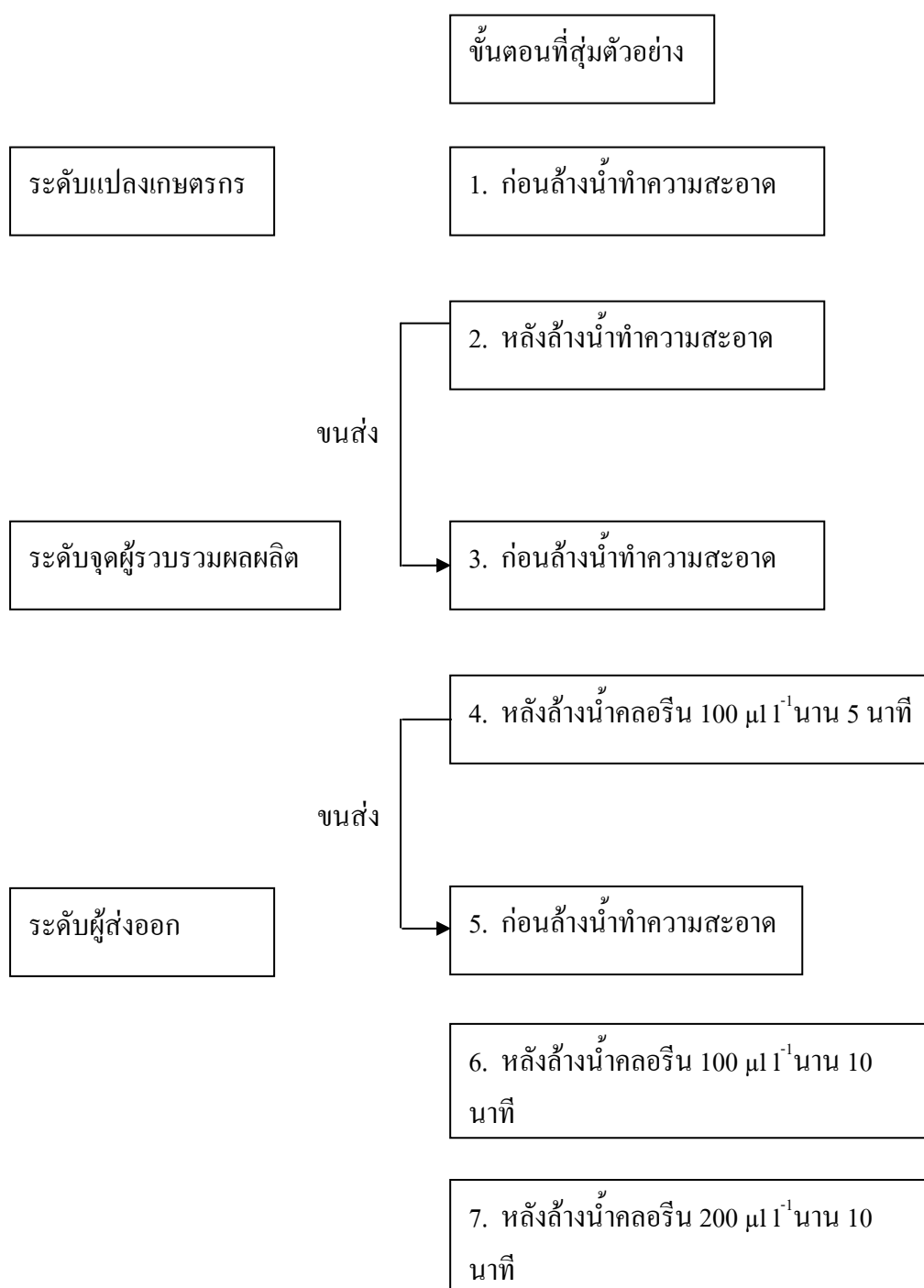
1. นำหน่อไม้ฝรั่งจากโรงคัดคุณภาพหน่อของผู้รวบรวมผลผลิตในการทดลองที่ 3 นำทริทเมนต์ที่ผ่านการแช่คลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ที่มีความยาว 18 ซม. มาตัดที่มีความยาว 12 ซม. มาล้างน้ำคลอรีน 100 และ $200 \mu\text{l l}^{-1}$ แล้วนำมาล้างน้ำเปล่า ประมาณ 5 นาที ผึ่งให้แห้ง ใส่ถุงพลาสติก ชั่งน้ำหนักประมาณ 200 กรัม/หน่วยทดลอง ทั้งหมด 24 หน่วยทดลอง

2. นำหน่อไม้ฝรั่งจากโรงคัดคุณภาพหน่อของผู้รวบรวมผลผลิตในการทดลองที่ 3 นำทริทเมนต์ที่ผ่านการแช่คลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ความยาว 12 ซม. ใส่ถุงพลาสติกชั่งน้ำหนักประมาณ 200 กรัม/หน่วยทดลอง ทั้งหมด 12 หน่วยทดลอง

3. นำไปตรวจเชื้อตามภาคผนวก ข.

นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

การทดลองนี้เป็นการศึกษาการลดการปนเปื้อนของ Coliform และ *Escherichia coli* ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก ตั้งแต่แปลงปลูกของเกษตรกร จนถึงโรงคัดบรรจุของผู้รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก ในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว จึงได้มีการเก็บตัวอย่างจากระดับแปลง จนถึง จุดผู้รวบรวมผลผลิต และโรงคัดบรรจุของผู้ส่งออก ตามแผนภูมิการสุ่มตัวอย่างในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนภูมิการสุ่มตัวอย่าง ณ ระดับแปลงเกษตรกร จุดผู้รวบรวมผลผลิต และโรงคัดบรรจุผู้ส่งออก

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองที่ บริษัท กำแพงแสน คอมเมอร์เชียล จำกัด และแปลงหน่อไม้ฝรั่งที่ ต. พุ่ม
ขวาง อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2547

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจปริมาณการปนเปื้อน *Coliform bacteria* และ *E. coli* ของวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูก 3 จุด

ลักษณะทั่วไปของแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งในเขตภาคตะวันตก ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ราบและเป็นแปลงเปิด น้ำใช้ในแปลงสูบน้ำจากน้ำคลองชลประทาน หรือจากบ่อน้ำใต้ดิน เกษตรกรบำรุงดินโดยอาจใส่ปุ๋ยอินทรีย์และ/หรือปุ๋ยเคมีตามความต้องการของพืช เกษตรกรให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ และพบว่าส่วนใหญ่เกษตรกรให้น้ำแบบสปริงเกอร์ หลังจากหน่อไม้ฝรั่งเริ่มแทงยอดหน่อโผล่พ้นดินประมาณ 3 ซม. เกษตรกรจะนำหมวกพลาสติกรูปทรงกรวย ขาวประมาณ 4-5 ซม. มาครอบยอดดังกล่าว เพื่อลดการบานของกลีบเลี้ยงที่ปลายยอด ทำให้ได้ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งมียอดตรงตามลักษณะที่ตลาดต้องการ เมื่อหน่อไม้ฝรั่งที่แทงหน่อมีความยาวประมาณ 25 ซม. หรือหลังจากครอบหมวกประมาณ 2-3 วัน เกษตรกรจึงเก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งที่ได้ขนาดตามที่ต้องการ พื้นที่รอบแปลงทั้ง 3 ราย ล้อมด้วยแปลงอ้อย หรือต่อเนื่องกับแปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรรายอื่น เกษตรกรทั้ง 3 ราย ใช้น้ำจากคลองชลประทานโดยวิธีพ่นฝอย แต่น้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งหลังจากตัดโคนออกนั้น ใช้น้ำประปา 2 ราย (รายที่ 1 และ 3) และล้างโดยใช้น้ำคลองชลประทาน 1 ราย (รายที่ 2) ทั้ง 3 รายไม่มีการใช้สารฆ่าเชื้อในการล้างหน่อไม้ฝรั่ง

1.1 การสำรวจการปนเปื้อนวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูกในฤดูฝน

การปนเปื้อนของ *Coliform* และ *E. coli* โดยเฉลี่ยในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในฤดูฝนพบว่าการปนเปื้อนของ *Coliform* และ *E. coli* มีความแตกต่างกันมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 3) โดยหมวกครอบพลาสติก และตะกร้ามีการปนเปื้อน *Coliform* มากที่สุดเกือบ $6 \log_{10} \text{cfu}$ ในขณะที่น้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งไม่พบการปนเปื้อน *Coliform* และพบการปนเปื้อน *E. coli* ในหมวกพลาสติกมากที่สุดเป็นปริมาณ $5.04 \log_{10} \text{cfu}$ ส่วนตะกร้าพบการปนเปื้อน *E. coli* ในปริมาณ $0.47 \log_{10} \text{cfu}$ ขณะที่ไม่พบการปนเปื้อน *E. coli* ในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่ง

การปนเปื้อนของ Coliform ระหว่างแปลงหน่อไม้ฝรั่งไม่แตกต่างกัน ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าแปลงที่ 2 มีการปนเปื้อนมากที่สุด $5.04 \log_{10}\text{cfu}$ ขณะที่แปลงที่ 1 ไม่พบการปนเปื้อน (ตารางที่ 3)

การวิเคราะห์หัตถิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรรมมีผลต่อการปนเปื้อน *E. coli* ในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งต่างๆ (ตารางที่ 3) โดยแปลงที่ 2 พบมากในหมวกพลาสติก ขณะที่แปลงที่ 1 และ 3 ไม่พบการปนเปื้อนในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งทุกชนิด (ตารางผนวกที่ 1)

1.2 การสำรวจการปนเปื้อนวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูกในฤดูหนาว

การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* โดยเฉลี่ยในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในฤดูหนาวพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) โดยหมวกครอบพลาสติกมีการปนเปื้อน Coliform มากที่สุดเป็นจำนวน $6 \log_{10}\text{cfu}$ ตะกร้ามีการปนเปื้อน $5.94 \log_{10}\text{cfu}$ และน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด $4.44 \log_{10}\text{cfu}/100 \text{ ml}$. ในขณะที่ *E. coli* มีการปนเปื้อนไม่แตกต่างโดยพบปริมาณ *E. coli* ในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่ง $0.11 \log_{10}\text{cfu}/100 \text{ ml}$. และไม่พบการปนเปื้อนในหมวกครอบพลาสติกและตะกร้า

การปนเปื้อนของ Coliform ระหว่างแปลงหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) พบว่าแปลงที่ 1 และ แปลงที่ 3 มีการปนเปื้อนใกล้เคียงกัน $5.82 - 5.84 \log_{10}\text{cfu}$ ในขณะที่แปลงที่ 2 มีการปนเปื้อน $5.74 \log_{10}\text{cfu}$ ส่วนการปนเปื้อนของ *E. coli* ไม่แตกต่างกันโดยแปลงที่ 3 พบปริมาณ *E. coli* $0.11 \log_{10}\text{cfu}$ และไม่พบการปนเปื้อนในแปลงที่ 1 และ 2

การวิเคราะห์หัตถิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรรมมีผลต่อการปนเปื้อน Coliform ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 3) โดยแปลงที่ 3 มีการปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งมาก ขณะที่แปลงที่ 1 และ 2 พบ Coliform ปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งเพียงเล็กน้อย (ตารางผนวกที่ 2)

1.3 การสำรวจการปนเปื้อนวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูกในฤดูร้อน

การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* โดยเฉลี่ยในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในฤดูร้อนพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 3) โดยหวนกรอบพลาสติกมีการปนเปื้อน Coliform มากที่สุด $6 \log_{10}\text{cfu}$ ตะกร้ามีการปนเปื้อน $5.96 \log_{10}\text{cfu}$ และน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด $0.84 \log_{10}\text{cfu}/100 \text{ ml}$ ในขณะที่ *E. coli* การปนเปื้อนค่อนข้างแปรปรวนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยพบปริมาณ *E. coli* ในหวนกรอบพลาสติกและตะกร้า 5.22 และ $5.14 \log_{10}\text{cfu/g}$ และไม่พบการปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่ง

การปนเปื้อนของ Coliform ระหว่างแปลงหน่อไม้ฝรั่งใกล้เคียงกันแต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง $5.76 - 5.82 \log_{10}\text{cfu}$ (ตารางที่ 3) ในขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยแปลงที่ 2 พบมากที่สุด $5.34 \log_{10}\text{cfu}$ และแปลงที่ 1 พบ $4.92 \log_{10}\text{cfu}$ และไม่พบการปนเปื้อนในแปลงที่ 3

การวิเคราะห์หัตถิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรรมมีผลต่อการปนเปื้อน Coliform ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 3) แต่ละแปลงพบปริมาณการปนเปื้อน Coliform ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งแตกต่างกัน โดยแปลงที่ 1 และ 2 พบการปนเปื้อนในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งทุกชนิดมากกว่าแปลงที่ 3 (ตารางผนวกที่ 3)

ตารางที่ 3 การปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ *E. coli* ของวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส
หน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูก 3 ฤดู

วัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัส หน่อไม้ฝรั่ง	ฤดูฝน		ฤดูแล้ง		ฤดูร้อน	
	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>
	(log ₁₀ cfu)	(log ₁₀ cfu)	(log ₁₀ cfu)	(log ₁₀ cfu)	(log ₁₀ cfu)	(log ₁₀ cfu)
หมวกพลาสติก	5.98 ^{a1/}	5.04 ^{a1/}	6 ^{a1/}	0	6 ^{a1/}	5.22
ตะกร้า	5.95 ^a	0.47 ^b	5.94 ^b	0	5.96 ^b	5.14
น้ำ	0 ^b	0 ^c	4.44 ^c	0.11	0.84 ^c	0
แปลงเกษตรกร						
1	5.82	0 ^c	5.82 ^a	0	5.82 ^a	4.92 ^{ab}
2	5.81	5.04 ^a	5.74 ^b	0	5.82 ^a	5.34 ^a
3	5.75	0.75 ^b	5.84 ^a	0.11	5.76 ^b	0 ^b

ปัจจัยในการทดลอง ฤดูฝน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่ง	0.0001	0.0001
แปลงเกษตรกร	0.25	0.0001
วัสดุ×แปลงเกษตรกร	0.09	0.0001

ปัจจัยในการทดลอง ฤดูแล้ง	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่ง	0.0001	0.14
แปลงเกษตรกร	0.008	0.18
วัสดุ×แปลงเกษตรกร	0.01	0.14

ปัจจัยในการทดลอง ฤดูร้อน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่ง	0.0001	0.17
แปลงเกษตรกร	0.001	0.05
วัสดุ×แปลงเกษตรกร	0.0001	0.34

^{1/}ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เดียวกันในแนวดิ่งในปัจจัยเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

P>0.05 = ไม่แตกต่างทางสถิติ (ns)

