รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาและโครงการวิจัย

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ในนมพาสเจอไรส์

Determination of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* Contamination in pasteurized milk

นางสาวณัฐธยาน์ สนิทบุญ รหัสนักศึกษา 6040202104

นางสาวณัฐณิชา ยังทินนัง รหัสนักศึกษา 5840202136

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา สหกิจศึกษา รหัสวิชา 403483

สาขาวิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

ภาคการศึกษาที่ 2 ปีการศึกษา 2563

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาและโครงการวิจัย

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ในนมพาสเจอไรส์

Determination of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* Contamination in pasteurized milk

นางสาวณัฐธยาน์ สนิทบุญ รหัสนักศึกษา 6040202104

นางสาวณัฐณิชา ยังทินนัง รหัสนักศึกษา 5840202136

ปฏิบัติงานสหกิจ

ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด

สถานที่ตั้ง เลขที่ 402 หมู่ที่ 1 ตำบลสีคิ้ว อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา 30140

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการปฏิบัติงานและงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ปิยะธิดา กุศลรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริง และความทุ่มเทของอาจารย์ ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คุณโสรญา แก่นจันทึก หัวหน้าแผนกควบคุมและตรวจสอบคุณภาพ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด และคุณวินัฐ จิตรเกาะ คุณรจนา เชื้อโคกกรวด นักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ซึ่งเป็นผู้ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการปฏิบัติงานและสถานที่ในการปฏิบัติโครงงานวิจัย ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา รวมถึงขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำแผนกควบคุมและตรวจสอบคุณภาพ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ทุกท่านที่ให้ข้อมูลต่าง ๆ ที่เอื้อต่อการทำงานวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อนึ่ง ผู้วิจัยหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง และขอมอบความกตัญญูกตเวทิตาคุณ แด่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ ณ ที่นี้ และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

ณัฐณิชา ยังทินนัง

ณัฐธยาน์ สนิทบุญ

มีนาคม 2564

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ

กิตติกรรมประกาศ

สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ 1

รายละเอียดเกี่ยวกับสถานประกอบการ 2

ลักษณะหน่วยงาน 2

วิสัยทัศน์ 3

รูปแบบการจัดองค์กร 4

ตำแหน่งและลักษณะงาน 5

พนักงานที่ปรึกษา 5

ระยะเวลาการปฏิบัติงาน 5

บทที่ 2 งานที่ได้ปฏิบัติและผลในการฝึกสหกิจศึกษา 6

วัตถุประสงค์ 6

ผลที่คาดว่าจะได้รับ 6

ผลการปฏิบัติงาน 6-18

ปัญหาในการปฏิบัติงาน 19

สรุปผลการปฏิบัติงาน 19

ขอเสนอแนะสำหรับนักศึกษารุ่นต่อไป 20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 โครงการวิจัย

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* และ

Staphylococcus aureus ในนมพาสเจอไรส์ 21

ที่มาและความสำคัญ 21

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 22

ขอบเขตของโครงการวิจัย 22

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 22

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 23

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ 31

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินโครงการวิจัย 32

ผลการทดลอง 35

สรุปและอภิปราย 40

บทที่ 4 ปัญหาและข้อเสนอแนะ 42

บรรณานุกรม 44

บทที่ 1

บทนำ

การฝึกสหกิจศึกษาเป็นการพัฒนาองค์ความรู้ ความสามารถ ทั้งภาคทฤษฎี และภาคปฏิบัติ ซึ่งช่วยให้นักศึกษาได้รับประสบการณ์ในการทำงานโดยตรง สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำงานในอนาคตได้ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว เป็นสหกรณ์ที่เกษตรกรรวมตัวกันจัดตั้งขึ้นเพื่อร่วมกันแก้ไขปัญหาความเดือดร้อนในด้านเงินทุน การผลิต การจำหน่าย โดยมุ่งที่จะยกฐานะความเป็นอยู่ของสมาชิกเกษตรกรให้ดีขึ้น สหกรณ์ที่ดำเนินธุรกิจรวบรวมและแปรรูปน้ำนมดิบเป็นสหกรณ์ประเภทการเกษตร จัดตั้งขึ้นเพื่อส่งเสริมการผลิตเพิ่มพูนรายได้ให้แก่เกษตรผู้เลี้ยงโคนมที่เป็นสมาชิก โดยดำเนินธุรกิจแบบอเนกประสงค์ ได้แก่ ให้สินเชื่อการเกษตร จัดหาสินค้ามาจำหน่ายรวบรวมน้ำนมดิบให้บริการส่งเสริมเกษตรกรและรับฝากเงินจากสมาชิกในปี พ.ศ. 2539 สหกรณ์ ฯ ได้จัดซื้อทรัพย์สินจากเอกชนเพื่อขยายธุรกิจของสหกรณ์เพิ่มขึ้นและมีสำนักงานสหกรณ์เป็นของตนเองและก่อสร้างศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบจากเกษตรกรสมาชิก ต่อมาในปี พ.ศ. 2544 สหกรณ์ได้ขอรับการสนับสนุนเงินกู้ ASPL จากกรมส่งเสริมสหกรณ์ เพื่อก่อสร้างโรงงานผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ กำลังผลิต 1,000 ลิตร/ชั่วโมง เพื่อแก้ไขปัญหานมล้น โควตาของสหกรณ์โคนมในจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 12 สหกรณ์ และดำเนินการก่อสร้างแล้วเสร็จในปี พ.ศ. 2545 ปัจจุบันได้ดำเนินการผลิตนมโรงเรียนและนมพาณิชย์ รวม 4 รส คือ รสจืด รสหวาน รสสตรอเบอร์รี่ และรสช็อกโกแลต โดยได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยา และใช้ชื่อตราผลิตภัณฑ์ คือ "นมโค-ราช"

1.1 ชื่อและที่ตั้งของหน่วยงาน/สถานประกอบการ

การฝึกประสบการณ์วิชาชีพ ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด เลขที่ 400 หมู่ที่ 1 ถนนสีคิ้ว-ชัยภูมิ ตำบลสีคิ้ว อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา 30140

ที่มา: Google map (2563)

1.2 ลักษณะหน่วยงาน/สถานประกอบการ

สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ได้เกิดขึ้นจากการควบสหกรณ์หาทุนขนาดเล็ก จำนวน 39 สหกรณ์ในอำเภอสีคิ้วเข้าด้วยกันเป็นสหกรณ์การเกษตรขนาดใหญ่ระดับอำเภอ เมื่อวันที่ 1 ธันวาคม 2513 โดยจัดเข้าอยู่ในประเภทสหกรณ์ธนกิจและได้เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนมกราคม 2514 เป็นต้นมา โดยในปีแรกสหกรณ์มีจำนวนสมาชิกเพียง 602 คน และดำเนินธุรกิจแต่เพียงด้านเดียวคือ การจัดหาทุนให้สมาชิกกู้ยืมไปประกอบอาชีพเท่านั้น ต่อมาเมื่อทางราชการได้จัดประเภทสหกรณ์ใหม่ตามกฎกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้เปลี่ยนชื่อเป็น“สหกรณ์การเกษตร” เพื่อให้สามารถดำเนินธุรกิจตอบสนองความต้องการของสมาชิกให้ครบวงจรทั้งด้านสินเชื่อการเกษตร การรวมกันซื้อรวมกันขายและส่งเสริมการเกษตร จึงได้เปลี่ยนประเภทจากสหกรณ์การธนกิจเป็นสหกรณ์อเนกประสงค์ เมื่อวันที่ 17 กรกฎาคม 2515 แต่แล้วก็เปลี่ยนมาเป็นสหกรณ์การเกษตรตามกฎกระทรวงที่ออกใหม่ตั้งแต่วันที่ 3 ตุลาคม 2516 เมื่อได้ดำเนินการควบสหกรณ์หาทุนขนาดเล็กเข้าด้วยกันเป็นสหกรณ์การเกษตรขนาดใหญ่แล้ว ในอำเภอสีคิ้วยังมีสหกรณ์ขายข้าวสีคิ้ว จำกัด อีกรูปหนึ่งที่ดำเนินงานอยู่ในท้องที่เดียวกันมีสมาชิกซ้ำซ้อนกันและดำเนินธุรกิจอย่างเดียวกัน ซึ่งเป็นอุปสรรคในการที่จะส่งเสริมและปรับปรุงฐานะของสหกรณ์ทั้งสองให้สามารถดำเนินธุรกิจได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงได้จดทะเบียนควบสหกรณ์ ขายข้าวสีคิ้ว จำกัด เข้ากับสหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด เป็นสหกรณ์เดียวกัน ตั้งแต่วันที่ 16 ตุลาคม2517 เป็นต้นมา และจดทะเบียนตามพระราชบัญญัติสหกรณ์ พ.ศ. 2511 เมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2517 โดยการควบสหกรณ์หาทุน 39 สหกรณ์ (ควบเมื่อวันที่ 1 ธันวาคม 2513) กับสหกรณ์ขายข้าว สีคิ้ว จำกัด ซึ่งได้ดำเนินงานด้วยความก้าวหน้าตามลำดับ และมีผลงานดีเด่น ดังนี้

1. ในปี 2524 สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ได้รับการคัดเลือกเป็นสหกรณ์ที่มีผลงานดีเด่นประเภทสหกรณ์การเกษตร โดยได้โล่พระราชทานจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช (รัชกาลที่ 9) เมื่อวันที่ 7 พฤษภาคม 2524

2. ในปี 2534 สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ได้รับรางวัลดีเด่น อันดับ 1 ในเขต 6 ประเภทสหกรณ์การเกษตรขนาดใหญ่ โดยได้รับโล่ของ ฯพณฯ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (ดร. อาณัติ อาภาภิรม) เมื่อวันที่ 19 เมษายน 25344.

3. ในปี 2535 สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ได้รับการคัดเลือกเป็นสหกรณ์ที่มีผลงานดีเด่นประเภทสหกรณ์การเกษตร โดยได้โล่พระราชทานจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช (รัชกาลที่ 9) เมื่อวันที่ 14 พฤษภาคม 2535

4. ในปี 2545 สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ได้รับการพิจารณาคัดเลือกเป็นสหกรณ์ที่สามารถดำเนินการเป็นที่ยอมรับในขบวนการสหกรณ์อย่างต่อเนื่อง ในงานวันประกาศปีรณรงค์การสหกรณ์ 2545 โดยได้โล่รางวัลเชิดชูเกียรติจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2545