0.01≤P≤0.05 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

P≤0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การสำรวจการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* ในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งทั้ง 3 จุด ซึ่งให้เห็นว่าหวมกรอบพลาสติกและตะกร้า ปนเปื้อนมากทั้งนี้เนื่องจากก่อนปฏิบัติงานเกษตรกรไม่ได้ทำความสะอาดหวมกรอบพลาสติกและ ตะกร้าอย่างเพียงพอจึงทำให้พบเศษดินและคราบสกปรกติดอยู่ที่พื้นผิวของอุปกรณ์ดังกล่าว และใน ถุดพบพบว่าหวมกรอบพลาสติกครอบหน่อไม้ฝรั่งมีน้ำสกปรกเกาะอยู่ด้านในหวมทำให้เกิดการ ปนเปื้อนของจุลินทรีย์ Coliform และ *E. coli* มากที่บริเวณยอดหน่อไม้ฝรั่ง ดังนั้นในฤดูฝนควร เน้นให้เกษตรกรทำความสะอาดหวมกรอบให้มากขึ้นหรือเปลี่ยนหวมกรอบใหม่ทุกวัน เพื่อลด การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สัมผัสกับหน่อไม้ฝรั่ง สำหรับฤดูหนาวพบปริมาณ Coliform สูง แต่ไม่ พบการปนเปื้อน *E. coli* ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งทุกแปลง เนื่องจากก่อนปฏิบัติงาน พบว่าหวมกรอบพลาสติกมีสีขาวขุ่น และตะกร้ามีดินปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย ซึ่งจากการสำรวจพบว่าได้ มีการทำความสะอาดอุปกรณ์ดังกล่าวด้วยน้ำมาแล้ว ขณะที่ฤดูร้อนในการสำรวจพบการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* สูง ในแปลงที่ 1 และ 2 เนื่องจากก่อนปฏิบัติงานเกษตรกรไม่ได้ทำความสะอาด อุปกรณ์ จึงทำให้พบ Coliform และ *E. coli* สูง โดยทั่วไปเกษตรกรมีการใช้น้ำประปาล้าง อุปกรณ์แต่ไม่มีการใช้สารฆ่าเชื้อ ดังนั้นเกษตรกรควรทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัส หน่อไม้ฝรั่งก่อนและหลังปฏิบัติงานด้วยน้ำประปาและใช้สารฆ่าเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการ ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งพบการปนเปื้อน Coliform น้อยมาก ยกเว้นฤดูหนาว พบการปนเปื้อนสูง ปริมาณ Coliform ที่พบโดยส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่า $1.28 \log_{10} \text{cfu}/100 \text{ ml}$ หรือ น้อยกว่า 1.32 MPN/100 ml. แต่มีเพียงหน่วยทดลองเดียวที่พบการปนเปื้อนสูงถึง $5.52 \log_{10} \text{cfu}/100 \text{ ml}$ จึงทำให้ปริมาณ Coliform ที่พบโดยเฉลี่ยในน้ำล้างหน่อไม้ฝรั่งสูงกว่าทุกฤดู ในภาพรวมปริมาณ Coliform ที่พบโดยส่วนใหญ่มีแนวโน้มที่ไม่สูงมาก และส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำบาดาล ที่จะใช้บริโภค ซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 2.2 MPN/100 ml. (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2532) เป็นที่น่า สังเกตว่าในฤดูฝนและฤดูร้อนพบการปนเปื้อน *E. coli* ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งสูงกว่า ฤดูหนาวแสดงว่าความชื้นสูงและอุณหภูมิสูงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามปริมาณ Coliform และ *E. coli* ที่พบในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งให้เห็นถึงการสุขาภิบาลเท่านั้น สำหรับการปนเปื้อนของ *E. coli* ในน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งพบ น้อยมากไม่เกิน $0.11 \log_{10} \text{cfu}/100 \text{ ml}$. เนื่องจากน้ำที่เกษตรกรใช้ล้างเป็นน้ำประปาหมู่บ้านซึ่งมี ระบบกรองน้ำจึงพบการปนเปื้อนน้อย เมื่อแปรค่าเป็น Most Probable Number (MPN) ได้ ค่าน้อย มาก หรือแปลได้ว่าไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ซึ่งสอดคล้องกับคุณภาพที่กำหนดไว้ใน มาตรฐานน้ำบาดาลที่จะใช้บริโภคได้ ของกระทรวงอุตสาหกรรม (2532) ต้องไม่พบ *E. coli*

ปนเปื้อน เช่นเดียวกับข้อกำหนด GAP ของประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (EUREPGAP, 2004) ซึ่งกำหนดให้น้ำที่ใช้ในแปลงผลิตพืชผักมีคุณภาพที่สะอาด ส่วนน้ำที่ใช้ล้างต้องมีคุณภาพที่เหมาะสม และเทียบเท่าคุณภาพน้ำที่ใช้ในการบริโภค เป็นที่น่าสังเกตว่าในฤดูหนาวแปลงเกษตรกรรายที่ 3 มีปริมาณ Coliform ปนเปื้อนมากในน้ำ (ตารางที่ 3 และ ตารางผนวกที่ 2) ซึ่งน้ำที่ใช้มาจากน้ำประปาหมู่บ้าน สาเหตุน่าจะมาจากการดูแลรักษาความสะอาดระบบกรองน้ำไม่เพียงพอจึงทำให้พบการปนเปื้อน Coliform ในน้ำสูงกว่าแปลงอื่น

เมื่อพิจารณาการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ที่แปลงเกษตรกร 3 ราย ทั้ง 3 ฤดูพบว่า แปลงเกษตรกรรายที่ 3 มีการปนเปื้อนน้อย เนื่องจากเกษตรกรดังกล่าวได้นำเอาหลักการ GAP (Good Agricultural Practice) ระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งระดับเกษตรกร (กรมวิชาการเกษตร, 2549) มาประยุกต์ใช้อย่างจริงจัง โดยเกษตรกรรายนี้ให้ความสำคัญเกี่ยวกับความสะอาดในแปลง และแบ่งแยกพื้นที่สำหรับทำความสะอาดอุปกรณ์อย่างชัดเจน และทางระบายน้ำจากพื้นที่ทำความสะอาดอุปกรณ์ไม่ไหลย้อนกลับเข้าไปในแปลง ขณะที่แปลงเกษตรกรรายที่ 2 มีการปนเปื้อนมากที่สุด เนื่องจากเกษตรกรขาดการเอาใจใส่การทำความสะอาดแปลงและวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งอย่างสม่ำเสมอและใช้น้ำชลประทานในการทำทำความสะอาดอุปกรณ์และหน่อไม้ฝรั่งรวมถึงไม่มีการแบ่งแยกพื้นที่สำหรับทำความสะอาดอุปกรณ์อย่างชัดเจน ซึ่งใช้บริเวณใกล้เคียงกับแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ขณะที่รายที่ 1 ได้มีการนำหลักการ GAP ไปปฏิบัติเช่นเดียวกัน แต่ขณะที่ทำการสำรวจพบว่าฤดูร้อนมีการปนเปื้อนของ *E. coli* สูงกว่ารายที่ 3 เนื่องจากเกษตรกรไม่ปฏิบัติตามระเบียบอย่างเคร่งครัด

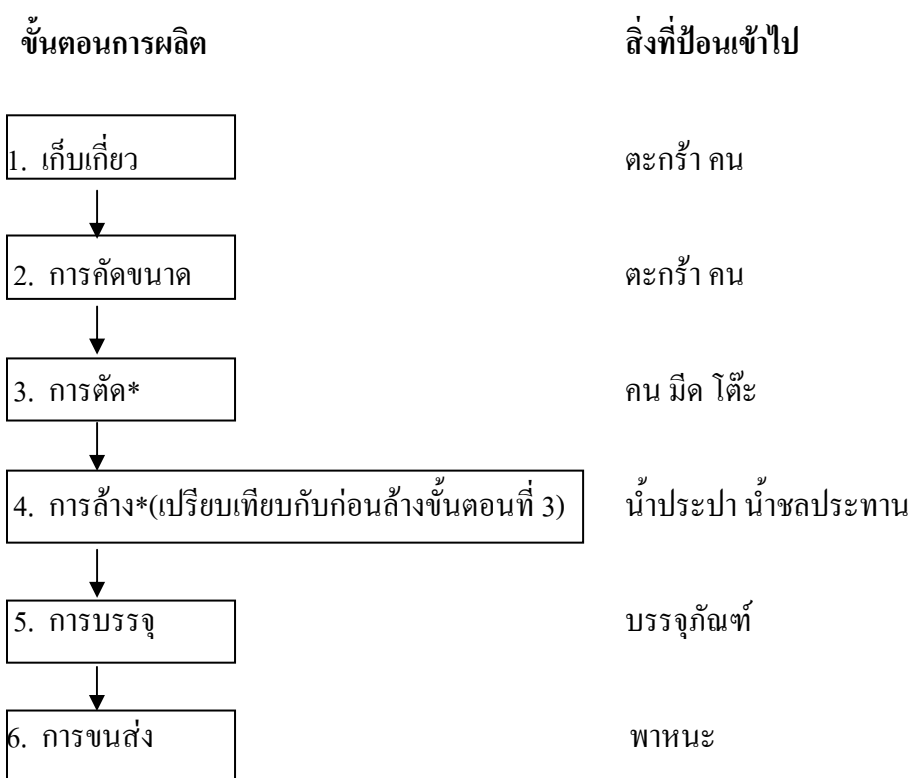
นอกเหนือจากการนำหลักการ GAP ไปประยุกต์ใช้ในแปลงเกษตรกรความซื่อสัตย์และความจริงจังหรือเคร่งครัดต่อกฎระเบียบของเกษตรกรที่มีต่อกลุ่มผู้รับซื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญเช่นกัน ดังนั้นกลุ่มผู้รับซื้อที่มีข้อกำหนดด้านความสะอาดที่แตกต่างกันควรสร้างบรรทัดฐานให้เป็นแบบอย่างเดียวกันเพื่อให้เกษตรกรตระหนักถึงการรักษาความสะอาดอย่างต่อเนื่อง โดยหน่วยงานของรัฐหรือองค์กรที่ 3 (third party) ควรจะเข้าไปตรวจติดตามอย่างเป็นระบบโดยสม่ำเสมอ ตลอดจนให้ความเข้าใจให้กับเกษตรกรเพื่อยกระดับระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งต่อไป

2 การศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลงเกษตรกรใน

3 อุตุ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ณ ระดับแปลงเกษตรกร

เกษตรกรทำการเก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งโดยถอนหน่อไม้ฝรั่งที่มีลำต้นสีเขียวขนาดยาวประมาณ 25 ซม. ใส่ตะกร้าแล้วนำมาคัดเลือกขนาดและลักษณะที่ตรงตามความต้องการบนโต๊ะสำหรับตัดและคัดขนาด หลังจากตัดโคนออกจนได้ความยาวตามต้องการแล้ว เกษตรกรจะนำไปล้างด้วยน้ำประปาหรือน้ำจากคลองชลประทานที่บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งเพื่อล้างดินออก ตามแผนภูมิแสดงการปฏิบัติงานหลังการเก็บเกี่ยวในภาพที่ 3 ในการทดลองนี้ได้สุ่มตัวอย่างในขั้นตอนหลังจากตัดหน่อไม้ฝรั่งแล้วก่อนล้างน้ำ (control) หรือขั้นตอนที่ผ่านการล้างน้ำแล้ว



ภาพที่ 3 แผนภูมิการผลิต ณ การบรรจุที่ระดับแปลงเกษตรกร

หมายเหตุ * ขั้นตอนที่สุ่มตัวอย่าง

2.1 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลงเกษตรกรในฤดูฝน

ในฤดูฝนการล้างหรือไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรพบการปนเปื้อนของจำนวน Coliform และ *E. coli* ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) โดยพบการปนเปื้อน Coliform อยู่ในช่วง 4.6 - 4.9 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาไม่เกิน 0.9 $\log_{10}\text{cfu/g}$

การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* ระหว่างหน่อไม้ฝรั่งในแปลงเกษตรกรแต่ละรายไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) ประมาณ 4.73 - 4.86 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* พบอยู่ในช่วง 0 - 1.09 $\log_{10}\text{cfu/g}$

2.2 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลงเกษตรกรในฤดูหนาว

ในฤดูหนาวการล้างหรือไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรพบว่าการปนเปื้อนของจำนวน Coliform และ *E. coli* ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) โดยพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำประปามีการปนเปื้อน 4.66 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งก่อนล้างที่แปลงเกษตรกรพบการปนเปื้อน 4.21 $\log_{10}\text{cfu/g}$ และการปนเปื้อนของ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรพบ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา 0.76 $\log_{10}\text{cfu/g}$ และก่อนล้างหน่อไม้ฝรั่งพบการปนเปื้อน 0.39 $\log_{10}\text{cfu/g}$

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) โดยพบ Coliform ปนเปื้อน 4.43 - 4.56 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* ในแปลงหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 4) โดยพบว่าแปลงที่ 3 มีการปนเปื้อนของ *E. coli* 1.0 $\log_{10}\text{cfu/g}$ สูงกว่าแปลงอื่น

การวิเคราะห์หัตถิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรมีผลต่อการปนเปื้อน *E. coli* ในการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 4) พบว่าการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่งแปลงที่ 3 พบ *E. coli* ปนเปื้อนมากกว่าแปลงอื่น (ตารางผนวกที่ 4)

2.3 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลงเกษตรกรในฤดูร้อน

ในฤดูร้อนการล้างทำความสะอาดหรือไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรพบว่าการปนเปื้อนไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) พบว่าหน่อไม้ฝรั่งก่อนหรือหลังการล้างน้ำมีการปนเปื้อน Coliform $4.7-5 \log_{10}\text{cfu/g}$ และพบการปนเปื้อน *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งหลังล้างน้ำ $4.92 \log_{10}\text{cfu/g}$ ในขณะที่ไม่พบการปนเปื้อนหน่อไม้ฝรั่งก่อนการล้างแต่การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกัน การพบปริมาณ *E. coli* หลังล้างน้ำไม่แตกต่างจากก่อนล้างนั้นเนื่องจากปริมาณ *E. coli* ที่พบหลังล้างน้ำโดยส่วนใหญ่น้อยกว่า $1.69 \log_{10}\text{cfu/g}$ ส่วนปริมาณที่พบ $3 \log_{10}\text{cfu/g}$ มีเพียงเล็กน้อย และมีเพียงหน่วยทดลองเดียวที่พบสูงถึง $6 \log_{10}\text{cfu/g}$ จึงทำให้ปริมาณ *E. coli* ที่พบก่อนล้างและหลังล้างน้ำไม่แตกต่างกัน

การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งระหว่างแปลงเกษตรกรไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) โดยพบ Coliform ในแปลงอยู่ในปริมาณ $4.73 - 4.95 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* ในแปลงที่ 2 มี *E. coli* ปนเปื้อนมากที่สุดคือปริมาณ $5.09 \log_{10}\text{cfu/g}$

ตารางที่ 4 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ แปลง
เกษตรกรใน 3 จุด

การล้าง	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน	
	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>
	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)
Control (ก่อน ล้าง)	4.61	0	4.21	0.39	4.69	0
หลังล้างน้ำ	4.91	0.9	4.66	0.76	4.98	4.92
แปลงเกษตรกร						
1	4.73	0	4.47	0 ^{b1/}	4.85	0.69
2	4.75	1.09	4.43	0.39 ^b	4.95	5.09
3	4.86	0	4.56	1 ^a	4.73	2.13

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูฝน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.09	0.10
แปลง	0.79	0.09
การล้าง×แปลง	0.28	0.09

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูหนาว	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.13	0.19
แปลง	0.91	0.01
การล้าง×แปลง	0.72	0.01

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูร้อน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.21	0.32
แปลง	0.74	0.38
การล้าง×แปลง	0.06	0.38

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เดียวกันในแนวตั้งในปัจจัยเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

P>0.05 = ไม่แตกต่างทางสถิติ (ns)

0.01≤P≤0.05 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

P≤0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* ในการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรทั้ง 3 ฤดู พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างน้ำประปามีการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* สูงกว่าหน่อไม้ฝรั่งก่อนล้างโดยเฉลี่ย $0.29 - 0.45 \log_{10}\text{cfu/g}$ และ $0.32 - 4.92 \log_{10}\text{cfu/g}$ ตามลำดับ แสดงว่าการล้าง ณ แปลงเกษตรกรนอกจากไม่สามารถลดปริมาณ Coliform และ *E. coli* แล้วอาจทำให้มีการปนเปื้อนมากขึ้น สาเหตุของการปนเปื้อนน่าจะมาจากวิธีการล้างหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร โดยทั่วไปการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงเกษตรกรนั้นทำการล้างที่บริเวณโคนที่เปื้อนดินเท่านั้นซึ่งเกษตรกรจะนำหน่อไม้ฝรั่งประมาณ 800 – 1000 กรัม มาล้างโดยเปิดน้ำไหลเพื่อล้างดินออก เมื่อพบดินติดมากเกษตรกรจะใช้มือถูเพื่อให้ดินออก ดังนั้นการล้างด้วยวิธีนี้ทำให้มีโอกาสที่เศษดินปนเปื้อนติดไปได้ เนื่องจากการล้าง ณ แปลงเกษตรกรในขณะนี้เป็นהל้างเพื่อลดการปนเปื้อนจากอันตรายทางด้านกายภาพ ได้แก่ เศษดิน เศษหญ้า เศษไม้ เศษพลาสติก อื่น ๆ ที่มองเห็นด้วยตาเปล่ามากกว่าเป็นการล้างเพื่อลดอันตรายทางด้านจุลินทรีย์ การปนเปื้อนจุลินทรีย์ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งก่อนล้างและหลังล้างน้ำที่แปลงเกษตรกรมีค่า $4.21 - 4.98 \log_{10}\text{cfu/g}$ นับได้ว่าเป็นปริมาณที่พบโดยทั่วไป ซึ่ง รุ่งนภา และ คณะ (2546) รายงานว่าพบ Coliform ในข้าวโพดฝักอ่อนที่ปอกเปลือกแล้วอยู่ในช่วง $2.7 - 4.6 \log_{10}\text{cfu/g}$ ดังนั้นหากโรงงานมีความประสงค์ให้การล้าง ณ ระดับแปลงเกษตรกรเป็นการล้างเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก็ควรแนะนำให้มีการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่ถูกวิธีและใช้สารฆ่าเชื้อที่เหมาะสมโดยเฉพาะฤดูร้อน

หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างแล้วในฤดูร้อนมีการปนเปื้อนสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดเนื่องจากในการทดลองนี้ทำการสุ่มตัวอย่างที่ระดับแปลงเกษตรกรซึ่งก่อนล้างไม่พบการปนเปื้อน *E. coli* ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ *E. coli* ก่อนล้างทั้ง 3 ฤดู มีค่า $0 - 0.39 \log_{10}\text{cfu/g}$ หรือแปลผลได้ว่าพบการปนเปื้อนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้โดยเกณฑ์คุณภาพจุลชีววิทยาของอาหารกำหนดให้ปริมาณ *E. coli* ในอาหารดิบประเภทผัก ผลไม้ ที่ล้างแล้ว ต้องไม่เกิน 10 MPN/g หรือ $1.27 \log_{10}\text{cfu/g}$ (กระทรวงสาธารณสุข, 2522) แต่หลังการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่งมีโอกาสพบการปนเปื้อน *E. coli* ที่สูงเกินเกณฑ์มาตรฐาน ดังนั้นในฤดูร้อนจึงควรใช้สารฆ่าเชื้อในการล้างที่แปลงเกษตรกร เนื่องจากมีแนวโน้มพบ *E. coli* สูงกว่าฤดูอื่น

เมื่อเปรียบเทียบการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งระหว่างแปลงของเกษตรกร พบว่าการปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งใกล้เคียงกัน แต่พบว่าเกษตรกรรายที่ 2 มีแนวโน้มพบการปนเปื้อนสูงสุด เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ซึ่งสาเหตุการปนเปื้อนของเกษตรกรรายที่ 2 สูงกว่ารายที่ 1 และ 3 มาจากการล้างทำความสะอาดไม่ดีพอและแหล่งน้ำที่ใช้ล้างเนื่องจากเป็นน้ำคลองชลประทาน สาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งคือสุขลักษณะส่วนบุคคลและการทำความสะอาด

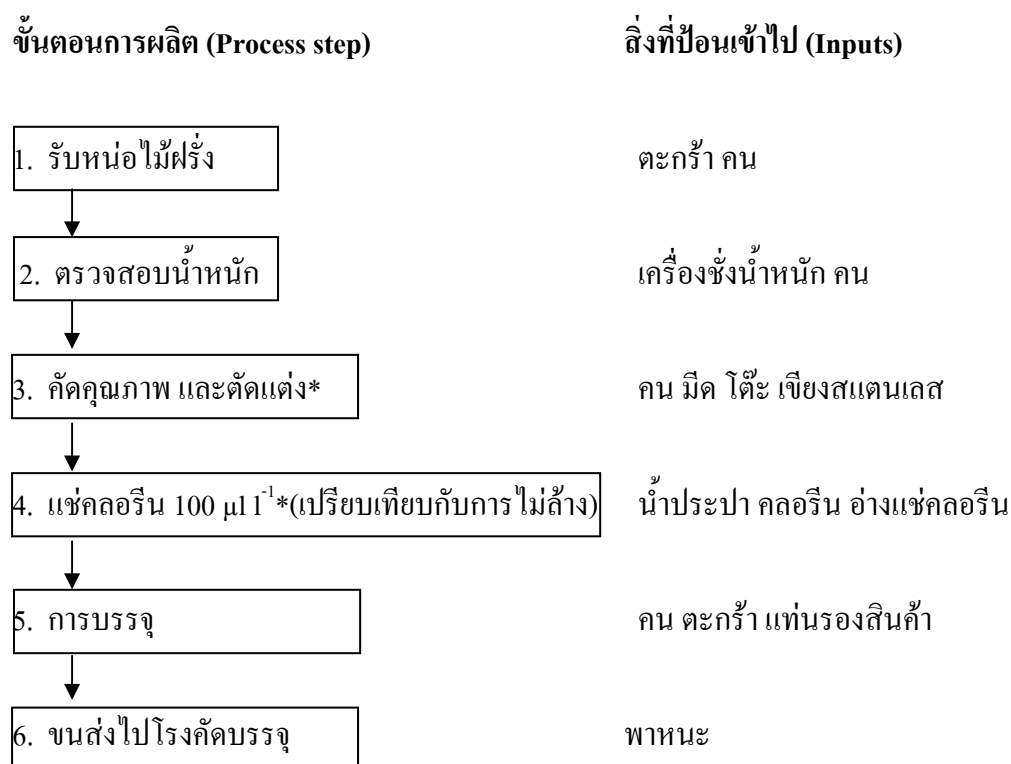
สะอาดอุปกรณ์ของเกษตรกรแต่ละรายแตกต่างกันซึ่งจากการสำรวจความสะอาดของวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งในแปลงปลูกนั้นพบว่าเกษตรกรรายที่ 2 มีการเอาใจใส่ในเรื่องดังกล่าวน้อยกว่ารายที่ 1 และ 3

อย่างไรก็ตามการปนเปื้อน Coliform $4-6 \log_{10} \text{cfu/g}$ ใกล้เคียงกับผักสดที่ยังไม่ผ่านการแปรรูปซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ตามธรรมชาติมากกว่า $6 \log_{10} \text{cfu/g}$ ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน Viswanathan and Kaur (2001) พบปริมาณ Coliform ในผักสดที่ไม่ผ่านการแปรรูป $6-9 \log_{10} \text{cfu/g}$ และพบในผลไม้สด $4-7 \log_{10} \text{cfu/g}$ ดังนั้นการปฏิบัติของเกษตรกรทั้ง 3 ราย ในปัจจุบันระหว่างการดูแลรักษาและการล้างหน่อไม้ฝรั่งจึงจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ในระดับสากล

3 การศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดคุณภาพของผู้รวบรวมผลผลิตใน 3 จุด

การวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ณ ระดับโรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต

เกษตรกรนำหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการทำความสะอาดใส่ภาชนะ และขนส่งไปโรงคัดคุณภาพที่จุดของผู้รวบรวมผลผลิตโดยพนักงานที่จุดรวบรวมผลผลิตจะรับหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรเพื่อนำไปตรวจสอบน้ำหนักคัดคุณภาพและตัดแต่งตามคุณลักษณะเฉพาะ (Specification) ของบริษัทที่รับซื้อ นำหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการตัดแต่งจะถูกนำมาแช่น้ำคลอรีนที่มีความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ เป็นเวลา 5 นาที โดยจุ่มแช่ล้างน้ำคลอรีนเฉพาะบริเวณโคน จากนั้นนำไปผึ่งพองหมาด บรรจุใส่ภาชนะ และขนส่งไปโรงคัดบรรจุ ตามแผนภูมิในภาพที่ 4 ในการทดลองนี้ได้สุ่มตัวอย่างในขั้นตอนหลังจากคัดคุณภาพและตัดหน่อไม้ฝรั่งแล้วก่อนแช่คลอรีน (ก่อนการล้าง control) หรือขั้นตอนที่ผ่านการแช่คลอรีนที่บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่ง เป็นเวลา 5 นาที (หลังการล้าง)



ภาพที่ 4 แผนภูมิการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง ณ ระดับผู้รวบรวมผลผลิต

หมายเหตุ * ขั้นตอนที่สุ่มตัวอย่าง

3.1 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตในฤดูฝน

ในฤดูฝนการล้างหรือไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตพบการปนเปื้อนของ Coliform แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 5) โดยพบว่าการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดของผู้รวบรวมผลผลิตมีจำนวน Coliform $4.57 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ลดการปนเปื้อนเหลือเพียง $2.75 \log_{10}\text{cfu/g}$ ส่วนการปนเปื้อนของ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพผู้รวบรวมผลผลิตก่อนหรือหลังการล้างไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 5) หน่อไม้ฝรั่งมี *E. coli* ปนเปื้อนไม่เกิน $0.39 \log_{10}\text{cfu/g}$

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกรต่างๆ ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 5) โดยพบว่าแปลงที่ 2 มี

Coliform ปนเปื้อนมากที่สุด $4.6 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* ในแปลงที่ 1 และ 3 มี *E. coli* ปนเปื้อนไม่แตกต่างกัน

การวิเคราะห์หัตถิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรรมมีผลต่อการปนเปื้อน Coliform ในการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 5) พบว่าการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่งที่บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ลดการปนเปื้อน Coliform ได้ทุกแปลง แต่แปลงเกษตรกรรายที่ 2 ยังคงมีการปนเปื้อนมากที่สุดหลังการทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางผนวกที่ 5)

3.2 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตในฤดูหนาว

ในฤดูหนาวการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตให้ผลไม่แตกต่างกันจากการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 5) โดยพบ Coliform จำนวน $5.23 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที มีการปนเปื้อน Coliform ลดลงเล็กน้อย พบในจำนวน $4.65 \log_{10}\text{cfu/g}$ สำหรับการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตไม่พบการปนเปื้อน ของ *E. coli*

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกร ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 5) โดยพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากทุกแปลงมี Coliform ปนเปื้อน $4.73 \log_{10}\text{cfu/g}$ - $5.25 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่มาจากทุกแปลงไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ไม่ว่าจะล้างน้ำหรือไม่ล้างน้ำก็ตาม

3.3 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตในฤดูร้อน

ในฤดูร้อนการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 5) โดยพบว่าการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตมี Coliform เป็นจำนวน $4.69 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที มีการปนเปื้อนมากขึ้นเป็นจำนวน $5.55 \log_{10}\text{cfu/g}$ สำหรับการล้างหน่อไม้ฝรั่งพบการปนเปื้อน ของ *E. coli* แม้จะไม่แตกต่างกันโดยค่าทาง

สถิติแต่มีแนวโน้มการปนเปื้อนลดลง (ตารางที่ 5) โดยพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที มีการปนเปื้อน *E. coli* เป็นจำนวน $0.82 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตมี *E. coli* ปนเปื้อนเป็นจำนวน $1.15 \log_{10}\text{cfu/g}$

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกรต่างกัน ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตมีการปนเปื้อนแต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5) โดยพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 1 มี Coliform ปนเปื้อนมากที่สุดเป็นจำนวน $5.53 \log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 2 และ 3 พบการปนเปื้อนไม่แตกต่างกันโดยพบจำนวน Coliform ที่ 5.09 และ $5.17 \log_{10}\text{cfu/g}$ ตามลำดับ สำหรับการปนเปื้อนของ *E. coli* ไม่มีความแตกต่างเช่นกัน (ตารางที่ 5) แต่แปลงที่ 3 มีแนวโน้มของการปนเปื้อนมากกว่าแปลงอื่น

การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรมีผลต่อการปนเปื้อน Coliform ในการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 5) พบว่าการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่งที่บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ทำให้ปริมาณ Coliform สูงขึ้นทุกแปลง (ตารางผนวกที่ 6)

ตารางที่ 5 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัด
คุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตใน 3 จุด