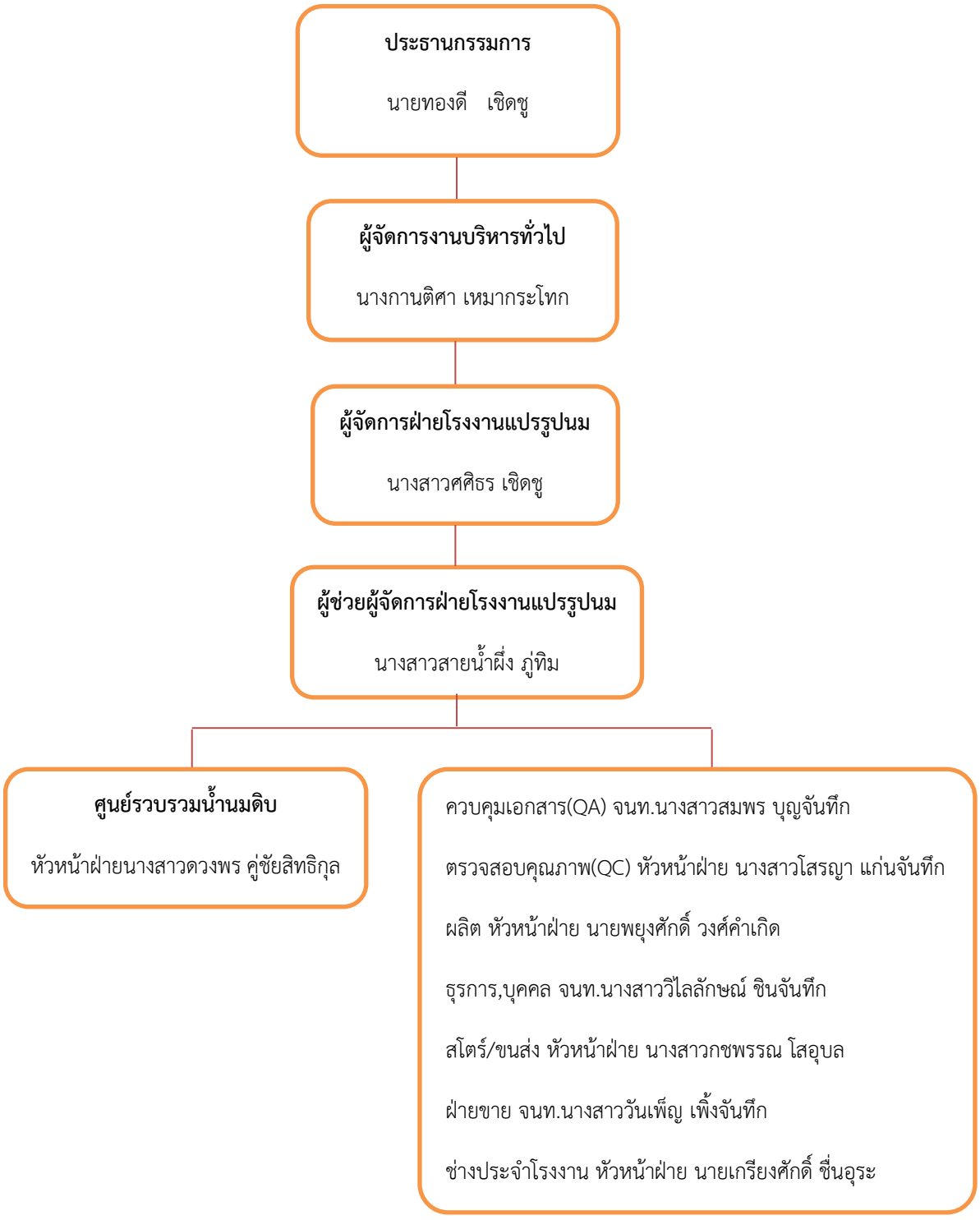
ในปี พ.ศ. 2539 สหกรณ์ ฯ ได้จัดซื้อทรัพย์สินจากเอกชน เพื่อขยายธุรกิจของสหกรณ์เพิ่มขึ้นและมีสำนักงานสหกรณ์เป็นของตนเอง เป็นจำนวนเงินทั้งสิ้น 37,500,000.บาท ประกอบด้วยที่ดินจำนวน 22 ไร่ อาคารสำนักงาน ลานตากผลิตผลพร้อมฉางขนาด 1,000 ตัน ปั๊มน้ำมันขนาด12หัวจ่าย ต่อมาได้มีการปรับปรุงสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิงให้ทันสมัยและก่อสร้างศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบจากเกษตรกรสมาชิก ต่อมาในปี พ.ศ. 2544 สหกรณ์ได้ขอรับการสนับสนุนเงินกู้ ASPL จากกรมส่งเสริมสหกรณ์ เพื่อก่อสร้างโรงงานผลิตนมพาสเจอร์ไรส์กำลังผลิต 1,000 ลิตร/ชั่วโมง ค่าก่อสร้างเป็นเงิน 15,900,000 บาท (สิบห้าล้านเก้าแสนบาทถ้วน) เพื่อแก้ไขปัญหานมล้นโควตาของสหกรณ์โคนมในจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 12 สหกรณ์ และดำเนินการก่อสร้างแล้วเสร็จ ในปี พ.ศ. 2545 ปัจจุบันได้ดำเนินการผลิตนมโรงเรียนและนมพาณิชย์ รวม 4 รส คือ รสจืด รสหวาน รสสตรอเบอร์รี่ และรสช็อกโกแลต โดยได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยาแล้ว และใช้ชื่อตราผลิตภัณฑ์ คือ "นมโค-ราช"

วิสัยทัศน์ (Vision)

ให้บริการแบบครบวงจร สร้างพันธมิตรทางการค้า พัฒนาธุรกิจและองค์กร เอื้ออาทรต่อสมาชิกและชุมชน

1.3 รูปแบบการจัดองค์กร

การฝึกประสบการณ์วิชาชีพ ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด มีโครงสร้างของการจัดองค์กรในการบริหารงาน ดังนี้



ภาพที่ 2 โครงสร้างของการจัดองค์กรในการบริหารงาน

1.4 ตำแหน่งและลักษณะงาน

การฝึกประสบการณ์วิชาชีพ ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด มีตำแหน่งและลักษณะงานดังนี้

1. งานควบคุมคุณภาพ ณ ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ โดยรับน้ำนมดิบจากสมาชิกของสหกรณ์ ตรวจคุณภาพของน้ำนมดิบด้วยการตรวจหาเต้านมอักเสบด้วยวิธี California mastitis test (CMT) การตรวจสอบการนับจานวนเซลล์โซมาติก (Somatic cell) ตรวจหายาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำนมวัว และการตรวจความสะอาดของน้ำนมดิบเพื่อกำหนดราคาให้แก่สมาชิกด้วย Methylene blue

2. งานควบคุมคุณภาพ ณ โรงงานแปรรูปนม ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภค โดยการวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ ทางด้านเคมี และทางด้านจุลินทรีย์ (1) การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ (2) การวิเคราะห์ทางด้านเคมี ได้แก่ Alcohol Test การตรวจการตกค้างของยาปฏิชีวนะ การตรวจสอบค่า pH จุดเยือกแข็ง ความถ่วงจาเพาะ การตรวจหาปริมาณไขมัน และการตรวจหาโปรตีน (3) การตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ การตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) และการตรวจสอบ Coliform bacteria และ *E. coli* ในน้ำนมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile (VRB) (4) การหาความกระด้างของน้ำและหาปริมาณคลอรีนในน้ำ

1.5 พนักงานที่ปรึกษา

การฝึกสหกิจศึกษา ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด มีพนักงานที่ปรึกษา นางสาวโสรญา แก่นจันทึก ตำแหน่งหัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพ (QC)

1.6 ระยะเวลาที่นักศึกษาปฏิบัติงาน

การฝึกสหกิจศึกษา ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ใช้ระยะเวลาในการฝึกประสบการณ์วิชาชีพ เริ่มตั้งแต่วันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2563 ถึงวันที่ 19 มีนาคม พ.ศ.2564

บทที่ 2

งานที่ได้ปฏิบัติและผลในการฝึกสหกิจศึกษา

2.1 วัตถุประสงค์

1) เพื่อให้ได้รับทักษะและองค์ความรู้ในการปฏิบัติงาน

2) เพื่อให้นักศึกษารู้จักรับผิดชอบต่องานที่ได้ปฏิบัติ

3) เพื่อให้นักศึกษามีประสบการณ์ทางด้านอาชีพและการทำงานร่วมกับผู้อื่น

2.2 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำทักษะและองค์ความรู้ที่ได้รับ มาประยุกต์ใช้ในการทำงานในอนาคต

2) นักศึกษามีความรับผิดชอบต่องานที่ได้ปฏิบัติ

3) นักศึกษาสามารถปรับตัวในการทำงานร่วมกับผู้อื่น

2.3 ผลการปฏิบัติงาน

การฝึกสหกิจศึกษา ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ครั้งนี้ได้ทั้งทักษะและความรู้จากการปฏิบัติงานในแต่ละกิจกรรมดังนี้

2.3.1 การปฏิบัติงาน ณ ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ

2.3.1.1 การตรวจคุณภาพน้ำนมดิบ

การตรวจโรคเต้านมอักเสบด้วยน้ำยา CMT ตักนมใส่ลงในไวท์พลาสติกเพรท บีบน้ำยาลงในไวท์พลาสติกเพรทอัตราส่วน 1 : 1 แล้วแกว่งให้ส่วนผสมเข้ากัน หากน้ำนมที่ตรวจมีความหนืดให้นำไปตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยเครื่อง Somatic cell

+1 ส่วนผสมมีความหนืด เห็นชัดขึ้น

+2 ส่วนผสมมีความหนืดอยู่นานพอสมควรเกิดเป็นมูก เคลื่อนที่ช้า

+3 คือ ส่วนผสมมีความหนืดเป็นเมือกข้นจับกันเป็นก้อน

2.3.1.2 การตรวจสอบนับจำนวนเซลล์โซมาติกด้วยเครื่อง Somatic cell (SCC)

จุ่มแผ่นแคสเซ็ทในน้ำนมดิบแล้วกด นำแผ่นวัดเซลล์ใส่ในเครื่อง Somatic cell แล้วกด Run 2 ครั้ง จากนั้นรออ่านค่า การอ่านค่าเกณฑ์การรับน้ำนมดิบ SCC ต้องไม่เกิน 600,000 cell/ml.

2.3.1.3 การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบเพื่อกำหนดราคาด้วยเมทิลีนบลู (Methylene blue ;MB)

(1) เก็บตัวอย่างน้ำนมจากสมาชิกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

(2) หยอด Methylene Blue ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำนมอยู่ ปิดฝาแล้วกลับหลอดขึ้น – ลงจนน้ำนมดิบกับสารละลาย ผสมกัน

(3) นำหลอดทดลองใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 36 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

(4) ดูผลทุกชั่วโมง ถ้าน้ำนมในหลอดทดลองเปลี่ยนเป็นสีขาวเร็วกว่าเกณฑ์ที่กำหนด แสดงว่าน้ำนมไม่สะอาด มีการปนเปื้อนจำนวนจุลินทรีย์มากเกินไป ถ้าไม่มีการเปลี่ยนสีแสดงว่าน้ำนมสะอาด ไม่มีการปนเปื้อน บ่มต่อแล้วดูผลทุก 1 ชั่วโมง ดูผลจนครบ 6 ชั่วโมง

(5) จำนวนชั่วโมงการเปลี่ยนของเมทีลีนบลู (Methylene Blue Test)

- เกรด 1 (6 ชั่วโมง ขึ้นไป) จะได้รับเงิน +1.10 สต/กก

- เกรด 2 (5 - 6 ชั่วโมง) จะได้รับเงิน +0.75 สต/กก.

- เกรด 3 (4 - 5 ชั่วโมง) จะได้รับเงิน 0.35 สต/กก.

- เกรด 4 (น้อยกว่า 4 ชั่วโมง) จะได้รับเงิน -1.10 สต/กก

2.3.1.4 การตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างเบื้องต้นในน้ำนม ด้วยชุดทดสอบ AM – Test

(1) ดูดตัวอย่างนมที่จะทดสอบ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงในหลอดทดสอบ ปิดฝาหลอดด้วยเทปกาวเพื่อป้องกันการระเหยของสารในหลอดทดลอง

(2) บ่มในตู้บ่ม อุณหภูมิ 64 ± 1 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง

(3) อ่านผลถ้าสีของหลอดทดลองเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าไม่พบยาปฏิชีวนะในน้ำนม แต่ถ้าหลอดทดลองยังไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่ามียาปฏิชีวนะในน้ำนม

2.3.2 ผลการปฏิบัติงาน ณ โรงงานแปรรูปนม

2.3.2.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำนมดิบ

(1) การตรวจสอบทางจุลินทรีย์

ทำการเจือจางตัวอย่างน้ำนม กับ Peptone water 0.1 % ให้ได้ความเข้มข้น 10^{-4} แล้วทำการ Pour plate ลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) รอให้อาหารแข็งและนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ดูผลเมื่อบ่มครบ 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีแล้วบันทึกจำนวนที่นับได้ กรณีจำนวนโคโลนีมากจนไม่สามารถนับได้ให้รายงานผล TNTC (Too Numerous To Count)

(2) การตรวจสอบนับจำนวนเซลล์โซมาติกด้วยเครื่อง Somatic cell (SCC)

เปิดเครื่องวิเคราะห์ Somatic cell (Lactoscan SCC) จุ่มแคสเซ็ทในน้ำนมดิบแล้วกด นำแผ่นวัดเซลล์ใส่ในเครื่อง Somatic cell แล้วกด Run 2 ครั้ง จากนั้นอ่านค่าเกณฑ์การรับน้ำนมดิบ SCC ไม่เกิน 500,000 cell/ml.

(3) การตรวจวิเคราะห์คุณภาพนมด้วยแอลกอฮอล์ 75% ในน้ำนมดิบ

- ปิเปตแอลกอฮอล์ 75% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

- ปิเปตตัวอย่างนม 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีแอลกอฮฮล์ 75% ปิดฝาแล้วเขย่าให้เข้ากัน แล้วอ่านผล

+ คือ ไม่ผ่านเกณฑ์ นมเกิดตะกอนแสดงว่านมคุณภาพไม่ดี

- คือ นมไม่เกิดตะกอนหรือมีเม็ดคราบนมแสดงว่านมคุณภาพดี

(4) การตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างเบื้องต้นในน้ำนมด้วยชุดทดสอบ AM – Test

- ดูดตัวอย่างน้ำนมที่จะทดสอบ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงในหลอดทดสอบ

ปิดฝาหลอดด้วยเทปกาวเพื่อป้องกันการระเหยของสารในหลอดทดลอง

- บ่มในตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 64 ± 1 องศาเซลเซียส ประมาณ 2.45 ชั่วโมง

- อ่านผลถ้าสีของหลอดทดลองเปลี่ยนจากสีม่วงเป็น สีเหลืองแสดงว่าไม่พบยาปฏิชีวนะในน้ำนม แต่ถ้าหลอดทดลองยังไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่ามียาปฏิชีวนะในน้ำนม

(5) การตรวจความสะอาดของน้ำนมดิบเมทิลีนบลู (Methylene blue ; MB)

- ปิเปตตัวอย่างน้ำนมดิบปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

- ปิเปตสารละลาย Methylene Blue ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำนมอยู่ ปิดฝาแล้วกลับหลอดขึ้น-ลง จนน้ำนมดิบกับสารละลาย MB ละลายเข้ากัน

- บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 36 ± 1 องศาเซลเซียส ดูผลทุกชั่วโมง หากไม่มีการเปลี่ยนสีแสดงว่าน้ำนมสะอาด เกณฑ์การยอมรับมากกว่าหรือเท่ากับ 4 ชั่วโมง ดูผลสิ้นสุด 6 ชั่วโมง

ถ้าน้ำนมในหลอดทดลองเปลี่ยนเป็นสีขาวเร็วกว่าเกณฑ์กำหนด แสดงว่าน้ำนมไม่สะอาด มีการปนเปื้อนหรือจำนวนจุลินทรีย์มากเกินไป

(6) การตรวจวิเคราะห์ Resazurin tes ในน้ำนมดิบ

- ปิเปตตัวอย่างน้ำนมดิบปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองด้วยวิธีปลอดเชื้อแล้วปิดฝา

- ปิเปตสารละลาย Resazurin ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างน้ำนมดิบกลับหลอดขึ้น-ลงจนน้ำนมดิบกับสารละลาย Resazurin ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

- บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 36 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที

- อ่านผล 1 ชั่วโมงหลังการเติมสารละลาย การเปลี่ยนสีของสารละลาย Resazurin จากสีม่วงน้ำเงินเป็นสีม่วงแดงชมพูหรือขาวตามจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมนั้น

(7) การตรวจหาองค์ประกอบของน้ำนมดิบ

(7.1) การตรวจหาปริมาณความเป็นกรด

- ปิเปตตัวอย่างนม 9 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่

- หยด Phenolpthalene เข้มข้น 2% 3 หยดเขย่า

- ไทเทรตกับสารละสายด่างมาตรฐาน NaOH เข้มข้น 0.1N จนได้จุดยุติ (สีชมพูอ่อน)อ่านค่าที่ได้ แล้วคูณ 0.1

(7.2) การตรวจหาปริมาณไขมัน

- นำกรด Sulfuric acid 84% 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดปั่นไขมัน

- ปิเปิตตัวอย่างน้ำนม 10.75 มิลลิลิตร ใส่หลอดไขมัน เติม Amyl alcohol 1 มิลลิลิตร ใส่หลอด ปิดปากหลอดเขย่า นำเข้าเครื่องปั่นไขมัน 10 นาที อ่านค่าบันทึกผล

(7.3) การตรวจหาปริมาณโปรตีน

- ปิเปตตัวอย่างนม 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ แล้วหยด Phenolpthalene เข้มข้น 2% 3 หยด เขย่า เติม Potassium Oxalate 2 มิลลิลิตร เขย่า ไทเทรตกับ NaOH 0.1 N (จนเป็นสีชมพูอ่อน) จากนั้นเติม Formaldehyde เข้มข้น 36.5-38.0% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร สารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีขาว เขย่า ไทเทรตกับ NaOH 0.1 N จนได้จุดยุติสีชมพูอ่อน อ่านค่า นำค่าที่อ่านไปคำนวณ

- ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำนม 10 มิลลิลิตร หยด Phenolpthalean เติม Formaldehyde 2 มิลลิลิตร ไทเทรตด้วย NaOH 0.1 N

(8) การตรวจสอบค่า pH

- ใช้โพรบจุ่มตัวอย่างน้ำนม รอจนค่าของ pH นิ่งแล้วจึงอ่านค่า

(9) การตรวจวัดค่าความถ่วงจำเพาะ

- เตรียมตัวอย่างน้ำนม ประมาณ 80 มิลลิลิตร เทลงในกระบอกตวง แล้วจุ่ม Lactodensimeter ลงในกระบอกตวง แล้วอ่านค่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2.3.2.2 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ และการตรวจสอบคุณภาพของบรรจุภัณฑ์

(1) นมพาสเจอไรส์

(1.1) ตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป

- เจือจางตัวอย่างน้ำนม กับ Peptone water 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้น้ำนม 1 มิลลิลิตรต่อ Peptone water 9.2 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างน้ำนมที่มีความเข้มข้น 10^{-1}

- ปิเปตตัวอย่างน้ำนมที่เจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ

- เทอาหาร PCA ลงในจานเพาะเชื้อ ทำโดยเทคนิค Pour plate

- รอให้อาหารแข็งและนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยวางในลักษณะคว่ำจาน

- ดูผลเมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนที่นับได้ ในกรณีจำนวนโคโลนีมากจนไม่สามารถนับได้ให้รายงานผล TNTC (Too Numerous To Count)

(1.2) ตรวจหาเชื้อ Coliform bacteria และ *E. coli*

- ปิเปตตัวอย่างน้ำนม 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ

- เทอาหาร VRBA ลงในจานเพาะเชื้อ ทำการ Pour plate

- รอให้อาหารแข็งและนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง วางในลักษณะคว่ำจาน

- ดูผลเมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนที่นับได้ กรณีจำนวนโคโลนีมากจนไม่สามารถนับได้ให้รายงานผล TNTC (Too Numerous To Count)

(1.3) การตรวจสอบคุณภาพของบรรจุภัณฑ์นมพาสเจอไรส์ชนิดถุง

(1) ตรวจวันหมดอายุ

- ตรวจวันหมดอายุตรงซีลแนวตั้ง ซึ่งนมพาสเจอไรส์มีอายุการเก็บรักษาได้ไม่เกิน 10 วัน การนับวันหมดอายุนั้นจะนับตั้งแต่วันที่ผลิตเป็นวันแรกแล้วนับต่อไปจนครบ 10 วัน จะได้วันหมดอายุของนมพาสเจอไรส์

(2) ตรวจน้ำหนักนมถุงพาสเจอไรส์

- ชั่งน้ำหนักของนมถุงพาสเจอไรส์จะต้องมีน้ำหนัก 208 – 212 กรัม โดยจะต้องมีปริมาตรนมทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 200 มิลลิลิตร

(3) ตรวจรอยซีล รอยผนึกของนมถุงพาสเจอไรส์

- ดึงรอยซีลแนวตั้ง และบีบถุงพาสเจอไรส์เพื่อหารอยรั่วตามรอยซีลแนวนอน

(2) นมยูเอชที

(2.1) ตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป

- เช็ดกล่องนมด้วยแอลกอฮอล์ 90 %

- กรีดกล่องนมเป็นครึ่งวงกลม

- ใช้ loop จุ่มนมในกล่อง และทำการ Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar

- นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

- ดูผลเมื่อบ่มครบ 48 ชั่วโมง ตรวจดูรอย Streak ถ้าพบว่ามีรอยเชื้อเจริญ ให้เขียนรายงานผล

(2.2) การตรวจคุณภาพบรรจุภัณฑ์ของนมยูเอชที

(1) ตรวจวันหมดอายุ

- ตรวจวันหมดอายุบนหัวกล่อง ซึ่งนมยูเอชทีมีอายุการเก็บรักษาได้ไม่เกิน 10 เดือน

(2) ตรวจน้ำหนักนมยูเอชที

- ชั่งน้ำหนักของนมยูเอชทีจะต้องมีน้ำหนัก 215 – 217 กรัม โดยจะต้องมีปริมาตรนมทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 200 มิลลิลิตร

(3) การตรวจบรรจุภัณฑ์ของนมยูเอชทีจะมีอยู่ 3 เครื่อง โดยเครื่องที่ 1 Tetra Pak เก็บมา 5 กล่อง

- ตรวจ Conduct วิธีการตรวจ โดยตัดกล่องตรงกลางแบ่งให้เป็น 2 ส่วน ให้ด้านที่มีรอยเชื่อมติดกันอยู่ล้างบรรจุภัณฑ์ให้สะอาดและเช็ดขอบให้แห้งโดยใช้น้ำเกลือ 1% เทน้ำเกลือลงไปในบรรจุภัณฑ์ให้ได้ระดับ 1/3 ของบรรจุภัณฑ์ แช่บรรจุภัณฑ์ในภาชนะ โดยระดับของน้ำเกลือที่อยู่ด้านนอกต้องสูงกว่าระดับของ Flap เทสโดยการจุ่มด้วยขั้วบวก ของแอมมิเตอร์ (สีแดง) ลงในบรรจุภัณฑ์ จุ่มขั้วลบ (สีดำ) ลงไปในสารละลายที่อยู่ในภาชนะ ดูการกระดิกของเข็มแอมมิเตอร์ ถ้าไม่กระดิกแสดงว่าไม่เกิดการรั่วของบรรจุ Conduct ผ่าน ไม่ต้องไป Dye Test และถ้าเข็มกระดิกยืนยันผลด้วยการ Dye Test ว่าเกิดการรั่วของบรรจุภัณฑ์หรือไม่

- ตรวจ Ink Inlectic วิธีการตรวจ นำตัวอย่างนมมา 1 กล่อง นำมาตัดผ่ากลาง แนวตั้ง แล้วฉีดสีลงไปในช่อง air gap เพื่อตรวจรอยรั่วของ strip

- ตรวจ Tear down วิธีตรวจ ดึงดูชั้น strip แบบ 90 องศา ถ้าหาก strip เป็นสีขาวขุ่น ดึงแล้วหลุดออกง่ายแสดงว่าเชื่อมติดไม่สมบูรณ์

- ตรวจ TS วิธีการตรวจ ตัดหัวกล่องกับก้นของกล่องนมมาตรวจโดยเครื่องดึงเพื่อดูรอยซีลว่า PE และฟอยล์มีการเชื่อมติดกันที่สมบูรณ์