การล้างที่จุดผู้ รวบรวมผลผลิต	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน	
	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>
	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)
control	4.57 ^{a1/}	0.39	5.23	0	4.69 ^{b1/}	1.15
100 µl l ⁻¹ 5 min	2.75 ^b	0	4.65	0	5.55 ^a	0.82
แปลงเกษตรกร						
1	2.48 ^b	0	5.25	0	5.53 ^a	0
2	4.6 ^a	0.57	4.97	0	5.09 ^b	0.94
3	4.2 ^a	0	4.73	0	5.17 ^b	1.35
ปัจจัยในการ ทดลองฤดูฝน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test					
	Coliform		<i>E. coli</i>			
การล้าง	0.0008		0.13			
แปลง	0.007		0.11			
การล้าง×แปลง	0.009		0.11			
ปัจจัยในการ ทดลองฤดูหนาว	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test					
	Coliform		<i>E. coli</i>			
การล้าง	0.15		-			
แปลง	0.48		-			
การล้าง×แปลง	0.13		-			
ปัจจัยในการ ทดลองฤดูร้อน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test					
	Coliform		<i>E. coli</i>			
การล้าง	0.0001		0.63			
แปลง	0.004		0.49			
การล้าง×แปลง	0.02		0.31			

^{1/}ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เดียวกันในแนวดังในปัจจัยเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

P>0.05 = ไม่แตกต่างทางสถิติ (ns)

0.01≤P≤0.05 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

P≤0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อเปรียบเทียบการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ในการล้างโคนหน่อไม้ฝรั่งด้วย น้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ เป็นเวลา 5 นาที ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตทั้ง 3 จุด ของทุกแปลง พบว่า การล้างลดการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ลงในฤดูฝน ในฤดูหนาวไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* และการล้างลดปริมาณ Coliform ลงเพียงเล็กน้อย ส่วนในฤดูร้อนการล้างทำให้มีการปนเปื้อน Coliform มากขึ้น โดยสูงขึ้นไม่เกิน $1 \log_{10}\text{cfu/g}$ ทั้งนี้อาจเนื่องจากโรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตนั้นมีการควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคลหรือการทำความสะอาดอุปกรณ์ยังไม่ดีเพียงพอ จึงทำให้เกิดจากการปนเปื้อน เช่น ตะกร้าที่ใส่หน่อไม้ฝรั่งหลังล้างยังไม่สะอาดเพียงพอ พนักงานที่ล้างไม่ได้ล้างมือหรือไม่ใส่ถุงมือ ดังนั้นในฤดูร้อนที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต ควรเพิ่มความเข้มข้นคลอรีนและควบคุมขั้นตอนการล้างให้มากขึ้น

การศึกษาการลดการปนเปื้อน Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งในที่นี้เมื่อเทียบกับรายงานของ Soriano *et al.* (2000) ที่ได้ศึกษาการลดการปนเปื้อน Coliform โดยใช้สารฆ่าเชื้อล้างผักกาดหอม พบว่าการล้างผักกาดหอมด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 2 นาที และการไม่ล้างน้ำสามารถลดปริมาณ Total Coliform ได้ไม่แตกต่างกัน โดยพบ Coliform ในจำนวนมากกว่า $3.38 \log_{10}\text{MPN/g}$ หรือมากกว่า $3.41 \log_{10}\text{cfu/g}$ และเมื่อใช้สารละลาย sodium hypochlorite 70 ppm 2 นาที หรือ potassium permanganate 25 ppm 7 นาที ในการล้างผักกาดหอม สามารถลด aerobic microorganisms ได้มากกว่า 2 log units วิธีการล้างดังกล่าวสามารถลดปริมาณ Total Coliform และ aerobic microorganisms ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จะเห็นว่าการทดลองของ Soriano *et al.* (2000) สามารถลดปริมาณ Coliform ได้ดีกว่าการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากการทดลองของต่างประเทศมีการสุ่มตัวอย่างมาจากขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งเท่านั้น เช่น ซื้อมตัวอย่างจากร้านค้าปลีกหรือสุ่มตัวอย่างจากร้านอาหารในมหาวิทยาลัยและนำตัวอย่างมาทดลองในห้องปฏิบัติการ ขณะที่การทดลองนี้มีการสุ่มตัวอย่างจากกระบวนการผลิตจริงซึ่งทำให้มีปัจจัยอื่นส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนเพิ่มขึ้น จึงทำให้การทดลองของต่างประเทศสามารถควบคุมปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนได้ดีกว่า และส่งผลให้สารละลายคงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีกว่า

เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณ Coliform และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 2 ยังคงมีปริมาณค่อนข้างสูงยกเว้นในฤดูร้อนถึงแม้จะมีการทำความสะอาดด้วยน้ำคลอรีนที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตก็ตาม แสดงว่าปริมาณ Coliform และ *E. coli* ส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาจากแปลง ดังนั้นสิ่งสำคัญของการลดการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ให้ดีนั้นต้องเข้มงวดการรักษาความสะอาดในแปลง ซึ่งผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออกควรให้การอบรมกับเกษตรกรและจัดตั้งหัวหน้ากลุ่มเกษตรกรเพื่อสุ่มตรวจการปฏิบัติทางด้านสุขลักษณะส่วนบุคคล การทำความสะอาดอุปกรณ์

การล้างผลผลิต รวมถึงควบคุมปัจจัยการผลิต ได้แก่ การให้ปุ๋ย การใช้สารกำจัดศัตรูพืช เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายทางด้านจุลินทรีย์และเคมีในระดับหนึ่ง ขณะเดียวกันผู้รวบรวมผลผลิตหรือผู้เกี่ยวข้องในการผลิตอาหารควรจัดทำระบบพื้นฐานภายในโรงคัดบรรจุ โดยเริ่มจากการดำเนินการตามหลักเกณฑ์และวิธีปฏิบัติที่ดีในโรงงานอาหาร (GMP) จนถึงดำเนินการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (HACCP) มาประยุกต์ใช้ โดยสามารถเขียนแผน HACCP ที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตโดยย่อได้ดังนี้

แผนปฏิบัติงาน HACCP (HACCP PLAN) ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต

ชื่อผลิตภัณฑ์ หน่อไม้ฝรั่งสด

ขอบข่ายอันตราย

1. อันตรายทางชีวภาพ ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp.

2. อันตรายทางเคมี ได้แก่ สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง

3. อันตรายทางกายภาพ ได้แก่ เศษแก้ว พลาสติกแข็ง เศษโลหะ
เครื่องประดับ

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (คูชุดคำถาม Decision Tree หน้า 11) ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต

Process step	Hazards	Control Measures	GMP SSOP ^{1/}	CCP Question				CCP ^{6/} Y/N	หมายเหตุ
				Q1 ^{2/}	Q2 ^{3/}	Q3 ^{4/}	Q4 ^{5/}		
1. รับหน่อไม้ฝรั่ง จากแปลงปลูก	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรคมืออยู่ ในหน่อไม้ฝรั่ง	มีขั้นตอนการล้าง หน่อไม้ฝรั่ง	-	√	×	√	√	N	
	C: สารกำจัด ศัตรูพืชตกค้าง	มีการคัดเลือกผู้ จัดตั้ง	-	√	×	√	×	CCP1	ขั้นตอนที่ 1 HACCP Plan โรง คัดผู้ ส่งออก (ดู ตารางที่ 9)
	P: สิ่งแปลกปลอม ติดมากับ หน่อไม้ฝรั่ง	มีขั้นตอนการล้าง และคัดคุณภาพ	-	√	×	√	√	N	
2. ตรวจสอบ น้ำหนัก	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรค ปนเปื้อนกับ อุปกรณ์ และ พนักงาน	มีโปรแกรมการ ล้างอุปกรณ์และ สุขอนามัยส่วน บุคคล	-	√	×	√	√	N	
	C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
3. คัดคุณภาพและตัด แต่ง	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรค ปนเปื้อนใน อุปกรณ์ และ พนักงาน	มีการล้างทำ ความสะอาด อุปกรณ์และ สุขอนามัยส่วน บุคคล	√	√	×	√	√	N	
	C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Process step	Hazards	Control Measures	GMP SSOP ^{1/}	CCP Question				CCP ^{6/} Y/N	หมายเหตุ
				Q1 ^{2/}	Q2 ^{3/}	Q3 ^{4/}	Q4 ^{5/}		
4. ล้างน้ำคลอรีน	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเหลือรอดในหน่วยไม่ฝรั่ง	กำหนดความเข้มข้นคลอรีนและเวลา	-	✓	✓			CCP2	ขั้นตอนที่ 4 HACCP Plan โรงคัดผู้ส่งออก (ดูตารางที่ 9)
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	
4.1 คลอรีนผง	B/C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
4.2 น้ำ	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคมียู่ในน้ำ	ระบบบำบัดน้ำและตรวจสอบคุณภาพน้ำ	✓	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
5. บรรจุ	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนจากพนักงาน อุปกรณ์	มีโปรแกรมการควบคุมสุขอนามัยส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์	✓	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
6. ขนส่ง	B/C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-

^{1/} SSOP หมายถึง Sanitation Standard Operating Procedure: วิธีการปฏิบัติมาตรฐานด้านสุขาภิบาลอาหาร

^{2/} Q1 หมายถึง คำถามที่ 1 มีมาตรการป้องกันอันตรายใช้อยู่แล้วหรือไม่?

^{3/} Q2 หมายถึง คำถามที่ 2 ขั้นตอนนี้ถูกออกแบบโดยเฉพาะเพื่อลด / กำจัดอันตรายให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่?

^{4/} Q3 หมายถึง อันตรายนั้นมีอยู่ในปริมาณมากกว่าระดับที่ยอมรับได้หรือมีโอกาสเพิ่มจำนวนจนเกินระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่?

^{5/} Q4 หมายถึง ขั้นตอนต่อไปที่จะสามารถลด / กำจัดอันตรายที่ระบุให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่?

^{6/} CCP หมายถึง Critical Control Point: จุดควบคุมวิกฤต

เมื่อวิเคราะห์อันตรายตามหลักการดังกล่าวแล้วพบว่าในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งสดที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตมีจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม 2 จุด คือขั้นตอนที่ 1 การรับหน่อไม้ฝรั่งสดซึ่งมีอันตรายทางด้านเคมีได้แก่สารกำจัดศัตรูพืช โดยทางโรงงานหรือผู้ส่งออกสามารถควบคุมได้โดยการคัดเลือกผู้จัดส่งและกำหนดการตรวจติดตาม การปฏิบัติ การแก้ไข การทวนสอบ และการบันทึก และจัดทำโปรแกรมการตรวจประเมินผู้จัดส่งแต่ละรายเพื่อลดความเสี่ยงจากอันตรายให้กับผู้บริโภค และขั้นตอนที่ 4 การล้างน้ำคลอรีน ซึ่งเป็นอันตรายทางด้านจุลินทรีย์ โดยผู้รวบรวมผลผลิตสามารถลดอันตรายลงได้โดยการกำหนดความเข้มข้นคลอรีนและเวลาที่เหมาะสม และการล้างน้ำคลอรีนในขั้นตอนที่ 4 ที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกเป็นขั้นตอนถัดไปที่ช่วยลดระดับอันตรายให้กับผู้บริโภค และควรทำการอบรมพนักงานที่เกี่ยวข้องเมื่อแผน HACCP ได้รับการทวนสอบ เพื่อยืนยันว่าแผน HACCP สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง

การล้างโคนหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ เป็นเวลา 5 นาที ที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตทั้ง 3 จุด พบว่าฤดูร้อนมีการปนเปื้อน *E. coli* มากที่สุด คือ $0.82 \log_{10}\text{cfu/g}$ เมื่อแปลค่าเป็น MPN ได้เท่ากับ 0.78 MPN/g โดยค่าดังกล่าวเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร พบ *E. coli* ได้ไม่เกิน 10 MPN/g ในอาหารประเภทผักผลไม้ที่ล้างแล้ว (กระทรวงสาธารณสุข, 2522) ขณะที่ฤดูหนาวและฤดูฝนไม่พบการปนเปื้อน *E. coli*

จากผลดังกล่าวแสดงว่าสถานการณ์การปนเปื้อน *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่แปลงปลูกและที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตที่ทำการศึกษาในครั้งนี้อยู่ในสถานะที่น่าพอใจ ทั้งนี้เนื่องจากแปลงปลูกและผู้รวบรวมผลผลิตได้รับการดูแลและควบคุมด้านการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP) จากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการผลิตของบริษัทส่งออกแล้วในระดับหนึ่ง

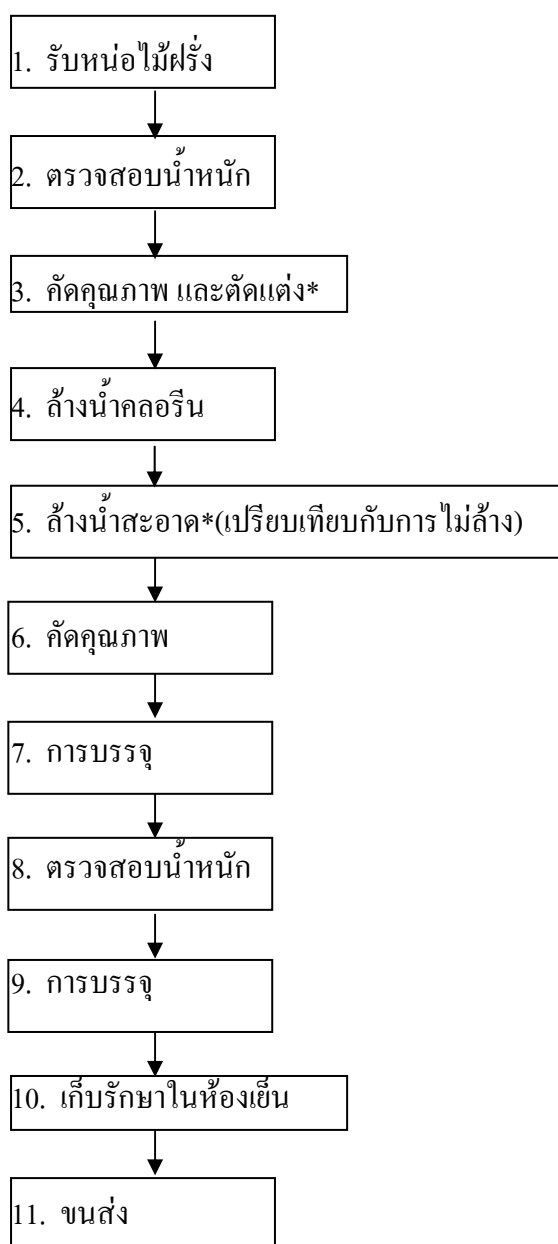
ในกรณีที่เกิดเหตุการณ์ปนเปื้อนสูงกว่านี้การล้างโคนหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ เป็นเวลา 5 นาที สามารถลด Coliform ได้ประมาณ $2 \log_{10}\text{cfu/g}$ จากปริมาณเริ่มต้น $4-5 \log_{10}\text{cfu/g}$ ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ เนื่องจากข้อกำหนดของลูกค้าบางรายยอมให้มี Coliform (*Enterobacteraceae*) ไม่เกิน $3 \log_{10}\text{cfu/g}$ ดังนั้นการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นในหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตไม่ควรเกิน $5 \log_{10}\text{cfu/g}$ จึงควรวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำและผลผลิตอย่างสม่ำเสมอหรือเมื่อมีกรณีที่พบความเสี่ยง