ส่วนเครื่อง 2 และ 3 IPI ไม่มีการตรวจ Conduct

- ตรวจ TS วิธีการตรวจ ตัดซ้าย-ขวา กับก้นของกล่องนมมาตรวจโดยใช้เครื่องดึง เพื่อดูรอยซีลว่า PE และฟอยล์มีการเชื่อมติดกันที่สมบูรณ์

- ตรวจ Tear down วิธีการตรวจ โดยใช้การดึงถ้าเห็นเป็นกระดาษยังมีฟอยล์อยู่แสดงว่ามีรอยรั่ว

- ตรวจ Dye Test วิธีการตรวจ เตรียมตัวอย่างตัดเอานมออกโดยตัด ตรงกลางกล่องแนวขวาง 1 กล่อง แนวนอน 1 กล่อง แบ่งให้เป็น 2 ส่วน เท่า ๆ กัน หยดสีให้ทั่ว ทิ้งไว้ 5 นาที ทิ้งให้แห้งเพื่อดูรอยรั่ว

(2.3) การตรวจรอยรั่วด้วยวิธีการละลายเนื้อบรรจุภัณฑ์

- นำกล่องนมยูเอชที ตัดตรงกลางกล่องเป็นช่องสี่เหลี่ยม

- ลอกกระดาษชั้นนอกออกให้เหลือแต่กระดาษสีน้ำตาล

- นำกล่องนมยูเอชทีที่ลอกกระดาษออกไปแช่ Nitric acid 68 % นาน 10 นาทีล้างออกด้วยน้ำประปา

- นำมาแช่ Sodium hydroxide 6 % จนกระทั่งอลูมิเนียมฟอยล์หลุดออกเหลือเพียงชั้น PE นำไปล้างด้วยน้ำเปล่าเช็ดให้แห้ง

- เช็ดให้แห้ง แล้วหยอดหมึกสีแดงให้ทั่วชิ้นบรรจุภัณฑ์

- ใช้มือรีดตามขอบบรรจุภัณฑ์ สังเกตรอยซึมของหมึกสีแดง

2.3.2.3 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์หลังการบรรจุ

(1) การทดสอบโดยประสาทสัมผัส

- ตรวจสภาพทั่วไปของนม เช่น สี กลิ่น และรส

- ใช้ช้อนในการตักชิมน้ำนม

(2) การตรวจองค์ประกอบของน้ำนมหลังการบรรจุ

(2.1) การตรวจหาปริมาณไขมัน

- นำกรด Sulfuric acid 84% 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดปั่นไขมัน 7%

- ปิเปิตตัวอย่างน้ำนม 10.75 มิลลิลิตร ใส่หลอดไขมันที่เตรียมไว้

- เติม Amyl alcohol 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดปิดปากหลอดเขย่า

- นำเข้าเครื่องปั่นไขมัน 10 นาที อ่านค่า บันทึกผล

(2.2) การตรวจหาปริมาณโปรตีน

- ปิเปตตัวอย่างน้ำนม 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่

- หยด Phenolpthalene เข้มข้น 2% 3 หยด เขย่า เติม Potassium Oxalate 1 มิลลิลิตร เขย่า ไทเทรตกับ NaOH 0.1 N จนได้จุดยุติ (สีชมพูอ่อน)

- เติม Formadehyde 2 มิลลิลิตร น้ำนมจะเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีขาว

- ไทเทรตกับ NaOH 0.1 N จนได้จุดยุติ

- ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำนม ทำตามวิธีด้านบน (= b มิลลิลิตร)

- สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนม = 1.7 (a-b)

(3) การตรวจสอบค่า pH

- ใช้โพรบจุ่มตัวอย่างน้ำนม รอจนค่าของ pH นิ่งแล้วจึงอ่านค่า

(4) การตรวจวิเคราะห์หา % Brix

- ทดสอบโดยใช้ Brix Refractometer

- หยดตัวอย่างน้ำนมลงบนปริซึม

- ปิดฝาทับลงบนปริซึม

- อ่านค่าโดยอ่านตามค่าสเกลของ Brix Refractometer

(5) การตรวจวัดค่าความถ่วงจำเพาะ

- เตรียมตัวอย่างน้ำนม ประมาณ 80 มิลลิลิตร เทลงในกระบอกตวง

- จุ่ม Lactodensimeter ลงในกระบอกตวงน้ำนม แล้วอ่านค่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2.3.2.4 การตรวจคุณภาพของน้ำ

(1) การตรวจหาความกระด้างของน้ำ

- ตวงตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่

- ใส่ Buffer Solution 1 หยด

- ใส่ Sulfide Solution 2 หยด

- ใส่ Hardeness indicator 1 หยด

- สังเกตถ้าตัวอย่างมีสีฟ้า แสดงว่า ค่าความกระด้างมีค่าเป็นศูนย์ แต่ถ้าตัวอย่างมีสีม่วงอมชมพู ให้หยด Hardeness indicator ทีละหยด จนกระทั่งตัวอย่างน้ำเปลี่ยนเป็นสีฟ้า (นับจำนวนหยดของ Hardeness indicator เพื่อหาความกระด้างรวม)

(2) การตรวจหาปริมาณคลอรีนในน้ำ

- ตวงตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร

- หยดน้ำยาวัดคลอรีน 4 หยด เขย่า

- อ่านผล โดยวางหลอดทดลองบนแผ่นเทียบสี แล้วอ่านค่าทันที

2.3.2.5 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำสารเคมีที่ใช้ล้างเครื่อง

(1) การตรวจกรด

- ปิเปตตัวอย่างกรด 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่

- หยด Phenolphthalein อินดิเคเตอร์ 3 หยด

- ไทเทรตด้วย NaOH 1 นอล์มอล จนได้จุดยุติ (สีชมพู อ่อน)

- อ่านค่าและคูณด้วย 0.534

(2) การตรวจด่าง

- ปิเปตตัวอย่างด่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่

- หยด Phenolphthalein อินดิเคเตอร์ 3 หยด

- ไทเทรตด้วย HCl 1 นอล์มอล จนได้จุดยุติ (ไม่มีสี)

- อ่านค่าและคูณด้วย 0.400

2.3.2.6 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

(1) การเตรียมอาหาร PCA (Plate count agar)

- ชั่งสาร PCA 9.40 กรัม ลงในขวดน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

- นำไปให้ความร้อนในตู้ไมโครเวฟ

- ทำซ้ำ จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

- นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

(2) การเตรียมอาหาร VRBA (Violet Red Bile Agar)

- ชั่ง VRBA 16.61 กรัม โดยจุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์

- ลนปากขวดและเทลงในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 400 มิลลิลิตร เขย่าให้เป็นเนื้อเดียว

- นำไปให้ความร้อนในตู้ไมโครเวฟใช้เวลา 6-8 นาที

- ทำซ้ำ จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2.3.3 การปฏิบัติงานแผนกสโตร์

ดูแลเรื่องการจัดเก็บสินค้า ระบบการขนส่งสินค้า การจัดเก็บวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์

2.3.4 การปฏิบัติงานแผนกผลิต

2.3.4.1 โรงพาสเจอไรส์

โรงพาสเจอไรส์จะมีถังเก็บนมอยู่ 3 ถัง 1.Silo 2. Cooling Tang1,2 กระบวนการผลิตนมพาสเจอไรส์ หลังจากรับน้ำนมเข้าถังเก็บแล้วนมดิบจะถูกดึงผ่านถัง Mix หลังจากนั้นจะผ่านปั๊มและผ่านตัวกรอง เข้าไปที่ถัง Balance tank ไม่ให้นมมากหรือน้อยก่อนที่จะเข้าเพลส การเข้าเพลสมี 4 ขั้นตอน

1. Heating section
2. Regenerative section
3. Cooling Tower
4. Cooldown

หลังจากผ่านกระบวนการทั้ง 4 ขั้นตอน นมที่ฆ่าเชื้อแล้วจะถูกส่งไปที่ถังรอบรรจุ เพื่อรอบรรจุลงถุงแล้วนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นเพื่อรอจำหน่าย ซึ่งผลิตภัณฑ์จะต้องไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส

2.3.4.2 โรงยูเอชที

โรงยูเอชทีหลังจากที่คุณภาพนมดิบผ่านแล้ว จะนำนมไป Thermization เพื่อลดจุลินทรีย์เบื้องต้น หลังจากนั้นน้ำนมจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการยูเอชทีเพื่อฆ่าเชื้ออีกครั้ง หลังจากการฆ่าเชื้อเสร็จน้ำนมจะถูกเก็บไว้ในถัง A-Tank และน้ำนมจะถูกส่งไปที่ห้องบรรจุ เพื่อรอบรรจุลงกล่องแล้วนำไปเก็บที่คลังสินค้า โดยจะเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

2.4 ปัญหาในการปฏิบัติงานและการแก้ไขปัญหา

ปัญหาในการปฏิบัติงาน	การแก้ไขปัญหา
1. ความรู้พื้นฐานในงานที่ได้รับมอบหมายและไม่ค่อยเข้าใจกับงานเอกสาร	1. สอบถามและฟังคำแนะนาจากพี่ๆและหาความรู้เพิ่มเติมจากอินเตอร์เน็ต
2. ไม่ชำนาญในการใช้อุปกรณ์บางชนิด	2. ฟังคำแนะนำและดูการปฏิบัติจากผู้ดูแล
3. อุบัติเหตุจากสารเคมีระหว่างการปฏิบัติงาน	3. ระมัดระวัง หาอุปกรณ์ที่สามารถป้องกันได้

2.5 สรุปผลการปฏิบัติงาน

ความรู้และทักษะใหม่ที่ได้

1. การฝึกประสบการณ์วิชาชีพทำให้ได้ความรู้และทักษะการทำงานใหม่ๆเพิ่มมากขึ้นเป็นอย่างมาก ซึ่งความรู้และทักษะใหม่ที่ได้มีดังนี้
2. ได้ความรู้และข้อมูลในการรับซื้อน้ำนมดิบ
3. ได้ความรู้และทักษะในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำนม และผลิตภัณฑ์จากนม

การประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน

1. สามารถนำข้อมูลที่ได้มาจากการฝึกประสบการณ์ไปเผยแพร่เพื่อเป็นความรู้แก่ผู้อื่นที่สนใจได้
2. นำความรู้ที่ได้มาพัฒนาตนเองเพื่อให้สามารถมีทักษะด้านการทำงานที่ดีขึ้น

การประยุกต์ใช้ในการทำงานในอนาคต

1. มีความรับผิดชอบต่อหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย
2. สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปต่อยอดหรือเป็นทางเลือกในการทำงานในอนาคตได้

3. รู้จักการวางตัวเข้ากับผู้ร่วมงานคนอื่น ๆ เรียนรู้การทำงานอย่างเป็นระบบ

ข้อเสนอแนะสำหรับนักศึกษารุ่นต่อไป

การฝึกสหกิจมีข้อเสนอแนะสำหรับนักศึกษารุ่นต่อไปดังนี้

1. มีความประพฤติเรียบร้อย มีมนุษย์สัมพันธ์ที่ดี

2. มีความขยันหมั่นเพียร ใฝ่เรียนรู้ อดทนและตรงต่อเวลา

3. มีความรับผิดชอบต่องานที่ได้รับมอบหมาย

บทที่ 3

โครงการวิจัย

เรื่อง การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมพาสเจอไรส์

3.1 ที่มาและความสำคัญ

ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา มีศูนย์รับน้ำนมดิบมากกว่า 30 แห่งประกอบไปด้วยศูนย์รับน้ำนมขนาดเล็กไปจนถึงศูนย์รับน้ำนมขนาดใหญ่ โดยสหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด เป็นหนึ่งในศูนย์รับน้ำนมขนาดเล็ก ในองค์กรการทำงานนั้นประกอบด้วยแผนกต่าง ๆ เช่น ฝ่ายรับน้ำนมดิบ ฝ่ายผลิต ฝ่ายตรวจสอบคุณภาพ (QC) ฝ่ายควบคุมเอกสาร (QA) ฝ่ายสโตร์/ขนส่ง และฝ่ายขาย ปัจจุบันพบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในน้ำนมพาสเจอไรส์ ซึ่งในน้ำนมพาสเจอไรส์ที่ผลิตได้นั้นเป็นนมผลิตพร้อมดื่มให้กับโครงการนมโรงเรียน หรือผลิตภัณฑ์นมพาณิชย์ ในการสุ่มตรวจตัวอย่างนมพาสเจอไรส์จากสถานประกอบการที่ได้ทำการสุ่มตรวจทุก ๆ 1 ชั่วโมง เพื่อนำมาทำการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านจุลินทรีย์ โดยการตรวจวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ทั่วไปทำการตรวจสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ส่วนการตรวจสอบ Coliform bacterial และ *E.coli* ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Agar (VRBA) พบว่าจากการสุ่มนำตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรส์มาตรวจวิเคราะห์เชื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยพบแบคทีเรียที่เป็นโคลิฟอร์ม ซึ่งถือว่าเป็นปัญหาของการผลิต ดังนั้นเพื่อไม่ให้นมเป็นแหล่งการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จึงควรมีการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และตรวจวิเคราะห์ยืนยัน เพื่อให้เป็นข้อมูลซึ่งแสดงถึงคุณภาพการจัดการด้านการผลิต และกระบวนการเก็บผลิตภัณฑ์ก่อนนำสู่ผู้บริโภค ดังนั้นการศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบแบคทีเรียก่อโรคกลุ่มแกรมบวก 2 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ควบคุมไม่ให้มีการปนเปื้อนในน้ำนมพาสเจอไรส์ และผลิตภัณฑ์นม

3.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ในนมพาสเจอไรส์

1.2.2 เพื่อยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* โดยการยืนยันทางชีวเคมี

3.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 เก็บตัวอย่างนมพาสเจอไรส์ โดยจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากโรงงานแปรรูปนม สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด

1.3.2 ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus*, *S. aureus* โดยการทดสอบด้วยชีวเคมี

3.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.4.1 ทราบถึงสาเหตุของการปนเปื้อนของเชื้อ *B.cereus* และ *S.aureus* จากผลของการนำมายืนยันทางชีวเคมี

3.4.2 สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประกอบการดูแลอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการผลิต และหาแนวทางป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย

3.4.3 เป็นแนวทางในการพัฒนาด้านการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ต่อไป

3.4.4 เป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อเป็นประโยชน์ให้กับผู้สนใจในการศึกษาครั้งต่อไป

3.5 นิยามคำเฉพาะ

3.5.1 *Staphylococcus* sp. หมายถึง แบคทีเรียก่อโรค ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) ไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ (Non – spore forming bacteria) ลักษณะโคโลนี กลม (Coccus) ขอบเรียบนูนมีสีครีมเหลือส้ม อยู่รวมกันเป็นพวงองุ่น แต่อาจจะพบเป็นเซลล์เดี่ยวเป็นคู่หรือสายสั้น

3.5.2 *Bacillus cereus* หมายถึง แบคทีเรียก่อโรค ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (Rod shape) สร้างสปอร์ (Spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (Aerobic bacteria) สามารถสร้างสารพิษ (Toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น

3.5.3 นมพาสเจอไรส์คือ นมโคที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือทำให้ร้อนไม่ต่ำกว่า 72 องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 15 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า

3.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

3.6.1 กระบวนการแปรรูปน้ำนมด้วยความร้อน

กระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนเป็นกะบวนการที่สำคัญในอุตสาหกรรมนม เนื่องจากนม และผลิตภัณฑ์นมสามารถเกิดความเสื่อมเสียได้ง่ายทั้งทางด้านจุลชีววิทยา และทางด้านเคมี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการให้ความร้อนเพื่อยับยั้งเชื้อจุลลินทรีย์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิดที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์นม อย่างไรก็ตามการแปรรูปนมด้วยความร้อนอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์นม เช่น การเกิดกลิ่นนมต้ม และการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการบางอย่างที่ไม่ทนต่อความร้อน เป็นต้น

ประสิทธิภากการแปรรูปนมด้วยความร้อนขึ้นอยู่กับรูปแบบอุณหภูมิ และเวลา ที่ได้รับในแต่ละกระบวนการ โดยปกติรูปแบบอุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการแปรรูปนมด้วยความร้อนจะมีความแตกต่างกัน โดยมีวัตถุประสงค์ของกระบวนการแปรรูปนมและผลิตภัณฑ์นมด้วยความร้อน ดังนี้

(1) ความปลอดภัยของผู้บริโภค จะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella species*, *Listeria monocytogenes* และ *Campylobacter jejuni* เป็นต้น โดยรวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่สามารถปนเปื้อนได้ในนม อย่างไรก็ตามจะไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถทน

ความร้อนสูงในนม เช่น Bacillus anthracite เป็นต้น ดังนั้นการใช้กระบวนการพาสเจอไรส์จึงเพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในนมเหล่านี้ได้

(2) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จุลินทรีย์ และการยับยั้งปฏิกิริยาทางเคมีบางอย่างที่ส่งผลเสียต่อผลิตภัณฑ์ เช่น ปฏิกิริยาโทซิเดชันของไขมัน (autoxidation) จะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้นได้ (Walstra และคณะ, 2006)

3.6.2 กระบวนการพาสเจอไรส์

พาสเจอไรส์ หมายความว่ากรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) โดยใช้อุณหภูมิและเวลาอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้

(1) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 63°C และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาทีแล้ว ทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5°C หรือต่ำกว่า

(2) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 72°C และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 15 วินาทีแล้ว ทำให้เย็นลงทันทีทีอุณหภูมิ 5°C หรือต่ำกว่า

กระบวนการพาสเจอไรส์เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อน เหมาะสำหรับอาหารที่เป็นของเหลว และของไหลแบบนิวโทเนียน (newtonian fluid) เช่น นม น้ำผลไม้ และเบียร์ เป็นต้น มีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Saravacos และ Kostaropoulos, 2002)

3.6.3 รูปแบบของกระบวนการพาสเจอไรส์

จากข้อกำหนดของกระบวนการพาสเจอไรส์นม พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่นมได้รับในกระบวนการพาสเจอไรส์มีอยู่หลากหลายรูปแบบ และสามารถแบ่งประเภทของกระบวนการพาสเจอไรส์ในอุตสาหกรรมนมตามรูปแบบอุณหภูมิและเวลาที่นมได้รับเป็น 3 ประเภท (ตารางที่3.1) ดังนี้

4.6.3.1 วิธีใช้ความร้อนต่ำเวลานาน (LTLT)

เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารด้วย ความร้อนแบบไม่ต่อเนื่อง (batch) โดยจะให้ความร้อนแก่นมที่อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 30 นาที อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน

กระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์นมด้วยความร้อนส่วนใหญ่จะเป็น กระบวนการแบบต่อเนื่อง (continuous) เช่น กระบวนการ HTST และ UHT เป็นต้น

2.6.3.2 วิธีใช้ความร้อนสูงเวลาสั้น (HTST)

เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารด้วย ความร้อนแบบต่อเนื่องที่ใช้อุณหภูมิสูงแต่เวลาสั้น ซึ่งรูปแบบอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในกระบวนการ HTST จะขึ้นอยู่กับชนิด และคุณสมบัติบางอย่างของอาหาร รวมถึงสภาวะในการเก็บรักษาอาหาร (Ibarrola และคณะ, 2002) สำหรับกระบวนการ HTST ในน้ำนมจะใช้อุณหภูมิระหว่าง 72 ถึง 75°C เป็นเวลา15 ถึง 20 วินาที แล้วจึงลดอุณหภูมินมลงอย่างรวดเร็ว โดยสามารถตรวจสอบประสิทธิภาพ ของกระบวนการ HTST ได้โดยอาศัยเอนไซม์ฟอสฟาเทสเป็นตัวบ่งชี้ เนื่องจากนมเมื่อได้รับอุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการ HTST ตามที่กำหนดจะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ฟอสฟาเทสได้ ในส่วนผลิตภัณฑ์นมที่มีความเป็นกรดหรือมีปริมาณไขมันมากที่ร้อยละ 8 จะอาศัยเอนไซม์เปอร์-ออกซิเดส (peroxidase) เป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพของกระบวนการ โดยกระบวนการนี้จะใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C เป็นเวลาประมาณ 5 วินาที ซึ่งเพียงพอต่อการยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

2.6.3.3 วิธีใช้ความร้อนสูงพิเศษเวลาสั้น (ultra pasteurization)

เป็นกระบวนการ สำหรับยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมโดยเฉพาะ เนื่องจากผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการใช้ความร้อนสูงพิเศษเวลาสั้นจะสามารถเก็บไว้ได้นาน 30 ถึง 40 วัน ในขณะที่ผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอไรส์แบบปกติจะมีอายุการเก็บรักษาเพียง 2 ถึง 16 วัน โดยกระบวนการนี้จะให้ความร้อนแก่นมที่อุณหภูมิระหว่าง 125 ถึง 138°C เป็นเวลาน้อยกว่า 2 วินาที และทำการลดอุณหภูมิของนมลงให้ต่ำกว่า 7°C ซึ่งข้อดีของกระบวนการนี้คือสามารถคงคุณภาพ และยืดอายุการเก็บรักษาของนมไว้ได้มากกว่าวิธีอื่น ๆ (Teknotext, 1995)

ตารางที่ 3.1 ประเภทของกระบวนการพาสเจอไรส์ในอุตสาหกรรมนม

กระบวนการพาสเจอไรส์	**อุณหภูมิ (°C)**	**เวลา (วินาที)**
วิธีใช้ความร้อนต่ำเวลานาน (LTLT)	63	1800
วิธีใช้ความร้อนสูงเวลาสั้น (HTST)	72-75	15-20
วิธีใช้ความร้อนสูงเวลาสั้นในนมไขมันสูง (HTST)	>80	1-5
วิธีใช้ความร้อนสูงพิเศษเวลาสั้น (ultra pasteurization)	125-138	<2

ที่มา: Teknotext (1995)

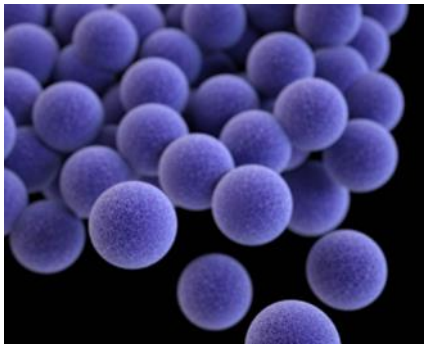
3.6.4 การต้านทานความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (thermal resistance of microbial)

จุดประสงค์หลักของกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนคือการใช้ความร้อนที่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ดังนั้นเพื่อให้สามารถกำหนดอุณหภูมิและเวลาของอาหารในกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนที่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจำเป็นต้องทราบถึงความสามารถในการต้านทานต่อความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการต้านทานความร้อนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ และลักษณะของอาหาร โดยปกติเซลล์จุลินทรีย์ทั่วไป (vegetative cell) และยีสต์จะมีความสามารถในการต้านทานความร้อนได้น้อยกว่าสปอร์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ความสามารถในการต้านทานของความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันจะมีค่าต่างกันเมื่ออยู่ในอาหารที่มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันเช่น pH, water activity (a_w) และเป็นองค์ประกอบของอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมัน เป็นต้น

(ภาคย์ มาลัยกฤษณะชลี, 2013)

จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษมีสาเหตุสำคัญจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในอาหาร ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อ และชนิดของสารพิษที่เชื้อขับออกมา เมื่อมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหารจะทำให้เชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และผลิตสารพิษได้อย่างรวดเร็วจนมีปริมาณมากพอที่จะทำให้เกิดอาการป่วยได้ ตัวอย่างเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญ ได้แก่