4. การศึกษาวิธีการลดการปนเปื้อนของ *E. coli* และ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่ง ของผู้ส่งออก

การวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ ระดับผู้ส่งออก

ตามปกติผู้รวบรวมผลผลิตขนส่งหน่อไม้ฝรั่งไปโรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกเพื่อเข้าสู่กระบวนการคัดคุณภาพ ตัดแต่ง และทำความสะอาดโดยการล้างน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ และ $200 \mu\text{l l}^{-1}$ เป็นเวลา 10 นาที ในการทดลองนี้ได้สุ่มตัวอย่างในขั้นตอนหลังจากคัดคุณภาพและตัดหน่อไม้ฝรั่งแล้วก่อนแช่คลอรีน (ก่อนล้าง control) หรือขั้นตอนที่ผ่านการล้างน้ำคลอรีนแล้วตามภาพที่ 5

ขั้นตอนการผลิต (Process step)



สิ่งที่ป้อนเข้าไป (Inputs)

ตะกร้า คน

เครื่องชั่งน้ำหนัก คน

คน มีด โต๊ะ เขียง

น้ำประปา คลอรีน อ่างแช่คลอรีน

คน

น้ำ คน

คน โต๊ะ

คน ถาด แท่นรองสินค้า

เครื่องชั่งน้ำหนัก คน

คน กล่อง แท่นรองสินค้า

ถาด ตะกร้า แท่นรองสินค้า

พาหนะ

ภาพที่ 5 แผนภูมิการผลิตหน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด

หมายเหตุ * ขั้นตอนที่สุ่มตัวอย่าง

4.1 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออกในฤดูฝน

ในฤดูฝนการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 7) โดยพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น 100 และ 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำเปล่า 5 นาที มีการปนเปื้อนของ Coliform ไม่แตกต่างกันแต่น้อยกว่าการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกซึ่งมี Coliform มากที่สุดคือเป็นจำนวน 4.69 $\log_{10}\text{cfu/g}$ โดยไม่พบการปนเปื้อน *E. coli* แต่อย่างใด (ตารางที่ 7)

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกรต่างกัน และผ่านการคัดขนาดที่โรงคัดบรรจุของผู้รวบรวมผลผลิต และได้จัดส่งให้โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.16 – 4.45 $\log_{10}\text{cfu/g}$ และไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกรทุกแปลง

4.2 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออกในฤดูหนาว

ในฤดูหนาวการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งทั้ง 2 ความเข้มข้นทำให้การปนเปื้อนของ Coliform ไม่แตกต่างกันแต่น้อยกว่าการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกซึ่งมี Coliform มากที่สุด 4.74 $\log_{10}\text{cfu/g}$ สำหรับการปนเปื้อนของ *E. coli* ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) แต่มีแนวโน้มว่าพบการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ สามารถลดการปนเปื้อนลงได้

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกร และผ่านการคัดขนาดที่โรงคัดบรรจุของผู้รวบรวมผลผลิต และได้จัดส่งให้โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7) โดยพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 1 มี Coliform ปนเปื้อนน้อยที่สุด 4.09 $\log_{10}\text{cfu/g}$ หน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 2 มีการปนเปื้อนมากที่สุด 4.7 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่การปนเปื้อนของ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกร ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) ไม่เกิน 1.07 $\log_{10}\text{cfu/g}$ ขณะที่แปลงที่ 2 ยังคงปนเปื้อนมากกว่าแปลงอื่นๆ

4.3 การปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* จากการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออกในฤดูร้อน

ในฤดูร้อนการล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 7) โดยพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนทั้ง 2 ความเข้มข้นทำให้ปนเปื้อนของ Coliform ไม่แตกต่างกันแต่น้อยกว่าการไม่ล้างหน่อไม้ฝรั่งที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกเล็กน้อย ซึ่งมี Coliform มากที่สุด $5.55 \log_{10} \text{cfu/g}$ สำหรับการปนเปื้อนของ *E. coli* ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) แต่มีแนวโน้มว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ มี *E. coli* ปนเปื้อนมากกว่าการไม่ล้าง และน่าสังเกตว่าการล้างด้วยคลอรีน $100 \mu\text{l l}^{-1}$ มีการปนเปื้อน *E. coli* ถึง $4.92 \log_{10} \text{cfu/g}$

การปนเปื้อนของ Coliform ในหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกร และผ่านการคัดขนาดที่โรงคัดบรรจุของผู้รวบรวมผลผลิต และได้จัดส่งให้โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกพบว่าการปนเปื้อนของ Coliform มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7) โดยพบว่าการปนเปื้อนประมาณ $5.25 - 5.51 \log_{10} \text{cfu/g}$ และหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 2 มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด

การวิเคราะห์อิทธิพลร่วมทางสถิติพบว่าแปลงเกษตรกรมีผลต่อการปนเปื้อน Coliform ในการล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 7) การล้างทำความสะอาดหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้นต่างๆ ลดปริมาณ Coliform ลงได้ทุกแปลง โดยเฉพาะในแปลงที่ 1 ลดการปนเปื้อนได้ดีที่สุด (ตารางผนวกที่ 7)

ตารางที่ 7 ปริมาณการปนเปื้อนของ Coliform bacteria และ *E. coli* ในหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดบรรจุ
ผู้ส่งออกใน 3 จุด

การล้างที่โรงคัด ผู้ส่งออก ($\mu\text{l l}^{-1}$, min)	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน	
	Coliform ($\log_{10}\text{cfu/g}$)	<i>E. coli</i> ($\log_{10}\text{cfu/g}$)	Coliform ($\log_{10}\text{cfu/g}$)	<i>E. coli</i> ($\log_{10}\text{cfu/g}$)	Coliform ($\log_{10}\text{cfu/g}$)	<i>E. coli</i> ($\log_{10}\text{cfu/g}$)
control	4.69 ^{a1/}	0	4.74 ^{a1/}	1.03	5.55 ^{a1/}	0.84
100, 10	4.0 ^b	0	4.41 ^b	0.96	5.31 ^b	4.92
200, 10	3.79 ^b	0	4.32 ^b	0	5.35 ^b	0.3
แปลงเกษตรกร						
1	4.16	0	4.09 ^b	0	5.44 ^{ab}	4.92
2	4.45	0	4.70 ^a	1.07	5.25 ^b	0.78
3	4.36	0	4.59 ^{ab}	0.92	5.51 ^a	0.3

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูฝน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.001	0.10
แปลง	0.51	0.1
การล้าง×แปลง	0.33	0.07

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูหนาว	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.03	0.35
แปลง	0.02	0.33
การล้าง×แปลง	0.12	0.59

ปัจจัยในการ ทดลองฤดูร้อน	ค่าความน่าจะเป็นของ F-test	
	Coliform	<i>E. coli</i>
การล้าง	0.01	0.38
แปลง	0.02	0.38
การล้าง×แปลง	0.002	0.42

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เดียวกันในแนวตั้งในปัจจัยเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

$P > 0.05$ = ไม่แตกต่างทางสถิติ (ns)

$0.01 \leq P \leq 0.05$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

$P \leq 0.01$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของเชื้อ Coliform และ *E. coli* เฉลี่ยเมื่อล้างด้วยน้ำคลอรีนที่ $100 \mu\text{l l}^{-1}$ และ $200 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำเปล่า 5 นาที ใน 3 จุด พบว่าในฤดูฝนการล้างหน่อไม้ฝรั่งในน้ำคลอรีนลดการปนเปื้อน Coliform โดยเฉลี่ย $0.69 \log_{10}\text{cfu/g}$ และ $0.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ (ตารางที่ 7) ตามลำดับ ขณะที่ *E. coli* ไม่พบการปนเปื้อนจากการล้างน้ำคลอรีน และฤดูหนาวพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งในน้ำคลอรีนที่ $200 \mu\text{l l}^{-1}$ ลดการปนเปื้อน Coliform ได้มากที่สุด $0.42 \log_{10}\text{cfu/g}$ และ ลดการปนเปื้อน *E. coli* ได้มากที่สุดเช่นกัน $1.03 \log_{10}\text{cfu/g}$ หรือไม่พบการปนเปื้อน (ตารางที่ 7) ในฤดูร้อนพบว่าการล้างหน่อไม้ฝรั่งในน้ำคลอรีนทั้ง 2 ความเข้มข้น ลดการปนเปื้อน Coliform โดยเฉลี่ยได้ใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง $0.24 \log_{10}\text{cfu/g}$ และ $0.20 \log_{10}\text{cfu/g}$ ตามลำดับ ขณะที่การล้างหน่อไม้ฝรั่งในน้ำคลอรีนที่ $100 \mu\text{l l}^{-1}$ พบว่าการปนเปื้อน *E. coli* เพิ่มขึ้นเป็น $4.92 \log_{10}\text{cfu/g}$ โดยพบการปนเปื้อนแปลงที่ 1 มากที่สุด การปนเปื้อน *E. coli* มาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ สุขลักษณะส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์ของพนักงานไม่เพียงพอ ซึ่งควรจัดโปรแกรมการอบรมพนักงานให้มีความรู้และติดตามการประเมินผลพนักงาน ตามหลักการของ GMP หรือ SSOP (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547) สำหรับการล้างหน่อไม้ฝรั่งในน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $200 \mu\text{l l}^{-1}$ 10 นาที ล้างด้วยน้ำเปล่า 5 นาที ลดการปนเปื้อนของ *E. coli* ได้ $0.54 \log_{10}\text{cfu/g}$ จากปริมาณเริ่มต้น $0.84 \log_{10}\text{cfu/g}$ เป็นที่น่าสังเกตว่าการล้างด้วยน้ำคลอรีนที่ความเข้มข้น $200 \mu\text{l l}^{-1}$ ลดปริมาณ Coliform และ *E. coli* ได้น้อยเนื่องจากบริเวณยอดหน่อไม้ฝรั่งมีลักษณะที่ยากต่อการทำความสะอาด ดังนั้นผู้ส่งออกควรใช้วิธีการร่วมด้วยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการล้าง

อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนของ *E. coli* มีน้อยที่สุด เมื่อล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำคลอรีน $200 \mu\text{l l}^{-1}$ โดยค่าดังกล่าวเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร พบ *E. coli* ได้ไม่เกิน 10 MPN/g ในอาหารประเภทผักผลไม้ที่ล้างแล้ว (กระทรวงสาธารณสุข, 2522)

เมื่อเปรียบเทียบการล้างทำความสะอาดกับปริมาณ Coliform และ *E. coli* โดยเฉลี่ย ณ ระดับแปลงเกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิตและโรงคัดผู้ส่งออก ทั้ง 3 จุด พบว่าปริมาณ Coliform ก่อนล้างในฤดูฝน ณ แปลงเกษตรกรมีปริมาณสูงกว่าหลังล้างด้วยน้ำคลอรีน ณ โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออกเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 8) แสดงว่าการล้างด้วยน้ำคลอรีนไม่สามารถลดปริมาณ Coliform ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในส่วนของ *E. coli* ก่อนล้าง ณ แปลงเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนเช่นเดียวกับหลังล้างด้วยน้ำคลอรีนที่โรงคัดของผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก แสดงว่า ณ โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก มีการควบคุมขั้นตอนการล้าง และสุขลักษณะส่วนบุคคลเป็นอย่างดี สำหรับฤดูหนาวก่อนล้าง ณ แปลงเกษตรกรมี Coliform น้อยกว่าหลังล้าง ณ จุดผู้

รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก แสดงว่าการล้างด้วยน้ำคลอรีนไม่สามารถลดปริมาณ Coliform ได้ จึงทำให้ปริมาณ Coliform สูงขึ้นระหว่างแปลงเกษตรกรจนถึงผู้ส่งออก สำหรับการปนเปื้อนของ *E. coli* ในฤดูหนาว ก่อนล้าง ณ แปลงเกษตรกร พบการปนเปื้อนสูงกว่าหลังล้างด้วยน้ำคลอรีน ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก ขณะที่การล้างที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออกไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* แสดงว่า ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก มีการควบคุมขั้นตอนการล้างเป็นอย่างดีจึงไม่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* ขณะที่ฤดูร้อนปริมาณ Coliform และ *E. coli* ก่อนล้าง ณ แปลงเกษตรกรมีน้อยกว่าหลังล้าง ณ โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก แต่ขั้นตอนการล้างที่ระดับต่างๆ ก็ยังจำเป็น เนื่องจากการล้างเป็นการลดอันตรายทางด้านจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในหน่อไม้ฝรั่ง และสามารถลดเศษดิน เศษไม้ อื่นๆ ได้ดีกว่าไม่ล้างทำความสะอาด

สำหรับการลดการปนเปื้อนของ Coliform ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก ตั้งแต่แปลงปลูก จนถึงโรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก ในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว (ตารางที่ 8) โดยการล้างน้ำคลอรีนที่บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที ที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและการล้างน้ำคลอรีน $200 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที ที่โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกสามารถลดปริมาณ Coliform ได้เพียงเล็กน้อย และอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าลูกค้าบางรายกำหนดไว้ โดยปริมาณ Coliform ที่ลูกค้ากำหนดไว้ไม่เกิน $3 \log_{10}\text{cfu/g}$ ดังนั้นผู้ส่งออกควรเข้มงวดทางด้านสุขลักษณะส่วนบุคคลและตรวจสอบการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตตั้งแต่ระดับฟาร์ม และผู้รวบรวมผลผลิตให้มากขึ้น รวมทั้งเพิ่มความเข้มข้นคลอรีนในการล้าง หรือเจรจาต่อรองกับลูกค้าให้กำหนดค่า Coliform ที่ยอมให้มีได้ในผักผลไม้ที่ล้างแล้วสูงขึ้นประมาณ $1-2 \log_{10}\text{cfu/g}$ จากเกณฑ์ที่ลูกค้ากำหนดไว้ ทั้งนี้ปริมาณ Coliform ไม่ได้ถูกกำหนดให้มีอยู่ในเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารประเภทผักผลไม้ที่ล้างแล้วของกระทรวงสาธารณสุข รวมถึงไม่มีกฎหมายบังคับจึงขึ้นอยู่กับการยินยอมของทั้ง 2 ฝ่าย อย่างไรก็ตามผู้ส่งออกควรมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์อย่างเพียงพอเพื่อให้ลูกค้ายอมรับข้อเสนอดังกล่าว

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบการล้างกับปริมาณ Coliform และ *E. coli* ณ ระดับแปลงเกษตรกร
ผู้รวบรวมผลผลิต และ โรงคัดผู้ส่งออก ทั้ง 3 ฤดู

สถานที่	การล้าง	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน	
		Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>
		(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)
แปลง	ก่อนล้าง	4.61	0	4.21	0.39	4.69	0
เกษตรกร	หลังล้าง	4.91	0.9	4.66	0.76	4.98	4.92
	น้ำ						
ผู้รวบรวม	ก่อนล้าง	4.57	0.39	5.23	0	4.69	1.15
ผลผลิต	หลังล้าง	2.75	0	4.65	0	5.55	0.82
	Cl ₂ 100						
	µl l ⁻¹ 5						
	นาที						
ผู้ส่งออก	ก่อนล้าง	4.69	0	4.74	1.03	5.55	0.84
	100 µl l ⁻¹	4.0	0	4.41	0.96	5.31	4.92
	10 นาที						
	200 µl l ⁻¹	3.79	0	4.32	0	5.35	0.3
	10 นาที						

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ Coliform และ *E. coli* จากทั้ง 3 แปลง ณ แปลงเกษตรกร โรงคัดคุณภาพที่ผู้รวบรวมผลผลิต และ โรงคัดผู้ส่งออก ของทั้ง 3 ฤดู (ตารางที่ 9) พบว่าในฤดูฝนมีปริมาณ Coliform และ *E. coli* ในแปลงที่ 2 มากกว่าทุกแปลง ณ ระดับแปลงเกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก แสดงว่าหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ 2 มีการปนเปื้อนสูง แต่เมื่อนำมาผ่านกระบวนการผลิตที่ระดับผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก ก็สามารถลดลงมาได้ แต่ก็ยังพบปริมาณ Coliform สูงกว่าทุกแปลง แสดงว่าหน่อไม้ฝรั่งที่มีการปนเปื้อนจากแปลงในปริมาณที่สูง เมื่อผ่านการล้างที่ระดับต่างๆ ยังคงเหลือรอดในอัตราสูงด้วย เช่นเดียวกับ *E. coli* ที่พบปริมาณเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยเมื่อผ่านการล้างที่ระดับต่างๆ จึงพบการเหลือรอด *E. coli* ในอัตราที่ต่ำจนกระทั่งไม่พบการปนเปื้อน

สำหรับฤดูหนาวและฤดูร้อนการปนเปื้อน Coliform ณ โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออก พบปริมาณ Coliform สูงขึ้นเกือบทุกแปลง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงเกษตรกร แสดงว่ากระบวนการผลิตที่โรงคัดคุณภาพที่จุดผู้รวบรวมผลผลิตและผู้ส่งออกไม่สามารถลด Coliform ลงได้ทุกแปลง ขณะที่การปนเปื้อน *E. coli* มีแนวโน้มที่ลดลงเกือบทุกแปลง ดังนั้นที่โรงคัดคุณภาพของจุดผู้รวบรวมผลผลิตและโรงคัดผู้ส่งออกควรควบคุมความสะอาดในกระบวนการผลิตทุกขั้นตอน

ตาราง 9 เปรียบเทียบปริมาณ Coliform และ *E. coli* ทั้ง 3 แปลง ใน 3 ฤดู ณ ระดับแปลงเกษตรกร ผู้รวบรวมผลผลิต ผู้ส่งออก

สถานที่	แปลง	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน	
		Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>	Coliform	<i>E. coli</i>
		(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)	(log ₁₀ cfu/g)
แปลง	1	4.73	0	4.47	0	4.85	0.69
เกษตรกร	2	4.75	1.09	4.43	0.39	4.95	5.09
	3	4.86	0	4.56	1	4.73	2.13
ผู้รวบรวมผลผลิต	1	2.48	0	5.25	0	5.53	0
	2	4.6	0.57	4.97	0	5.09	0.94
	3	4.2	0	4.73	0	5.17	1.35
ผู้ส่งออก	1	4.16	0	4.09	0	5.44	4.92
	2	4.45	0	4.7	1.07	5.25	0.78
	3	4.36	0	4.59	0.92	5.51	0.3

อย่างไรก็ตามการล้างน้ำคลอรีนความเข้มข้น 200 µl l⁻¹ นาน 10 นาที ในหน่อไม้ฝรั่ง สามารถลดปริมาณ Coliform ได้ในช่วง 0.2 log₁₀cfu/g – 0.9 log₁₀cfu/g และลดปริมาณ *E. coli* ได้ 1.03 log₁₀cfu/g (ตารางที่ 7) แสดงให้เห็นว่า จำเป็นต้องคำนึงถึงสัญลักษณ์และชนิดของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Beuchat *et al.* (1998) ได้เพาะเชื้อ *E. coli* ลงในบร็อกโคลี่และผักกาดหอมสด แล้วนำไปล้างด้วยคลอรีนที่ความเข้มข้น 50 และ 200 µl l⁻¹ และตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ไม่เกิน 1 log₁₀cfu/g

Cherry (1999) รายงานว่า คลอรีน (กรดไฮโปคลอรัส) โซเดียมหรือแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ที่ pH 6.5 ความเข้มข้น 200 µl l⁻¹ นำมาใช้ในกระบวนการเก็บเกี่ยว การล้างมือ อุปกรณ์

รวมถึงการล้างผักผลไม้สดที่ตัดแต่งแล้วสามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ $1-2 \log_{10} \text{cfu/g}$ เช่นเดียวกับ Parish *et al.* (2003) รายงานว่าคลอรีน (ไฮโปคลอไรท์) นิยมใช้ที่ความเข้มข้น $50-200 \mu\text{l l}^{-1}$ เวลา 1–2 นาที เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นสูงมากๆ อาจจะไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ที่ก่อโรคบนผลิตผลได้ โดยทั่วไปความเข้มข้นที่ใช้สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ $1-2 \log_{10} \text{cfu/g}$ ข้อจำกัดของไฮโปคลอไรท์คือมีผลกระทบต่อสุขภาพ กัดกร่อนอุปกรณ์ ไวต่ออุณหภูมิ แสง อากาศ โลหะ และสารอินทรีย์ ขึ้นกับ pH และสปอร์ของแบคทีเรียบางชนิดต้านทานรวมถึงโปรโตซัว pH ช่วง 6.0–7.5 อุณหภูมิ น้ำประมาณ 4°C (39.2°F) อุณหภูมิที่แนะนำในกระบวนการผลิตควรรักษาไว้อย่างน้อย 10°C (50°F) ซึ่งจะช่วยลดการซึมผ่านของจุลินทรีย์

จะเห็นว่าการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของต่างประเทศ แม้ว่าจะเป็นการทดลองในชนิดพืชต่างกันอย่างไรก็ตาม ประเด็นสำคัญของการทดลองนี้คือการสุ่มตัวอย่างโดยผู้วิจัยเก็บตัวอย่างจากแปลงปลูก ซึ่งเป็นการปลูกบนดินและมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนตลอดกระบวนการตามการผลิตตามลูกโซ่อาหาร (Food Chain) หรือ ลูกโซ่อุปทาน (Supply Chain) ซึ่งมีหลายปัจจัยที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนเช่นการปนเปื้อนระหว่างขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง เนื่องจากกระบวนการผลิตในโรงงานมีผลผลิตเข้ามาเป็นจำนวนมากและหลากหลายพื้นที่ซึ่งน่าจะมีความเป็นไปได้ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนมากขึ้น ขณะที่การทดลองของต่างประเทศมีการสุ่มตัวอย่างจากขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งเท่านั้นจึงพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยกว่าเช่นการทดลองของ Soriano *et al.* (2000) เก็บตัวอย่างผักกาดหอมสดจากร้านอาหารในมหาวิทยาลัย 16 แห่ง โดยซื้อมาจากร้านค้าปลีกในประเทศสเปน

สำหรับการลดการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* ที่โรงคัดบรรจุผู้ส่งออก มีการปฏิบัติทางด้านสุขลักษณะส่วนบุคคล และมีการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตอย่างสม่ำเสมอ รวมถึงมีการกำหนดความเข้มข้นคลอรีนและเวลาในการล้างหน่อไม้ฝรั่ง รวมถึงกำหนดปริมาณหน่อไม้ฝรั่งในการล้าง อย่างไรก็ตามควรมีการอบรมอย่างสม่ำเสมอให้กับพนักงานทุกคนให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับสุขลักษณะส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์อย่างถูกวิธี เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ โดยทางโรงงานจำเป็นต้องจัดทำระบบการป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นตลอดลูกโซ่อาหาร ได้แก่ ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม HACCP และสามารถเขียนแผน HACCP ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออก โดยย่อได้ดังนี้

ชื่อผลิตภัณฑ์ หน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด

ขอบข่ายอันตราย

1. อันตรายทางชีวภาพ ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp.
 2. อันตรายทางเคมี ได้แก่ สารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง
 3. อันตรายทางกายภาพ ได้แก่ เศษแก้ว พลาสติกแข็ง เศษโลหะ
- เครื่องประดับ

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP PLAN) ใน
 หน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด ณ โรงคัดบรรจุผู้ส่งออก

Process step	Hazards	Control Measures	GMP SSOP ^{1/}	CCP Question				CCP ^{6/} Y/N	หมายเหตุ
				Q1 ^{2/}	Q2 ^{3/}	Q3 ^{4/}	Q4 ^{5/}		
1. รับ หน่อไม้ฝรั่งจากผู้ รวบรวมผลผลิต	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรคมืออยู่ ในหน่อไม้ฝรั่ง	มีขั้นตอนการล้าง หน่อไม้ฝรั่ง	-	√	×	√	√	N	ขั้นตอน การล้าง
	C: สารกำจัด ศัตรูพืชตกค้าง	มีการคัดเลือกผู้จัดส่ง	-	√	×	√	×	CCP1	
	P: สิ่งแปลกปลอม ติดมากับ หน่อไม้ฝรั่ง	มีขั้นตอนการล้าง และคัดคุณภาพ	-	√	×	√	√	N	ขั้นตอน การล้าง ขจัดออก
2. ตรวจสอบ น้ำหนัก	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรค อุปกรณ์ และ พนักงาน	มีโปรแกรมการ ควบคุมสุขอนามัย ส่วนบุคคลและการ ทำความสะอาด อุปกรณ์	√	√	×	√	√	N	
	C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
3. คัดคุณภาพ และตัดแต่ง	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรค อุปกรณ์ และ พนักงาน	มีโปรแกรมการ ควบคุมสุขอนามัย ส่วนบุคคลและการ ทำความสะอาด อุปกรณ์	√	√	×	√	√	N	
	C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
4. ล้างน้ำคลอรีน	B: จุลินทรีย์ที่ ก่อให้เกิดโรคเหลือ รอดในหน่อไม้ฝรั่ง	กำหนดความเข้มข้น คลอรีนและเวลา		√	√			CCP2	
	C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
4.1 คลอรีนผง	B/C/P : ไม่พบ อันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Process step	Hazards	Control Measures	GMP SSOP ^{1/}	CCP Question				CCP ^{6/} Y/N	หมายเหตุ
				Q1 ^{2/}	Q2 ^{3/}	Q3 ^{4/}	Q4 ^{5/}		
4.2 น้ำ	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคมืออยู่ในน้ำ	ระบบบำบัดน้ำและตรวจสอบ	√	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
5. ล้างด้วยน้ำสะอาด	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำ	ระบบบำบัดน้ำและตรวจสอบ	√	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
6. คัดคุณภาพ	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนจากพนักงานและอุปกรณ์	มีโปรแกรมการควบคุมสุขอนามัยส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์	√	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
7. บรรจุ	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนจากพนักงานและอุปกรณ์	มีโปรแกรมการควบคุมสุขอนามัยส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์	√	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
8. ตรวจสอบน้ำหนัก	B: จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนจากพนักงานและอุปกรณ์	มีโปรแกรมการควบคุมสุขอนามัยส่วนบุคคลและการทำความสะอาดอุปกรณ์	√	-	-	-	-	-	-
	C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Process step	Hazards	Control Measures	GMP SSOP ^{1/}	CCP Question				CCP ^{6/} Y/N	หมายเหตุ
				Q1 ^{2/}	Q2 ^{3/}	Q3 ^{4/}	Q4 ^{5/}		
9. บรรจุ	B/C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
10. เก็บรักษา	B/C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-
11. ขนส่ง	B/C/P : ไม่พบอันตราย	-	-	-	-	-	-	-	-

^{1/} SSOP หมายถึง Sanitation Standard Operating Procedure: วิธีการปฏิบัติมาตรฐานด้านสุขาภิบาลอาหาร

^{2/} Q1 หมายถึง คำถามที่ 1 มีมาตรการป้องกันอันตรายให้อยู่แล้วหรือไม่?