(1) *Staphylococcus aureus* (ภาพที่ 3.1) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบโครงสร้างเซลล์มีรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่ง หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดีและเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus* นั้นมีชื่อเรียกคือ *Staphyloenterotoxicosis* และ *Staphyloenterotoxemia*



ภาพที่ 3.1 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อ *S. aureus*

ที่มา: https://pubmlst.org/sites/default/files/content/organism/images/2020-08/19059_lores.png

แหล่งที่พบและสาเหตุการเกิดโรค เชื้อ *S. aureus* ที่แพร่กระจายทั่วไป อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการปนเปื้อนในตัวอย่างจำนวนมากได้ เชื้อจะมีชีวิตอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหาร หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ซึ่งมนุษย์และสัตว์นั้นเป็นแหล่งปฐมภูมิของเชื้อชนิดนี้ โดยจะพบอยู่ตามระบบทางเดินหายใจ ลำคอ เส้นผม และผิวหนังอาจพบเชื้อชนิดนี้ ได้ถึง 60-80% ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมไปถึงขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นก็เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่ง คือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษอย่างรวดเร็ว

อาการของโรค ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลาย ๆ กรณีโดยทั้งนี้ จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร และปริมาณสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย อาการทั่วไปที่พบ คือ หลังจากรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 2-4 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน วิงเวียนเป็นตะคริวในช่องท้อง และอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน เช่น ภาวะขาดน้ำอย่างรุนแรง ปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

การป้องกัน สามารถทำได้โดยอบรมให้ผู้ประกอบอาหารมีความรู้และเห็นถึงความสำคัญของการรักษาความสะอาดในขณะปรุงอาหารเพื่อเป็นการลดโอกาสในการปนเปื้อนของเชื้อ ส่วนในการบริโภคนั้นให้รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ หรือหากยังไม่รับประทานในทันทีนำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วนั้นไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำเพียงพออย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อ และอุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง

มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ค่ามาตรฐานที่กำหนดสำหรับการตรวจการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภคชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยวิธีพาสเจอไรส์ได้แก่ นมโค นมปรุงแต่ง ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากนมของสัตว์อื่นที่ไม่ใช่นมของโค ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2543-2545 กำหนดให้ ต้องไม่พบเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ซึ่งการตรวจเชื้อชนิดนี้ กำหนดให้ใช้วิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ตามวิธี Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online U.S. food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบันหรือวิธีที่มีความถูกต้องเทียบเท่า

(2) *Bacillus cereus* (ภาพที่ 3.2) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งขนาดใหญ่ และ sporangium ในสปอร์จะไม่บวม ลักษณะพิเศษเหล่านี้ รวมถึงลักษณะสำคัญทางชีวเคมีและการวิเคราะห์การเคลื่อนไหวสามารถใช้บอกความแตกต่างและยืนยันลักษณะเฉพาะของ *B. cereus* ได้

ภาพที่ 3.2 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อ *B. cereus*

ที่มา: http://footage.framepool.com/en/shot/571359986-bacterial-infection-bacterial-multiplication-bacillus-anthracis-bacillus-cereu

แหล่งที่พบและสาเหตุการเกิดโรค เชื้อ *B. cereus* สามารถพบได้ในอาหารทั่วไป ตัวอย่าง เช่น เนื้อสัตว์ นม ผัก ทำให้เกิดอาการท้องร่วงจากอาหารเป็นพิษ การระบาดของอาหารที่ทำให้เกิดโรคโดยทั่วไปจะเกิดจากผลิตภัณฑ์จากข้าว และอาหารจำพวกแป้งอื่น ๆ เช่น มันฝรั่ง พาสต้า และผลิตภัณฑ์เนยแข็ง รวมทั้งอาหารปรุงแต่ง เช่น ซอส พุดดิ้ง ซุป ลูกชิ้น พาย และสลัด

อาการของโรค อาการที่เกิดเหมือนกับอาการท้องร่วงที่เกิดจากการได้รับเชื้อ *Clostridium perfringens* คือ ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ มีอาการปวดเกร็งที่ช่องท้อง ซึ่งจะเกิดภายใน 6-15 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน อาจมีอาการคลื่นไส้พร้อม ๆ กับปวดท้อง แต่อาการอาเจียนเกิดขึ้นไม่บ่อยนักอาการของโรคจะยังคงอยู่นานที่สุด 24 ชั่วโมง อาหารเป็นพิษชนิดที่ทำให้เกิดอาการอาเจียนจะมีลักษณะเฉพาะ คือ มีอาการคลื่นไส้และอาเจียนภายในเวลา 5-6 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน

การป้องกัน ทำได้โดยการเก็บอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 C° หรือเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 55-60 C° และควรจะมีการอุ่นอาหารที่เก็บไว้ก่อนที่จะนำมารับประทานเสมอเพื่อป้องกันการงอกของสปอร์ในเชื้อชนิดนี้

มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ค่ามาตรฐานที่กำหนดสำหรับการตรวจการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภคชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยวิธีพาสเจอร์ไรส์ได้แก่ นมโค นมปรุงแต่ง ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากนมของสัตว์อื่นที่ไม่ใช่นมของโค ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2543-2545 กำหนดให้ *B. cereus* ต้องไม่

เกิน 100 CFU ในตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ซึ่งการตรวจเชื้อชนิดนี้ กำหนดให้ใช้วิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามวิธี Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online U.S. food and Drug Administration ที่เป็นปัจจุบันหรือวิธีที่มีความถูกต้องเทียบเท่า (กิตติศักดิ์ วงศ์อนุ และคณะ, 2558)

3.6.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในประเทศไทยก็มีการศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในนม (ในปี พ.ศ.2556, สุทธิทัศน์ และคณะ) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา และชุดการผลิตกับปริมาณเชื้อ *B. cereus* ที่ปนเปื้อนในนมยูเอชทีจำนวน 74 ตัวอย่างที่สุ่มตัวอย่างจากโรงเรียนในจังหวัดชลบุรีในช่วงเดือนมกราคม – สิงหาคม 2556 พบการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ ในนมยูเอชทีจำนวน 17 ตัวอย่าง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 22.97 เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อชนิดนี้ ในนมยูเอชทีของชุดการผลิตทั้ง 3 ชุด ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในช่วงระยะเวลา 3–73 วันพบปริมาณเชื้อชนิดนี้อยู่ในช่วง 3.73-5.13 logCFU/ml และเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อชนิดนี้ จำแนกตามชุดการผลิตของนมยูเอชที พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ในประเทศบราซิลก็มีการศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* ในนมพาสเจอไรส์และพื้นผิวอุปกรณ์ในกระบวนการผลิตโดยในปี2009 Salustiano และคณะ รายงานว่าพื้นผิว post-pasteurization เป็นบ่อเกิดของ *B. cereus* จากการจำแนกเชื้อโดยอาศัยเทคนิค ribotyping สามารถจำแนกได้เป็น 7 ribogroups แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของจุลินทรีย์พื้นผิวอุปกรณ์ที่มีบทบาทสำคัญในการปนเปื้อนของนมพาสเจอไรส์ และในประเทศอิหร่าน (Jamali และคณะ, 2015) ได้ทำการศึกษาความชุก และความต้านทานต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Staphylococcus* ที่แยกได้จากน้ำนมดิบ (วัวและแกะ) และผลิตภัณฑ์นมจากตัวอย่างนมดิบจากวัวและแกะทั้งหมด 2,650 ตัวอย่าง ถูกนำไปทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ ซึ่งมีตัวอย่างที่มีเชื้อทนต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 328 ตัวอย่าง แยกออกเป็นดังนี้ ยาปฏิชีวนะ (47.3%) oxacillin (16.2%) lincomycin (11.9%) clindamycin (11.3%) erythromycin (7.9%) streptomycin (5.8%) cefoxitin (5.5%) kanamycin (4%) chloramphenicol (3.7%) และ gentamicin (2.1%) ผลการศึกษานี้ แสดงให้เห็นการบริโภคน้ำนมดิบ และผลิตภัณฑ์นมมีความเสี่ยงที่อาจเกิดการติดเชื้อจากอาหารในภูมิภาคนี้

จากการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่าเชื้อก่อโรคอาจเกิดการปนเปื้อนได้ในน้ำนมดิบรวมถึงผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภค จากข้อมูลที่สามารถสืบค้นได้ในปัจจุบันพบว่า การสำรวจการปนเปื้อน

ของเชื้อก่อโรคในน้ำนมนั้นยังมีข้อมูลน้อยมาก จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในนมพาสเจอไรส์ 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus*

3.7 อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้

1. จานเลี้ยงเชื้อ
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. ห่วงและเข็มเขี่ยเชื้อ (loop and needle)
4. หลอดแก้วพร้อมฝาปิด
5. แผ่นสไลด์แก้ว (glass slides)
6. ปิเปต (pipette)
7. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (rack)
8. ชุดสารเคมีที่ใช้สำหรับทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ การย้อมแกรม
9. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
10. เครื่องเขย่าผสม (vortex mixture)
11. กล้องจุลทรรศน์ (light microscope)
12. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Auto Clave)
13. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar Flow)
14. สารละลายแอลกอฮอล์ 70%
15. น้ำกลั่น (distilled water)
16. อาหาร Plate Count agar
17. อาหาร Violet red bile agar
18. อาหาร Mannitol-egg yolk- agar

19. อาหาร Baird-Parker medium

20. อาหาร Brain heart infusion (BHI) broth

21. อาหาร Trypticase (tryptic) soy agar (TSA)

22. อาหาร Phenol red glucose broth

23. อาหาร Phenol red mannitol broth

24. อาหาร Nitrate broth

25. สารละลาย peptone water (0.1%) ปลอดเชื้อ

3.8 วิธีดำเนินการวิจัย

3.8.1 การสุ่มตัวอย่างนมพาสเจอไรส์

สุ่มตัวอย่างนมพาสเจอไรส์หรือนมถุงโรงเรียน จากโรงงานแปรรูปนม สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ซึ่งมีเครื่องผลิตนมพาสเจอไรส์ทั้งหมด 6 เครื่อง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวันรวมระยะเวลา 4 วัน คือเก็บตัวอย่างนมพาสเจอไรส์ จากเครื่องผลิตทั้ง 6 เครื่อง เครื่องละ 1 ถุง รวมเป็น 24 ถุง

3.8.2 การตรวจหาเชื้อในน้ำนมพาสเจอไรส์เบื้องต้น

นำตัวอย่างนมพาสเจอไรส์ ไปตรวจสอบคุณภาพน้ำนมทางกายภาพ และทางเคมี โดยการวัดความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำนมด้วยเครื่อง pH meter ตรวจสอบคุณภาพน้ำนม ด้วยวิธี Pour plate โดยปิเปตตัวอย่างนมพาสเจอไรส์ 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet red bile agar และอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} บ่มที่อุณหภูมิ 30 ℃ เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาย้อมแกรม

3.8.3 การตรวจยืนยัน *Bacillus cereus* เบื้องต้น (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

นำเชื้อจากข้อ 3.8.2 บนอาหาร Plate count agar มาทำการตรวจสอบเชื้อบนอาหาร Mannitol-egg yolk-agar บ่มที่ 30℃ เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแตะโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ คือ โคโลนีมีลักษณะสีชมพู มี zone ขุ่น นำมาทดสอบดังนี้

(1) Phenol red glucose broth บ่ม AnO_2 ที่ 35°C 24 ชั่วโมง

ผลบวก: อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นและเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง

ผลลบ: อาหารเลี้ยงไม่เปลี่ยนสี

B. cereus ให้ผลบวก เนื่องจาก *B. cereus* เจริญได้ในสภาวะไร้ออกซิเจนและสร้างกรดจากน้ำตาล glucose

(2) Nitrate broth บ่มที่ 35°C 24 ชั่วโมง ทดสอบหา nitrite โดยเติม nitrite detection reagents A และ C อย่างละ 0.25 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลบวก: เกิดสีส้มภายใน 10 นาที

ผลลบ: สีไม่เปลี่ยนแสดงว่า nitrate อาจไม่ถูกรีดิวซ์หรือถูกรีดิวซ์จนกลายเป็นแก๊สไนโตรเจน ทดสอบต่อโดยเติม zinc dust ถ้าเกิดสีส้มแสดงว่า nitrate ไม่ถูกรีดิวซ์ อ่านผลเป็นลบถ้ายังคงไม่มีสีแสดงว่า nitrate ถูกรีดิวซ์เป็นแก๊ส อ่านผลเป็นบวก

B. cereus ให้ผลบวก เนื่องจาก *B. cereus* รีดิวซ์ nitrate เป็น nitrite หรือแก๊สไนโตรเจน *B. cereus* บางสายพันธุ์ (ส่วนน้อย) ให้ผลลบ

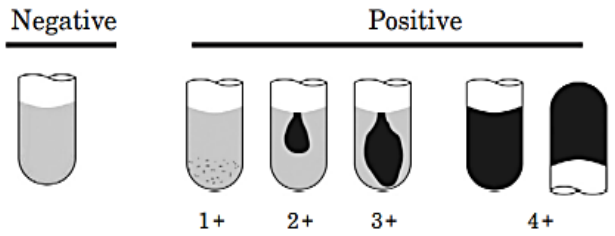
3.8.4 การตรวจยืนยัน *Staphylococcus aureus* เบื้องต้น

นำเชื้อจากข้อ 3.8.2 บนอาหาร PCA มาทำการตรวจสอบเชื้อบนอาหาร Baird-Parker medium บ่มที่ 35°C เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแตะโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ คือ โคโลนีมีลักษณะกลมนูน สีเทาถึงสีดำ ขนาด 2-3 มิลลิเมตร มีโซนขุ่นรอบโคโลนีอาจมีโซนใสชั้นนอก นำมาทดสอบดังนี้

(1) Coagulase test

แตะโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะลงใน BHI 0.3 มิลลิลิตร และ TSA slant ที่มีปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่ 35°C 24 ชั่วโมง (เก็บ TSA slant บ่มที่อุณหภูมิห้องเพื่อตรวจวิเคราะห์เพิ่มหรือทดสอบ coagulase ซ้ำ) เติม coagulase plasma (rabbit) with EDTA 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่ 35°C สังเกตการจับตัวกันเป็นลิ่ม (clot) ในหลอด (รูปภาพที่ 3.3) เป็นระยะ ๆ ภายใน 6 ชั่วโมง กรณีที่จับเป็นลิ่มแข็ง คือเอียงหรือคว่ำหลอดแล้วยังอยู่ในสภาพเดิม 4+ สรุปว่าพบ *S. aureus* แต่กรณีที่เป็นลิ่มบางส่วนในระดับ 2+ และ 3+ ให้บ่มต่ออีก 18-48 ชั่วโมง แล้ว

อ่านผล ถ้าผลไม่เป็น 4+ ให้ตรวจวิเคราะห์เพิ่มในข้อ (2) ถ้าไม่มีการจับตัวกันเป็นลิ่มเกิดขึ้นหรือเกิดในลักษณะ 1+ ให้สรุปเป็นผลลบ



รูปภาพที่ 3.3 แสดงชนิดปฏิกิริยาการจับตัวกันเป็นลิ่มในหลอด

- negative: ไม่พบการจับตัวของไฟบริน (fibrin formation)

1+ positive: เกิดการจับตัวของไฟบรินแบบกระจายเล็กน้อย

2+ positive: เกิดการจับตัวเป็นก้อนไฟบรินขนาดเล็ก

3+ positive: เกิดการจับตัวเป็นก้อนไฟบรินขนาดใหญ่

4+ positive: เกิดการจับตัวกันทั้งหมดในหลอด ทดสอบและเมื่อคว่ำหลอดลงก้อนไฟบรินไม่เคลื่อนลงมา

(2) Carbohydrate utilization

เขี่ยเชื้อลงใน phenol red glucose broth และ phenol red mannitol broth หรืออาหารเลี้ยงเชื้ออื่นที่มี glucose และ mannitol ตามความเหมาะสมบ่ม AnO_2 ที่ 37°C ระยะเวลา 5 วัน

ผลบวก: อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง

ผลลบ: อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนสี

S. aureus ให้ผลบวก เนื่องจากใช้น้ำตาลทั้ง 2 ชนิดได้

3.9 ผลการทดลอง

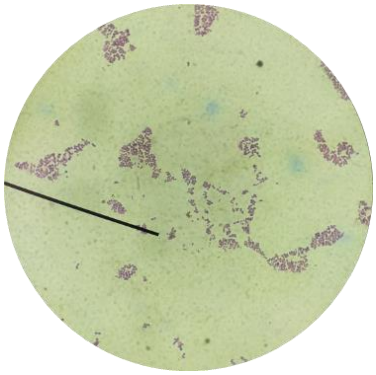
3.9.1 การสุ่มตรวจเชื้อเบื้องต้น

จากการสุ่มตรวจหาเชื้อเบื้องต้น จากการสุ่มตัวอย่างจากนมพาสเจอไรส์จากทั้งหมด 6 เครื่อง พบว่ามีการปนเปื้อน 10 ตัวอย่าง จาก 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.6 % จากจำนวนตัวอย่าง (ดังตารางที่ 3.2) สามารถแยกได้ 4 ไอโซเลท และจากการย้อมสีแกรมพบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 4 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่ 1 มาจากเครื่องที่3 และไอโซเลท 2 มาจากเครื่องที่5 มีลักษณะรูปร่างกลมคล้ายพวงองุ่น (ภาพที่ 3.4) ไอโซเลทที่ 3 มาจากเครื่องที่6 และ 4 มาจากเครื่องที่3 มีลักษณะรูปร่างท่อนยาว (ภาพที่ 3.5)

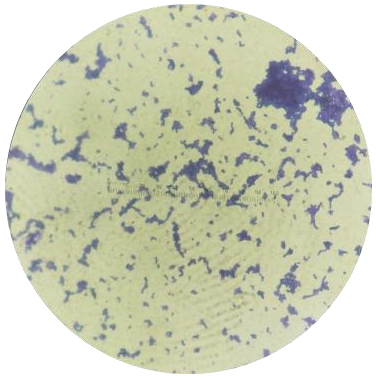
ตารางที่ 3.2 ตรวจหาเชื้อเบื้องต้นจากการสุ่มตัวอย่างจากนมพาสเจอไรส์

วันที่ / เครื่อง	1		2		3		4		5		6	
11 ก.พ. 2564			✓	✓								
12 ก.พ. 2564	✓	✓							✓	✓		
15 ก.พ. 2564											✓	✓
16 ก.พ. 2564					✓	✓						

หมายเหตุ: เครื่องหมาย ✓ คือมีการพบเชื้อ

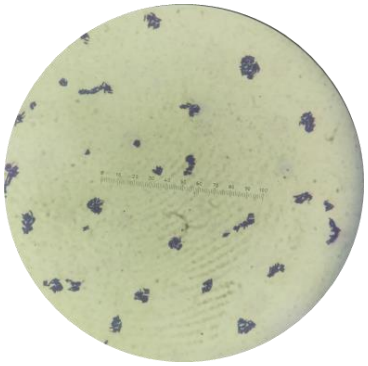


แบคทีเรียไอโซเลทที่ 1

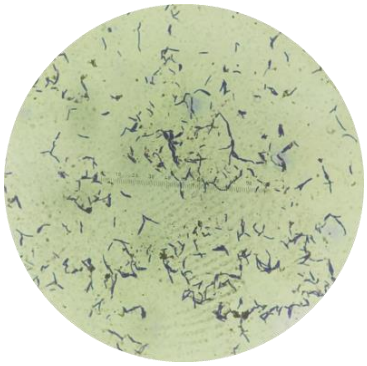


แบคทีเรียไอโซเลทที่ 2

ภาพที่ 3.4 แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X ติดสีแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างกลม อยู่รวมกันคล้ายพวงองุ่น



แบคทีเรียไอโซเลทที่ 3



แบคทีเรียไอโซเลทที่ 4

ภาพที่ 3.5 แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 3 และ 4 ตามลำดับ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X พบว่าติดสีแกรมบวก รูปร่างลักษณะเป็นท่อนยาว

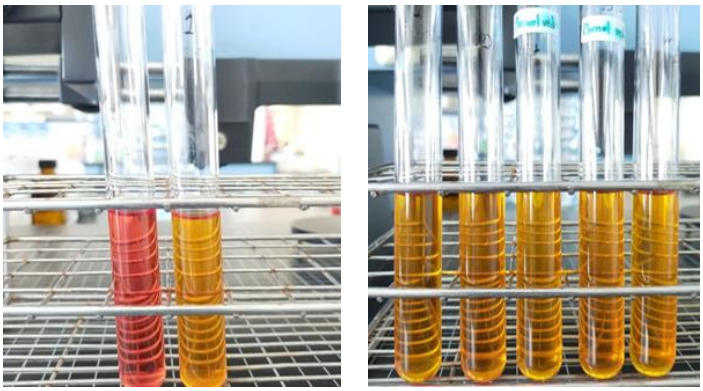
3.9.2 การตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Bacillus cereus* ด้วยชีวเคมี

การตรวจสอบเชื้อที่มีลักษณะรูปร่างท่อน จากไอโซเลทที่ 3 และ 4 พบว่าเมื่อนำมาตรวจสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannital Egg Yolk agar พบว่าไอโซเลทที่ 3 เจริญบนผิวหน้าอาหาร มีลักษณะโคโลนีสีชมพู มี Zone ขุ่น ส่วนไอโซเลทที่ 4 ไม่พบเชื้อ (ภาพที่ 3.6)

ภาพที่ 3.6 ลักษณะการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหาร Mannitol Egg Yolk agar มีลักษณะโคโลนีสีชมพู มี Zone ขุ่น

(1) ผลการตรวจสอบด้วย Phenol red glucose broth

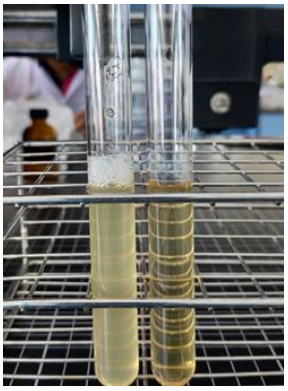
พบว่าให้ผลเป็นบวก โดยอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง เนื่องจากสามารถเจริญได้ในภาวะไร้ออกซิเจนและสร้างกรดจากน้ำตาล glucose (ภาพที่ 3.7)



ภาพที่ 3.7 การเปลี่ยนสีของเชื้อที่เจริญในอาหาร Phenol red glucose broth ในสภาวะไร้ออกซิเจน

(2) ผลการตรวจสอบด้วย Nitrate broth

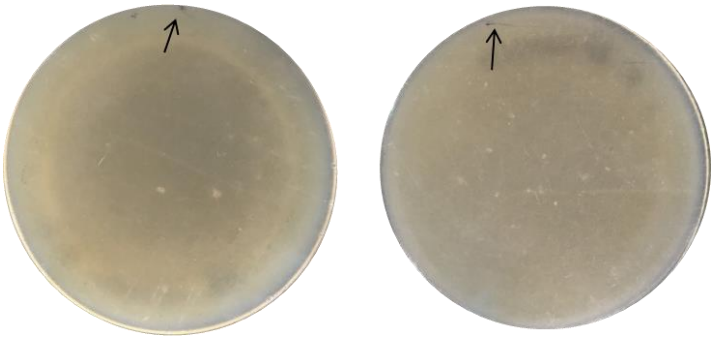
พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 3.8) จึงทดสอบต่อโดยการเติม Zinc dust ให้ผลเป็นบวกเนื่องจาก Nitrate ถูกรีดิวซ์เป็นแก๊สจึงทำให้อาหารไม่เปลี่ยนสี เนื่องจาก *B. cereus* รีดิวซ์ Nitrate เป็น Nitrite หรือแก๊สไนโตรเจน



ภาพที่ 3.8 สีของอาหารเลี้ยงเชื้อ Nitrate broth หลังการทดสอบต่อโดยการเติม Zinc dust

3.9.3 การตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Staphylococcus aureus* ด้วยชีวเคมี

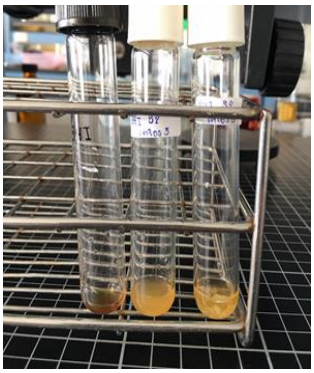
การตรวจสอบเชื้อที่มีลักษณะรูปร่างกลม จากไอโซเลทที่ 1 และ 2 พบว่าเมื่อนำมาตรวจสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Barid Parker agar พบว่าไอโซเลทที่ 2 เจริญบนผิวหน้าอาหาร โคโลนีมีลักษณะเป็นสีดำ มี Zone ขุ่น ส่วนไอโซเลทที่ 1 ไม่พบเชื้อ (ภาพที่3.9)



ภาพที่ 3.9 ลักษณะการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหาร Barid Parker agar

(1) ผลการตรวจสอบด้วย Coagulase test

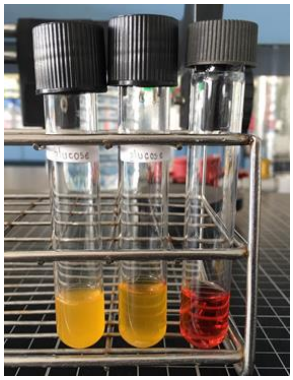
เมื่อแตะโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะลงใน BHI 0.3 มิลลิลิตรแล้วบ่มที่ 35°C 6 ชั่วโมง พบว่าเป็นลิ่มบางส่วนในระดับ 1+ เมื่อบ่มต่ออีกเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก็ยังพบว่าเป็นลิ่มบางส่วนในระดับ 1+ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง จึงได้ผลเป็นลบเนื่องจากไม่พบการจับตัวของไฟบริน (fibrin formation) (ภาพที่3.10)



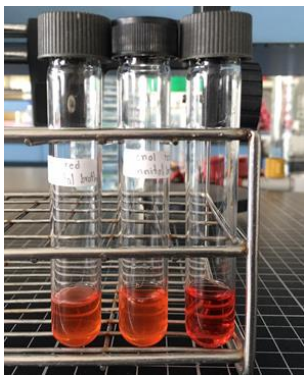
ภาพที่ 3.10 แสดงปฏิกิริยาการจับตัวกันเป็นลิ่มใน BHI 0.3 มิลลิลิตรหลังจากบ่ม 35°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

(2) ผลการตรวจสอบด้วย Carbohydrate utilization

พบว่ามี phenol red glucose broth มีการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 3.11) ให้ผลเป็นบวก ส่วน phenol red mannitol broth ไม่มีการเปลี่ยนสีให้ผลเป็นลบ (ภาพที่ 3.12)



ภาพที่ 3.11 การเปลี่ยนสีของ phenol red glucose broth จากสีแดงเป็นสีเหลือง



ภาพที่ 3.12 การเปลี่ยนสีของ phenol red mannitol broth ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนสี

3.10 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

3.10.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการตรวจเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ในนมพาสเจอไรส์ จากโรงงานแปรรูปนม สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด จำนวน 24 ตัวอย่าง จากการสุ่มเก็บตัวอย่าง 4 วัน โดยเก็บเครื่องละ 1 ถุง พบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* ในนมพาสเจอไรส์ แต่ไม่พบเชื้อ *S. aureus* ซึ่งข้อมูลที่ได้ในงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบว่าการปนเปื้อนเชื้อ *B. cereus* อาจมาจากในฝุ่น ควัน และธรรมชาติในดิน เพื่อเป็นการลดการปนเปื้อนของ *B. cereus* จึงควรทำการตรวจสอบสุขลักษณะของโรงงานแปรรูปนม ศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ และพนักงานในพื้นที่ดังกล่าว เพื่อให้มีการจัดการความสะอาด และสุขลักษณะที่ดี ซึ่งหากสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคได้ตั้งแต่ต้นทางจะทำให้ลดการกระจายเชื้อไปสู่โรงงานแปรรูปน้ำนมและหลังจากเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว

3.10.2 อภิปรายผลการทดลอง

จากการตรวจสอบคุณภาพของนมพาสเจอไรส์ทางกายภาพ และทางเคมี พบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ สีของน้ำนมเป็นสีขาวนวลปกติไม่จับตัวกันเป็นก้อนมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.6-6.8 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระดับนี้น้ำนมจะมีลักษณะสะอาดปกติและมีความสด

จากการตรวจหาเชื้อ *B. cereus* ซึ่งพบว่ามีการปนเปื้อนในนมพาสเจอไรส์ จาก 24 ตัวอย่าง โดยเชื้อ *B. cereus* มีการปนเปื้อนเนื่องจากพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควัน และธรรมชาติในดิน ซึ่งไม่พบมากในน้ำนม เพื่อลดความเสี่ยงและอันตรายจากเชื้อแบคทีเรียควรทำความสะอาดรอบบริเวณโรงงานหรือบริเวณที่ทำการผลิตนมพาสเจอไรส์

สำหรับการตรวจสอบหาเชื้อ *S. aureus* จากนมพาสเจอไรส์ในโรงงานแปรรูปนม สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ไม่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* จาก 24 ตัวอย่าง จะเห็นได้ว่าเมื่อไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากกระบวนการพาสเจอไรส์ที่มีความเหมาะสมระหว่างการผลิต อย่างไรก็ตามเพื่อลดความเสี่ยง และอันตรายจากเชื้อแบคทีเรียที่อาจจะมีการปนเปื้อนมากับนมพาสเจอไรส์ ควรทำความสะอาดเครื่องมือและรักษาสุขอนามัยให้ดีอยู่เสมอ

เมื่อพิจารณาผลตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมพาสเจอไรส์พบเพียงเชื้อ *B. cereus* แสดงให้เห็นว่านมพาสเจอไรส์ที่นำมาทดสอบนั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคนมจึงต้องตรวจสอบอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอไรส์ให้เหมาะสม ทำความสะอาดเครื่องมือ และรักษาสุขอนามัยให้ดีอยู่เสมอ

บทที่ 4

ปัญหาและข้อเสนอแนะ

จากการที่ได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ สหกรณ์การเกษตรสีคิ้ว จำกัด ตั้งแต่วันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2563 ถึงวันที่ 19 มีนาคม พ.ศ. 2564 ผู้ปฏิบัติงานได้รับความรู้และทักษะการทำงานเพิ่มมากขึ้นดังนี้

1. ได้รับความรู้ด้านการรับน้ำนมดิบจากสมาชิก การตรวจสอบน้ำนมดิบเบื้องต้นโดยการใช้น้ำยา CMT ในการตรวจสอบ การตรวจสอบยาปฏิชีวนะ และตรวจสอบด้วยเมทีลีนบูล และได้รับความรู้จากการออกนอกสถานที่ การเยี่ยมฟาร์มของสมาชิก

2. ได้รับความรู้ด้านกระบวนการผลิตนมพาสเจอร์ไรส์ นมยูเอชที อีกทั้งยังได้รับความรู้ด้านกระบวนการฆ่าเชื้อก่อนและหลังผลิต

3. ได้รับความรู้ด้านการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของนมพาสเจอร์ไรส์ นมยูเอชที และนมดิบ เช่น การตรวจวิเคราะห์ %โปรตีน, %ไขมัน, %ความเป็นกรด และความถ่วงจำเพาะ เป็นต้น

4. ได้รับความรู้ด้านการตรวจความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้างเครื่อง UHT, A-Tank, Filler, การตรวจความกระด้างของน้ำ และการตรวจคลอรีน

5. ได้เรียนรู้การทำงานร่วมกับผู้อื่น และมีมนุษย์สัมพันธ์ที่ดีต่อผู้ร่วมงาน จากการปฏิบัติงานมาสามารถนำความรู้ที่ได้มาต่อยอดในการใช้ชีวิตในการทำงานในอนาคต ซึ่งสามารถนำความรู้ข้อมูลที่ได้จากการปฏิบัติงานมาเป็นทักษะในการทำงานและพัฒนาตนเองในการทำงานในชีวิตจริงให้ดียิ่งขึ้น

4.1 ข้อเสนอแนะ

1. หากนักศึกษามีความสับสน ไม่เข้าใจในงานที่ได้รับมอบหมายควรสอบถามผู้ความคุมที่มีความชำนาญ

2. ควรเคารพกฎของสถานที่ทำงานอย่างเคร่งครัด

3. หากเกิดข้อผิดพลาดในการทำงานควรแจ้งผู้ควบคุมทันที

4. ในขณะปฏิบัติงานควรระมัดระวังในด้านของความปลอดภัย

5. ในขณะปฏิบัติติงานผู้ปฏิบัติงานไม่ได้มีความชำนาญในการปฏิบัติงาน และขาดความระมัดระวัง จึงทำให้อุปกรณ์บางอย่างแตกเสียหาย ผู้ปฏิบัติงานควรระมัดระวังในการใช้เครื่องมือ

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ วงศ์อนุ ณัฐวุฒิ นามสีฐาน และวิสุทธิ์ ท้าเจริญตระกูล. (2558). การตรวจเชื้อ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ในน้ำนมดิบจากศูนย์รับน้ำนมในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน)

ภาคย์ มาลัยกฤษณะชลี. (2013). ผลของสภาวะกระบวนการพาสเจอไรซ์ต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์นม (Doctoral dissertation, มหาวิทยาลัย ศิลปากร)

ลัดดาวัลย์ โรจนพรรณทิพย กนกพร อธิสุข ทิพวรรณ นิ่งน้อย นิภาภรณ์ ลักษณ์สมยา สุวรรณี ธีรภาพธรรมกุล จิตผกา สันทัดรบ และมยุรี อุรารุ่งโรจน์. (ม.ป.ป.). วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่1 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

สุทธิทัศน์ ทองคาใส กนกวรรณ สิงห์อาษา ธาริณี ทับทิม กุลชัย นาคบุปผา เตือนตา ชาญศิล และสิริกัญญ์ กาหยี. (2556). เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 13 (1), 43-49.

Ibarrola, J.J., Sandoval, J.M., Garcla-Sanz, M. and Pinzolas, M. 2002. Predictive control of a high temperature-short time pasteurisation process. Control Engineering Practice. 10(7): 713-725

Jamali, H., Paydar, M., Radmehr, B., Ismail, S., and Dadrasnia, A. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus isolated from raw milk and dairy products. Food Control. 54, 383-388.

Saravacos, G.D. and Kostaropoulos,A.E. 2002. Handbook of food processing equipment. Kluwer Academic/Plenum Publ. New York, USA.

Salustiano, V.C., Andrade, N. J., Soares, N. F. F., Lima, J. C., P. C., Luiz, L. M. P., and

Fernandes, P. E. (2009). Contamination of milk with Bacillus cereus by post-pasteurization surface exposure as evaluated by automated ribotyping. Food Control. 20, 439-442

Teknotext, A.B. 1995. Dairy processing handbook. Tetra Park Processing Systems AB. Lund, Sweden

Walstra, P., Wounters, J.T.M. and Geurts, T.J. 2006. Dairy science and technology. 2nd ed. CRC Press.USA.