^{3/} Q2 หมายถึง คำถามที่ 2 ขั้นตอนนี้ถูกออกแบบโดยเฉพาะเพื่อลด / กำจัดอันตรายให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่

^{4/} Q3 หมายถึง อันตรายนั้นมีอยู่ในปริมาณมากกว่าระดับที่ยอมรับได้หรือมีโอกาสเพิ่มจำนวนจนเกินระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่

^{5/} Q4 หมายถึง ขั้นตอนต่อไปที่จะสามารถลด / กำจัดอันตรายที่ระบุให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ใช่หรือไม่

^{6/} CCP หมายถึง Critical Control Point: จุดควบคุมวิกฤต

จากการวิเคราะห์อันตรายและการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP PLAN) ในกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด ณ โรงคัดผู้ส่งออก (ตารางที่ 10) กำหนดให้ขั้นตอนการรับหน่อไม้ฝรั่งและขั้นตอนการล้างน้ำคลอรีนในหน่อไม้ฝรั่งเป็นจุด CCP1 และ CCP2 เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ถูกออกแบบมาเพื่อลดอันตรายทางด้านเคมีและจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ และได้กำหนดมาตรการแก้ไขสำหรับขั้นตอนที่เป็นจุด CCP ของกระบวนการผลิตหน่อไม้ฝรั่งบรรจุสดไว้ในตารางที่ 11 ในการทดลองนี้ได้กำหนดค่าวิกฤตสำหรับขั้นตอนการล้างน้ำในหน่อไม้ฝรั่งให้มีความเข้มข้นคลอรีนมากกว่าหรือเท่ากับ $200 \mu\text{I}^{-1}$ และเวลาในการล้างมากกว่าหรือเท่ากับ 10 นาที ซึ่งสามารถลดปริมาณ *E. coli* ในทุกฤดูให้อยู่ในช่วง $0 - 0.3 \log_{10}\text{cfu/g}$ (ตารางที่ 7) หรือแปลว่าไม่พบการปนเปื้อน ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร พบ *E. coli* ได้ไม่เกิน 10 MPN/g ในอาหารประเภทผักผลไม้ที่ล้างแล้ว (กระทรวงสาธารณสุข, 2522) และสามารถทำการตรวจติดตามโดยให้พนักงานล้างหน่อไม้ฝรั่งตรวจสอบความเข้มข้นคลอรีนและเวลาตามค่าวิกฤตทุกชุดผลิตภัณฑ์ (lot) โดยใช้ชุดทดสอบคลอรีนและนาฬิกาจับเวลา และบันทึกลงในบันทึกการล้างหน่อไม้ฝรั่งและเมื่อพบว่ามีการเบี่ยงเบนจากค่าควบคุมวิกฤต พนักงานต้องทำการแก้ไขกับผลิตภัณฑ์โดยนำไปล้างใหม่ และพนักงานผู้นั้นจะได้รับการอบรมการล้างใหม่

สำหรับหลักการของการทวนสอบเพื่อดูว่าการปฏิบัติเป็นไปตามแผนงาน HACCP โดยเฉพาะเรื่องความแม่นยำในการชั่งน้ำหนักของสารคลอรีนต้องมีการสอบเทียบเครื่องชั่งโดยใช้ลูกตุ้มที่ทำการสอบเทียบตามมาตรฐานแห่งชาติมาสอบเทียบตามน้ำหนักของคลอรีนที่ใช้ตามความเข้มข้นที่กำหนดส่วนการสอบเทียบช่วงเวลามาตรฐานเทียบตามเวลามาตรฐานของประเทศไทย (หมายเลขโทรศัพท์ 181) ในกรณีที่พบว่าผลสอบเทียบลูกตุ้มเบี่ยงเบนต้องทำการแก้ไขได้โดยปรับแก้ตามผลสอบเทียบหรือปรึกษากับหน่วยงานที่ทำการสอบเทียบ สำหรับผลการสอบเทียบเวลาถ้ามีความเบี่ยงเบนให้ทำการปรับใหม่และสอบเทียบใหม่ ระยะเวลาในการจัดเก็บบันทึกอย่างน้อย 6 เดือนถึง 2 ปี ทั้งนี้ขึ้นกับการตกลงของทีมงาน HACCP

ตารางที่ 11 การกำหนดมาตรการแก้ไขสำหรับขั้นตอนที่เป็น CCP ของกระบวนการผลิต
หน่อไม้ฝรั่งบรรจุสด

Process step	CCP	Critical Limit	Monitoring	Corrective Action	Verification	Record
1. รับ หน่อไม้ ฝรั่งจากผู้ รวบรวม ผลผลิต	CCP1	รับ หน่อไม้ฝรั่ง จากผู้จัดส่งที่ มีรายชื่ออยู่ ใน AVL เท่านั้น	ให้พนักงาน รับ หน่อไม้ฝรั่ง จากผู้จัดส่งที่ มีรายชื่ออยู่ ใน AVL เท่านั้น	กัก ผลิตภัณฑ์ที่ ไม่มีรายชื่อ ใน AVL แล้วแจ้ง ผู้จัดการฝ่าย จัดซื้อ	ใช้ชุด ทดสอบ ตรวจสอบสารพิษ ตกค้าง	บันทึกการ ตรวจรับ วัตถุดิบและ สารพิษ ตกค้างใน วัตถุดิบ
2. ล้างน้ำ คลอรีน	CCP2	ความเข้มข้น คลอรีน $\geq$ 200 μL^{-1} เวลา $\geq$ 10 นาที	ตรวจความ เข้มข้น คลอรีนและ เวลาในการ ล้างทำความสะอาด ทุก ชุดผลิตภัณฑ์	กัก ผลิตภัณฑ์ แล้วนำไป ล้างใหม่ อบรม พนักงาน	สอบเทียบ เครื่องชั่ง น้ำหนัก สำหรับชั่ง สารละลาย และเวลาใน การล้าง	บันทึกการ ล้าง หน่อไม้ฝรั่ง บันทึกการ สอบเทียบ

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการลดการปนเปื้อนของ แบคทีเรีย Coliform และ *Escherichia coli* ใน หน่อไม้ฝรั่ง เพื่อการส่งออก ณ ระดับแปลงเกษตรกร โรงคัดผู้รวบรวมผลผลิตและโรงคัดบรรจุผู้ส่งออก ในฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน สรุปได้ดังนี้

ห่มพลาสติกที่ใช้ครอบยอดหน่อไม้ฝรั่งมีการปนเปื้อนของ Coliform และ *E. coli* มากที่สุด โดยพบ Coliform ในช่วง $5.98 - 6 \log_{10}\text{cfu}$ และพบ *E. coli* ในช่วง $5.04 - 5.22 \log_{10}\text{cfu}$ สำหรับน้ำที่ใช้ล้างหน่อไม้ฝรั่งมีการปนเปื้อนของ *E. coli* น้อยมาก และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค และแปลงเกษตรกรที่นำหลักการของ GAP มาประยุกต์ใช้พบปริมาณของ *E. coli* ในวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน่อไม้ฝรั่งน้อยกว่าแปลงที่ไม่ได้นำหลักการ GAP มาใช้ สำหรับ Coliform พบปริมาณใกล้เคียงกัน

การล้างหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำประปาและน้ำชลประทาน ณ แปลงเกษตรกร ทั้ง 3 ฤดู มีการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* มากกว่าการไม่ล้างน้ำ และการไม่ล้างน้ำพบปริมาณ *E. coli* เพียง $0 - 0.39 \log_{10}\text{cfu/g}$ ซึ่งแปลผลได้ว่าไม่พบการปนเปื้อนหรืออยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงเกษตรกรที่ไม่ได้นำหลักการ GAP มาประยุกต์ใช้ พบ *E. coli* ปนเปื้อนในฤดูร้อนและฤดูฝนมากที่สุด สำหรับฤดูหนาวพบการปนเปื้อนใกล้เคียงกับแปลงที่นำหลักการ GAP มาประยุกต์ใช้และอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การล้างน้ำคลอรีน ณ จุดผู้รวบรวมผลผลิตที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 5 นาที บริเวณโคนหน่อไม้ฝรั่งในฤดูฝนลดปริมาณ Coliform ได้มากที่สุด $1.82 \log_{10}\text{cfu/g}$ และลดปริมาณ *E. coli* ได้ $0.39 \log_{10}\text{cfu/g}$ สำหรับหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ไม่ได้นำหลักการ GAP มาประยุกต์ใช้พบการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* สูงกว่าแปลงอื่น ในฤดูหนาวการล้างน้ำคลอรีนไม่พบการปนเปื้อน *E. coli* ในผลผลิตและลดปริมาณ Coliform ได้ $0.58 \log_{10}\text{cfu/g}$ สำหรับหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงมีการปนเปื้อนของ Coliform ใกล้เคียงกัน และทุกแปลงไม่พบ *E. coli* ขณะที่ฤดูร้อนการล้างน้ำคลอรีนไม่สามารถลด Coliform ได้ แต่ลดปริมาณ *E. coli* ได้ $0.33 \log_{10}\text{cfu/g}$ ในส่วนของหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงพบ *E. coli* ใกล้เคียงกัน

การล้างหน่อไม้ฝรั่ง ณ โรงคัดบรรจุของผู้ส่งออกที่ความเข้มข้นคลอรีน $200 \mu\text{l l}^{-1}$ นาน 10 นาที ในฤดูหนาวลด Coliform ได้ $0.2 - 0.9 \log_{10}\text{cfu/g}$ และลดปริมาณ *E. coli* ได้ในระดับที่ไม่พบการปนเปื้อน สำหรับหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงที่ไม่ได้นำหลักการ GAP มาประยุกต์ใช้พบการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* สูงกว่ารายอื่น ในฤดูร้อนลดปริมาณ *E. coli* ลงได้เหลือ $0.3 \log_{10}\text{cfu/g}$ และมีการปนเปื้อนใกล้เคียงกันทุกแปลง ขณะที่ฤดูฝนไม่พบ *E. coli* ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งทั้งก่อนและหลังล้างน้ำคลอรีนโดยปริมาณ *E. coli* ที่พบหลังล้างน้ำคลอรีนทุกฤดู อยู่ในค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและหน่อไม้ฝรั่งที่มาจากแปลงพบการปนเปื้อน Coliform อยู่ในช่วง $4.16 - 4.45 \log_{10}\text{cfu/g}$

สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อน Coliform และ *E. coli* คือ น้ำล้างผลผลิต และการควบคุมความสะอาดของอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตตั้งแต่ระดับแปลง จนถึงจุดผู้รวบรวมผลผลิต และผู้ส่งออก

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2549. ระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งระดับเกษตรกร. แหล่งที่มา:

http://www.doa.go.th/gap/food_safety/asparagus/asparagus-18.doc, 20 กุมภาพันธ์ 2549.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2522. **เกณฑ์คุณภาพจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร**. การประชุมวิชาการประเพณี ครั้งที่ 9 ธรรมศาสตร์ มหิดล กองทัพเรือ เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. น. 158.

กระทรวงอุตสาหกรรม. 2521. **มาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค**. ประกาศกระทรวง อุตสาหกรรม ฉบับที่ 4.

กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. **หน่อไม้ฝรั่ง**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ฝ่ายพืชผัก กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. **ข้อมูลปริมาณการส่งออกหน่อไม้ฝรั่งเขียวสดและ หน่อไม้ฝรั่งปรุงแต่ง**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. **การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบัส**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย บูรพา. ชลบุรี.

วราวุฒิ ครุส่ง. 2547. **การประกันคุณภาพในอุตสาหกรรมอาหาร**. บริษัท ดี สแควร์ อินเตอร์เนชั่นแนล, กรุงเทพฯ.

สถาบันอาหาร. 2542. **HACCP เพื่ออุตสาหกรรมเกษตร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. ห้างหุ้นส่วนจำกัด อรรถสิทธิ์ การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สถาบันอาหาร. 2547. Our Services. แหล่งที่มา: <http://www.nfi.or.th/our-services/our-services-thai1.html>, 28 มีนาคม 2547.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2547. การวิเคราะห์อันตรายและจุดควบคุมวิกฤต. แหล่งที่มา:

<http://www.fda.moph.go.th/fdanet/html/product/food/QASF/HACCP9.HTML>., 28 มีนาคม 2547

อรษา สุตเชียรกุล. 2540. เอกสารประกอบการบรรยาย เรื่อง ความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อ *Escherichai coli* O157:H7. การสัมมนาทางวิชาการ เรื่องความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ. 14 ตุลาคม 2540 ณ โรงแรมเชลล์ทรีเพลซ่า และ 15 ตุลาคม 2540 ณ โรงแรมฮิลด์ล. Merck Ltd., กรุงเทพฯ.

AOAC. 1990. **Official Method of Analysis**. Association of Official Chemists. 15th ed., Washington, D.C. 1298 p.

Beuchat, L.R. 1995. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.** 59(2): 204-216.

Beuchat, L.R., B.V. Nail, B.B. Adler and M.R.S. Clavero. 1998. Efficacy of spary application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. **J. Food Prot.** 61(10): 1305-1311.

Bryan, FL. 1977. Diseases transmitted by foods contaminated by wastewater. **J. Food Prot.** 40: 45-56.

Cherry, J.P. 1999. Safety of Fresh Produce. **Food Technol.** 53(11): 55.

Cherry W.B., J.B. Hanks., B.M. Thomason., A.M. Murlin., J.W. Biddle and J.M. Croom. 1972. Salmonellae as an index of pollution of surface waters. **Appl Environ Microbiol.** 24: 334-40.

- Department of Agriculture Fisheries and Forestry – Australia. 2001. Guidelines for On-Farm Food Safety for Fresh Produce. Available Source: http://www.affa.gov.au/corporate_docs/publications/pdf/food/guidelines_9-01.pdf. April 27, 2004.
- EUREPGAP. 2004. Control Point & Compliance Criteria Fruit and Vegetables Version 2.0 – Jan04. Available Source: <http://www.eurep.org>, Januray 20, 2005.
- Fair, G.M., J.C. Morris, S.L. Chang, I. Wei and R.P. Burden. 1948. The behavior of chlorine as a water disinfectant, p. 108. Cited by C.I. Wei, D.L. Cook and J.R. Kirk. Use chlorine compound in the food industry. **Food Technol.** 3a(1): 107-115.
- Garcia, G.R., R.E. Haymond, D.M. Sprague, E.R. Singleton, J.T. Peeler, G.A. Lancette and J.N. Sofos. 1995. Comparison of a rapid plate count and MPN methods for enumeration of fecal coliforms and *Escherichia coli* in soft-shell clams. **J. Food Prot.** 58(11): 1197-2000.
- Geldreich, E.E and R.H. Bordner. 1971. Fecal contamination of fruits and vegetables during cultivation and processing for market. A review. **Milk Food Technol.** 34: 184-95.
- Golden, D.A., E.K. Heaton and L.R. Beuchat. 1987. Effect of chemical treatments on microbiological, sensory and physical quality of individually shrink-wrapped produce. **J. Food Prot.** 50(8): 673-680.
- Gorny, J.R. and D. Zagory. 1999. Food Safety. Available Source: <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/023foodsafety.pdf>. May 4, 2004.
- Hurst, C.J., G.R. Knudsen, M.J. Melnerney, L.D. Strtzenbach and M.V. Walter. 1997. **Manual of Environmental Microbiology.** American Society for Microbiology, Washington D.C. 894 p.

Hurst, W.C. and G.A. Schuler. 1992. Fresh produce processing an industry perspective. **J. Food Prot.** 55(10): 824-827.

Hagenmaier, R.D. and R.A. Baker. 1998. A survey of microbial population and ethanol content of bagged salad. **J. Food Prot.** 61(3): 357-359.

Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology**. 4th ed., Chapman & Hall, New York. 701 p.

Merson, M.H., G.K. Morris, D.A. Sack, J.E. Wells, J.C. Feeley, R.B. Sack, W.B. Creech, A.Z. Kapikian and E.J. Gangarosa. 1976. Travelers' diarrhea in Mexico, p. 208. Cited by Beuchat. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.** 59(2): 204-216

Mintz, E.D. 1994. Enterotoxigenic Escherichia coli : an emerging food borne pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.** 59(2): 204-216.

Odumeru, J.A., S.J. Mitchell, D.M. Alves, J.A. Lnnh, A.J. Yee, S.J. Wang, S. Styliadis and J.M. Farber. 1997. Assessment of the microbiological quality of ready to use vegetable for health-care food services. **J. Food Prot.** 60(8): 954-960.

Park, D.L., S.M. Rua, Jr. and R.F. Acker. 1991. Direct application of a new hypochlorite sanitizer for reducing bacterial contamination on foods. **J. Food Prot.** 54(12): 960-965.

Parish, M.E., L.R Beuchat, T.V Suslow, L.J. Harris, E.H. Garrett, J.N. Farber and F.F. Busta. 2003. Methods to Reduce/Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce. **Food Science and Food Safety**. Vol. 2 (Supplemennt)

- Simons, L.K. and P. Sangunsi. 1997. Advances in the washing of minimally processed vegetables. **Food Aus.** 49(2): 75-78.
- Smoot, L.M. and M.G. Pierson. 1997. Indicator microorganisms and microbiological criteria, pp. 66-80. In M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville (eds.). **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers.** AMS Press, Washington D.C.
- Soriano, JM., H. Rico, J.C Molto and J.Manes. 2000. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. **Food Microbiol.** 58: 123-128.
- Suslow, T.V., M.P. Oria, L.R. Beuchat, E.H. Garrett, M.E. Parish, L.J. Harris, J.N. Farber and F.F. Busta. 2003. Production Practices as Risk Factors in Microbial Food Safety of Fresh and Fresh – Cut Produce. **Food Science and Food Safety.** Vol.2 (supplement).
- Vanderzant, C. and D.F. Splitstoeser. 1992. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food.** American Public Health Association, Washington D.C. 1219 p.
- Viswanathan, P and R. Kaur. 2001. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. **Int. J. Hyg Environ Health.** 203: 205-213.
- Wei, C.I., D.L. Cook and J.R. Kirk. 1985. Use of chlorine compounds in the food industry. **Food Technol.** 39(1): 107-115.
- Wei, C.I., T.I.S. Huang, J.M. Kim, W.F. Lin, M.L. Tamplin and J.A. Bartz. 1995. Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated waste. **J. Food Prot.** 58(8): 829 – 836.

Zhang, S. and J.M. Farber. 1996. The Effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh cut vegetables. **Food Microbiol.** 13: 311-321.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงอิทธิพลร่วม

ตารางผนวกที่ 1 อิทธิพลร่วมระหว่างวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน้าไม้ฝรั่งและแปลงเกษตรกรรม
แปลงเกษตรกรรม ต่อปริมาณ *E. coli* ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูฝน

วัสดุอุปกรณ์ที่ สัมผัสหน้าไม้ฝรั่ง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
หมวกพลาสติก	0	5.52	0.3	1.94
ตะกร้า	0	0.95	0	0.33
น้ำ	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	0	2.15	0.1	

ตารางผนวกที่ 2 อิทธิพลร่วมระหว่างวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน้าไม้ฝรั่งและแปลงเกษตรกรรม
แปลงเกษตรกรรม ต่อปริมาณ Coliform ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูหนาว

วัสดุอุปกรณ์ที่ สัมผัสหน้าไม้ฝรั่ง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
หมวกพลาสติก	6	6	6	6
ตะกร้า	6	5.82	6	5.94
น้ำ	0.99	0.6	4.92	2.17
ค่าเฉลี่ย	4.33	4.14	5.64	

ตารางผนวกที่ 3 อิทธิพลร่วมระหว่างวัสดุอุปกรณ์ที่สัมผัสหน้าไม้ฝรั่งและแปลงเกษตรกรรม
แปลงเกษตรกรรม ต่อปริมาณ Coliform ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูร้อน

วัสดุอุปกรณ์ที่ สัมผัสหน้าไม้ฝรั่ง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
หมวกพลาสติก	6	6	6	6
ตะกร้า	6	6	5.88	5.96
น้ำ	0.84	1.07	0.42	0.77
ค่าเฉลี่ย	4.28	4.35	4.1	

ตารางผนวกที่ 4 อิทธิพลร่วมระหว่างการล้างทำความสะอาดและแปลงเกษตรกรรม ณ แปลง
เกษตรกรรม ต่อปริมาณ *E. coli* ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูหนาว

การล้าง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
Control (ก่อนล้าง)	0	0.69	0.39	0.36
หลังล้างน้ำ	0	0	1.24	0.41
ค่าเฉลี่ย	0	0.34	0.81	

ตารางผนวกที่ 5 อิทธิพลร่วมระหว่างการล้างทำความสะอาดและแปลงเกษตรกรรม ณ โรงคัดคุณภาพ
ที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต ต่อปริมาณ Coliform ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูฝน

การล้าง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
control	2.58	4.89	4.5	3.99
100 $\mu\text{l l}^{-1}$ 5 นาที	2.35	3.16	1.24	2.25
ค่าเฉลี่ย	2.46	4.02	2.87	

ตารางผนวกที่ 6 อิทธิพลร่วมระหว่างการล้างทำความสะอาดและแปลงเกษตรกรรม ณ โรงคัดคุณภาพ
ที่จุดผู้รวบรวมผลผลิต ต่อปริมาณ Coliform ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูร้อน

การล้าง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
control	4.88	4.46	4.65	4.66
100 $\mu\text{l l}^{-1}$ 5 นาที	5.78	5.34	5.41	5.51
ค่าเฉลี่ย	5.33	4.9	5.03	

ตารางผนวกที่ 7 อิทธิพลร่วมระหว่างการล้างทำความสะอาดและแปลงเกษตรกร ณ โรงคัดบรรจุผู้
ส่งออก ต่อปริมาณ Coliform ($\log_{10}$ cfu/g) ในฤดูร้อน

การล้าง	แปลง			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
control	5.78	5.34	5.40	5.5
100 $\mu\text{l l}^{-1}$ 10 นาที	5.00	5.01	5.61	5.2
200 $\mu\text{l l}^{-1}$ 10 นาที	5.13	5.34	5.49	5.32
ค่าเฉลี่ย	5.3	5.23	5.5	

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจเชื้อ Coliform และ *E. coli*

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ก่อนการเตรียมตัวอย่างควรทำการฆ่าเชื้อบนพื้นโต๊ะก่อน โดยใช้แอลกอฮอล์ 70 % เช็ดพื้นลงบนโต๊ะแล้วเช็ดด้วยผ้าที่สะอาด

1.2 วางตัวอย่างลงบนเขียงที่ล้างทำความสะอาดเรียบร้อยแล้วและฉีดแอลกอฮอล์ 70 % ใช้มีดจุ่มแอลกอฮอล์ 70 % แล้วฉีกไฟมาเชื้อ ทั้งไว้สักรูเพื่อให้เย็น แล้วจึงนำมาใช้หั่นตัวอย่างเป็นชิ้น ๆ

1.3 เตรียมตัวอย่างเจือจาง 1:10 โดยชั่งหรือตวงตัวอย่างอาหารใส่ในถุง STOMACHER จำนวน 50 กรัม และเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 450 มิลลิลิตร (อ้างอิงตามเอกสาร AOAC Official Method 991.14)

1.4 นำถุงตัวอย่างที่เตรียมแล้วไปใส่ในเครื่อง STOMACHER เพื่อคลุกผสมตัวอย่างประมาณ 1-2 นาที โดยวางถุง STOMACHER แนบกับฝาเครื่องที่เปิดออกมา ใช้มือรีดถุงเพื่อไล่อากาศออกเพื่อป้องกันไม่ให้ถุงแตก

1.5 ให้ปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้วให้อยู่ระหว่าง 6.5-7.5

1.5.1 ตัวอย่างที่มีความเป็นกรดใช้ 1 N NaOH

1.5.2 ตัวอย่างที่มีความเป็นด่างใช้ 1 N HCl

2. การเตรียม Dilution water blank

2.1 การเตรียม dilution water เพื่อใช้เป็น stock solution สำหรับเจือจางตัวอย่างทำได้โดยการเตรียมน้ำกลั่นใส่ในหลอดทดลอง โดยใช้ pipette ดูดน้ำกลั่นโดยใช้ลูกยางสวมที่ปลาย pipette แล้วดูดน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วอุดปากหลอดด้วยจุกสำลี

2.2 หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (pressure cooker หรือ autoclave) ที่ความดัน 17-19 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ความดันไอน้ำนี้ทำให้อุณหภูมิสูงถึง 121.5 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิระดับนี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิด รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย

น้ำร้อนจะแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ และทำให้โปรตีน (enzyme ต่าง ๆ) ที่อยู่ภายในเซลล์เสียสภาพทางชีววิทยา

3. การทำ Dilution

3.1 ใช้ Auto pipette สวมเข้ากับ tip โดยค่อย ๆ แฉกฝากล่อง tip โดยไม่ให้ส่วนของ tip แตะต้อง หรือสัมผัสกับอะไรเลยก่อนที่จะดูดตัวอย่าง เพื่อป้องกันการปนเปื้อน ถ้าปลาย tip สัมผัสกับอะไรก็แล้วแต่ จะต้องเปลี่ยน tip อันใหม่

3.2 จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ ใช้มือข้างที่ถือ Auto pipette ดึงจุกสำลีออก ส่วนอีกมือใช้จับหลอดทดลองลงบนบริเวณปากหลอดทดลองโดยรอบ

3.3 คุณเชื้อที่มีความเจือจาง $1:10$ จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน water blank 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^2$ เขย่าให้เข้ากันดี

3.4 คุณเชื้อที่มีความเจือจาง $1:10^2$ จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน water blank 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^3$ เขย่าให้เข้ากันดี

3.5 คุณเชื้อที่มีความเจือจาง $1:10^3$ จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน water blank 9 มิลลิลิตร จะได้ความเจือจางเท่ากับ $1:10^4$ เขย่าให้เข้ากันดี

3.6 สามารถทำความเจือจางลงได้อีก ตามขั้นตอนดังกล่าว เพื่อทำความเจือจางที่จะนำมาใช้

4. การถ่ายตัวอย่างลงบนแผ่น 3M Petrifilm™

4.1 หลังจากการทำ dilution เรียบร้อยแล้วนั้น ให้นำซอง Petrifilm ออกจากตู้เย็นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 8 องศาเซลเซียส ควรปล่อยให้อุณหภูมิขึ้นถึงอุณหภูมิห้องก่อนเปิดใช้

4.2 ใช้มีดหรือกรรไกรตัดด้านที่มีรอยปรุ

4.3 วางแผ่น 3M Petrifilm™ บนพื้นราบ เปิดแผ่นฟิล์มแผ่นบนขึ้น

4.4 ใช้ Auto pipette ดูดเชื้อที่มีความเจือจาง $1:10^4$, $1:10^3$ และ $1:10^2$ ตามลำดับ โดยแต่ละ dilution ทำ 2 ซ้ำ (duplicate) ถ่ายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นล่าง ให้ Auto pipette ตั้งฉากกับแผ่น 3M Petrifilm™

4.5 เขียน label บนแผ่น 3M Petrifilm™ โดยระบุ batch number, dilution factor, duplicate, วันที่ และเวลาที่ตรวจ

4.6 ค่อย ๆ ปลอ่ยแผ่นฟิล์มแผ่นบนลงระว่างอย่าให้เกิดฟองอากาศ (ใช้นิ้วจับแผ่นฟิล์มรูปคูปดลมา อย่าปลอ่ยให้ตกลงมาเอง)

4.7 วางแผ่นสำหรับกด (spreader) โดยให้ด้านเรียบคว่ำหน้าลงสัมผัสแผ่นฟิล์มแผ่นบน ให้ส่วนวงกลมครอบบริเวณหยดตัวอย่าง

4.8 ใช้นิ้วชี้ค่อย ๆ กดตรงกลางแผ่น spreader จนเห็นตัวอย่างกระจายทั่วบริเวณวงกลม อย่าบิดหรือเลื่อนแผ่น spreader

4.9 ยกแผ่น spreader ขึ้น รอ 2-3 นาที เพื่อให้เนื้อเจลแข็งตัว ก่อนเคลื่อนย้ายแผ่น

5. การบ่มเชื้อ

นำแผ่น 3M Petrifilm™ ที่ทำเสร็จเรียบร้อยแล้ว ให้นำเข้าตู้บ่มเชื้อ (Incubator) บ่มแผ่น 3M Petrifilm™ โดยให้ด้านใสหงายขึ้น สามารถซ้อนแผ่นได้ไม่เกิน 20 แผ่น เวลาและอุณหภูมิที่ในการบ่มเชื้อสำหรับ Coliform บ่มนาน 24 ชั่วโมง (± 2 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 35°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) สำหรับ E. coli บ่มนาน 48 ชั่วโมง (± 2 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 35°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$)

6. การแปลผลการทดลอง

สามารถนับโคโลนีในแผ่น 3M Petrifilm™ ได้ด้วยตาเปล่า ให้ดูส่วนการแปลผลประกอบการอ่านผล เนื่องจากค่าของการวิเคราะห์อยู่ในรูป cfu/g ในการนำมาแปลผลจึงนำค่าที่ได้มาแปรเป็น

จำนวน log หรือแปลค่าให้มีหน่วยเป็น MPN (Most Probable Number) โดยใช้สูตร $\log(\text{petrifilm EC plate}) = 0.37 + 0.9 * (\log \text{MPN})$

7. การอ่านผล

3M PetrifilmTH *E. coli* / Coliform Count (EC) เป็นระบบเพาะเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปซึ่งประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อไวโอลีตเรดไบต์ (VRB) เจลที่ละลายได้ด้วยน้ำเย็น สีข้อมเพื่อบ่งชี้ปฏิกิริยาจากเอ็นไซม์กลูคิวโรนิเดส และสีข้อมเพื่อช่วยในการนับจำนวนโคโลนี อีโคไล ส่วนมากผลิตเอ็นไซม์เบต้ากลูคิวโรนิเดสซึ่งทำให้เกิดตะกอนสีน้ำเงินที่โคโลนี แผ่นฟิล์มแผ่นบนดักฟองแก๊สที่ผลิตโดยโคลิฟอร์มและอีโคไล จากปฏิกิริยาการหมักน้ำตาลแลคโตส 95 % ของอีโคไลผลิตฟองแก๊ส ซึ่งบ่งชี้ได้จากโคโลนีสีน้ำเงินอมแดงที่มีฟองแก๊สอยู่ด้วย (ฟองแก๊สอยู่ภายในระยะ 1 ช่วงโคโลนี)

ตามคำจำกัดความของ AOAC INTERNATIONAL U.S. FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM) โคลิฟอร์ม ได้แก่ แบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบซึ่งผลิตกรดและแก๊สจากปฏิกิริยาสันดาปของการหมักน้ำตาลแลคโตส โคโลนีของโคลิฟอร์มที่เจริญอยู่ในแผ่น 3M PetrifilmTH EC ผลิตกรดซึ่งทำให้สีของเนื้อเจลเข้มขึ้น ฟองแก๊สที่ถูกดักอยู่รอบ ๆ โคโลนีแสดงผลยืนยันว่าเป็นโคโลนีของโคลิฟอร์ม ตามวิธี AOAC INTERNATIONAL *E. coli* มีโคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊ส Total coliform โคโลนีสีแดงและสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊ส