abst

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ
กช
อว 35

เอกสารผลงานที่เสนอประเมิน เพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7ว

เรื่องที่ 1

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของขนมจีนและการทำลายจุลินทรีย์ในขนมจีน

นางรวิวรรณ วงษ์สมุทร์

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ 6ว

กลุ่มงานจุลชีววิทยา
กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ข้อมูลข่าวสารของทางราชการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของทางราชการ พ.ศ. 2540

วด
เลขหมู่ ก๗
ส๓ 35
เลขทะเบียน 10509
วันที่ 5 ก.พ. 45

บทคัดย่อ

ขนมจีนเป็นอาหารที่นิยมบริโภคของชาวไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ กรรมวิธีในการทำขนมจีนมีหลายขั้นตอน การปนเปื้อนของจุลินทรีย์สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอน การบริโภคขนมจีนที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาจทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ กลุ่มงานจุลชีววิทยาจึงได้ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาในขนมจีน โดยได้ซื้อตัวอย่างขนมจีนจากตลาดมา 10 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี plate count อยู่ระหว่าง 2.5×10^4 ถึง 4.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณยีสต์อยู่ระหว่าง 2.0×10^3 ถึง 4.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม พบโคลิฟอร์ม (Coliform) และเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) 3 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยพบโคลิฟอร์มอยู่ระหว่าง 19 ถึง > 1 100 เอ็มพีเอ็นต่อกรัมและอี.โคไล 20 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม แต่ไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) และซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการทำลายจุลินทรีย์ในขนมจีน 100 กรัม โดยวิธีอบด้วยตู้อบไมโครเวฟและการนึ่งด้วยลังถึงใน 5 ตัวอย่าง พบว่าวิธีทั้ง 2 มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ในขนมจีนได้อย่างดี จุลินทรีย์ถูกทำลายมากขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้ในการอบหรือนึ่งเพิ่มขึ้น โดยที่การอบด้วยตู้อบไมโครเวฟระยะเวลาที่ใช้ทดลองทั้งหมดพบว่าเวลา 2 นาที สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในขนมจีนส่วนใหญ่ได้ ส่วนการนึ่งด้วยลังถึงต้องใช้เวลาหลังจากน้ำเดือด ระยะเวลาทั้งหมดที่ทำการทดลองพบว่าต้องใช้เวลา 5 นาทีในการทำลายจุลินทรีย์ วิธีทั้ง 2 ยังสามารถทำลายเชื้อโคลิฟอร์ม และ อี.โคไล ได้อีกด้วย ผู้บริโภคสามารถเลือกใช้วิธีทั้ง 2 นี้ในการฆ่าจุลินทรีย์ที่อยู่ในขนมจีนก่อนการบริโภค ตามความสะดวกของตนเอง เพื่อลดการเสี่ยงต่อการบริโภคขนมจีนที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ อย่างไรก็ดีกรณีที่มีการปนเปื้อนจากสแตไฟโลคอกคัส ออเรียส ซึ่งสร้างสารพิษในอาหาร วิธีการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนจะไม่ทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	i
สารบาญตาราง	ii
สารบาญรูปภาพ	iii
สารบาญภาคผนวก	iv
บทที่ 1 - บทนำ	1
บทที่ 2 - วัตถุประสงค์	10
บทที่ 3 - วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	11
บทที่ 4 - ผลการทดลอง	19
บทที่ 5 - วิจารณ์ผลการทดลอง	28
บทที่ 6 - สรุปผลการทดลอง	30
คำขอบคุณ	31
เอกสารอ้างอิง	32

สารบาญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1.1	ปริมาณจุลินทรีย์ในซุปมะเขือเทศหลังจากการให้ความร้อนโดยตู้อบไมโครเวฟ นาน 2 นาที	7
ตารางที่ 4.1	ปริมาณจุลินทรีย์และยีสต์ในขนมจีน 10 ตัวอย่าง	19
ตารางที่ 4.2	ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล ในขนมจีน 10 ตัวอย่าง	20
ตารางที่ 4.3	โคลิฟอร์มและอี.โคไล ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างที่ 3 หลังการทำลายจุลินทรีย์ด้วยไมโครเวฟ	26
ตารางที่ 4.4	โคลิฟอร์มและอี.โคไล ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างที่ 8 หลังการทำลายจุลินทรีย์ด้วยไมโครเวฟและนึ่งด้วยลังถึง	27

สารบาญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 5 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	21
รูปที่ 4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 7 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	22
รูปที่ 4.3	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 8 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	22
รูปที่ 4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 4 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	23
รูปที่ 4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 9 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	23
รูปที่ 4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 8 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนยีสต์	24
รูปที่ 4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 4 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนยีสต์	25
รูปที่ 4.8	ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 9 โดยตู้อบไมโครเวฟและลังถึงต่อจำนวนยีสต์	25

สารบาญภาคผนวก

	หน้า
ภาคผนวก 1	
1. อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม	34
2. สารเคมี	45
ภาคผนวก 2	
ตารางเอ็มพีเอ็น	47
ภาคผนวก 3	
เวลาในการต้มน้ำในลังถึงจนน้ำเดือด	48
ภาคผนวก 4	
ปริมาณจุลินทรีย์และยีสต์หลังจากการทำลายจุลินทรีย์โดยใช้ตู้อบไมโครเวฟและลังถึง	49

บทที่ 1 - บทนำ

ปัญหาและที่มาของการวิเคราะห์

การทำขนมจีนประกอบไปด้วยกระบวนการหลายขั้นตอน ซึ่งแต่ละขั้นตอนก็เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ได้เป็นส่วนใหญ่ และเนื่องจากการบริโภคขนมจีนของคนไทยส่วนใหญ่นิยมบริโภคโดยตรงไม่ผ่านความร้อน เคยมีข่าวปรากฏอยู่บ่อย ๆ ตามหน้าหนังสือพิมพ์ว่ามีผู้บริโภคขนมจีนแล้วเกิดอาการอาหารเป็นพิษ ท้องเสีย อาเจียน กลุ่มงานจุลชีววิทยาได้เล็งเห็นความสำคัญในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงได้การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของขนมจีนและศึกษาวิธีทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในขนมจีน

คำนำ

ขนมจีนเป็นอาหารพื้นบ้านที่สำคัญชนิดหนึ่งของชาวไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณมาจนถึงปัจจุบันนี้ นิยมรับประทานกันทั่วทุกภาคของประเทศไทย นับตั้งแต่หาบเร่แผงลอยจนถึงร้านอาหาร โรงแรม และมักนิยมกันมากในงานเทศกาลต่าง ๆ เช่น งานแต่งงาน งานทำบุญขึ้นบ้านใหม่ งานปีใหม่ เป็นต้น การที่ขนมจีนสามารถบริโภคได้หลายรูปแบบ เช่น ขนมจีนแกงเขียวหวาน ขนมจีนน้ำพริก ขนมจีนน้ำยา ขนมจีนซาวน้ำ ขนมจีนแกงน้ำยาปักษ์ใต้ ทำให้ไม่เบื่อที่จะรับประทาน

1.1 ประเภทของขนมจีน

ขนมจีนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าว ขนมจีนมี 2 ชนิด คือ ขนมจีนแป้งหมักและขนมจีนแป้งสด

1.1.1 ขนมจีนแป้งหมัก เป็นขนมจีนที่มีผู้นิยมบริโภคกันมาก ผลิตจากข้าวเจ้าที่หมักไว้ 2-3 วัน เส้นจะเหนียวนุ่ม มีสีคล้ำเล็กน้อย

1.1.2 ขนมจีนแป้งสด ผลิตจากแป้งสดไม่มีกลิ่นหมัก มีเนื้อค่อนข้างกระด้างสีขาว

ในปัจจุบันนี้ขนมจีนที่ทำจากเครื่องจักรเป็นขนมจีนที่ทำจากแป้งสดมากกว่าขนมจีนที่ทำจากแป้งหมักไม่เหมาะกับคนที่ไม่สบายและคนที่ปกติรับประทานแล้วอาจทำให้ท้องเสียได้ แต่ข้อดีของขนมจีนแป้งหมักจะอยู่ที่เส้นเหนียวนุ่ม ทำให้อร่อยกว่าแป้งสด

1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตขนมจีน

1.2.1 ข้าว ใช้ข้าวเจ้า หรือโดยปกติแล้วโรงงานมักใช้ข้าวหักหรือปลายข้าวมากกว่า เพราะเป็นข้าวที่มีราคาถูก การทำขนมจีนนั้นไม่ต้องการความเหนียวมากนัก แต่ต้องการความนุ่มมากกว่า ดังนั้นข้าวที่ใช้จึงไม่ต้องพิถีพิถันมากนัก ที่นิยมใช้

กันมากคือข้าวเหลืองอ่อน ข้าวนางพระยา ข้าวปิ่นแก้ว และข้าวตะเพราแก้ว แต่อย่างไรก็ดีข้าวเหล่านี้ควรเป็นข้าวเก่า เก็บมาแล้วไม่ต่ำกว่า 3-4 เดือน[1] ในระยะหลังนี้ข้าวเจ้าและปลายข้าวได้มีราคาสูงขึ้น เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตจึงมีการนำเอาข้าวฟ่างมาศึกษาใช้แทนข้าวเจ้าในการผลิตขนมจีน[2] ขนมจีนข้าวฟ่างที่ได้มีคุณสมบัติใกล้เคียงขนมจีนธรรมดา มีราคาถูกกว่า และมีคุณค่าทางอาหารดีกว่า

1.2.2 น้ำ น้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำที่สะอาดปราศจากสิ่งแขวนลอย มีความกระด้างต่ำ ถ้าเป็นน้ำบาดาลควรสูบขึ้นมาพักไว้แล้วนำไปกรองผ่านทรายและผ่านเครื่องกำจัดความกระด้าง ถ้าเป็นน้ำประปาไม่ควรมีคลอรีนมากเกินไป จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นผิดปกติ ถ้าใช้น้ำขุ่นจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีดำคล้ำ[1]

1.3 วิธีการผลิตขนมจีน[1,3]

การทำขนมจีนแป้งหมักมีวิธีการดังนี้

1.3.1 การหมักข้าว ข้าวที่ใช้ผลิตต้องนำมาล้างให้สะอาด ใส่ลงในภาชนะที่น้ำไหลได้สะดวก เช่น เข่ง กระบุง ตะกร้า หรือถังไม้ ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ผลิต รดน้ำทุกวัน วันละ 2 ครั้ง คือเช้าและเย็น พร้อมทั้งกลับข้าวจากข้างล่างขึ้นมาอยู่ข้างบนหมุนเวียนกันไป หมักไว้ 2-3 วัน หรือบางพื้นที่อาจใช้วิธีแช่ข้าวทิ้งไว้ 2-3 คืน เหมือนกันแต่ต้องล้างข้าวให้สะอาดทุกวัน เช้า-เย็น หลังจากแช่ข้าวแล้วข้าวจะเปื่อย ข้าวที่หมักมาแล้วจะมีกลิ่นแรงและมีสีคล้ำเล็กน้อยเนื่องจากมีเชื้อแล็กโตแบซิลลัส *(Lactobacillus)* และสเตรปโตคอกคัส *(Streptococcus)* ขึ้นมา เชื่อกันว่าการหมักทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำและแตกตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสความร้อน ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนที่หุ้มอยู่รอบ ๆ เม็ดแป้งได้สลายตัวไปร้อยละ 2-3 การที่มีโปรตีนในแป้งต่ำลงจะมีผลให้เจลหรือเส้นขนมจีนที่ได้มีลักษณะนุ่ม

1.3.2 การบดข้าว การนำข้าวที่หมักแล้วมาบี้ให้ละเอียด วิธีนี้เป็นการปฏิบัติแบบพื้นบ้าน และอุตสาหกรรมในครัวเรือน การบี้มักทำบนผ้ากรองที่ขึงไว้บนปากตุ่ม ข้าวที่ป่นแล้วจะผ่านผ้ากรองลงไปในตุ่ม ควรเติมน้ำลงไปเล็กน้อยในขณะที่บี้จะช่วยให้สะดวกขึ้นและทำให้การกรองเป็นไปอย่างรวดเร็ว การใช้ผ้ากรองจะช่วยป้องกันไม่ให้ข้าวที่ยังบดไม่ละเอียดลงไปปะปนกับแป้งที่ละเอียดแล้ว สำหรับในโรงงานขนาดใหญ่ที่มีข้าวปริมาณมาก การบดข้าวจะต้องใช้โม่ โดยการนำข้าวที่หมักไว้มาล้างให้สะอาด โม่ให้ละเอียด นำแป้งที่ได้ไปกรองให้สะอาดผ่านผ้ากรอง ในขณะ

ที่โม่แป้งจะต้องใส่เกลือลงไปด้วยในประมาณร้อยละ 7 ของน้ำหนักข้าว เพื่อป้องกันไม่ให้แป้งเกิดการหมักเมื่อตในขั้นตอนการนอนน้ำแป้ง

1.3.3 การนอนน้ำแป้ง ขั้นตอนนี้สำคัญมากสำหรับอุตสาหกรรมในครัวเรือนและอุตสาหกรรมพื้นบ้าน โดยปกติแล้วแป้งที่โม่แล้วจะมีสีคล้ำมาก และเมื่อตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจะมีสีเหลืองและมีตะกอนดำลอยอยู่เหนือน้ำ จึงจำเป็นต้องล้างแป้งหลาย ๆ ครั้งให้ตะกอนนี้หมดไป นอกจากนี้ยังช่วยให้กลิ่นหมักน้อยลงด้วย น้ำที่ใช้ล้างควรมีเกลืออยู่ด้วยและควรทำซ้ำ 5-6 ครั้ง หรือจนกว่าแป้งจะขาวและมีกลิ่นหมักน้อยลง สำหรับแป้งที่โม่แบบอุตสาหกรรมนั้นจะปล่อยให้แป้งตกตะกอนไว้ 1 คืน แล้วนำไปผลิตโดยตรง

1.3.4 การทับน้ำ เป็นการกำจัดน้ำส่วนที่เกินออกไป วิธีการปฏิบัติไม่แตกต่างกันมาก ทั้งการผลิตแบบพื้นบ้าน อุตสาหกรรมในครัวเรือน และอุตสาหกรรมใหญ่ โดยการนำแป้งใส่ถุง ผูกปากถุงให้แน่น ทับด้วยของหนัก 1 คืน น้ำที่เหลืออยู่ในแป้งจะมีประมาณร้อยละ 42-44 ขึ้นอยู่กับน้ำหนักและเวลาที่ใช้ทับ

1.3.5 การต้มหรือนึ่งแป้ง เป็นการทำให้แป้งสุกบางส่วน และทำให้แป้งเหนียว ไม่ขาดง่ายเมื่อนำไปบีบผ่านแว่น การต้มแป้งเริ่มด้วยการนำแป้งที่ทับแห้งไว้มาปั้นเป็นก้อน มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-25 เซนติเมตร ทั้งนี้ต้องแล้วแต่ขนาดของหม้อ กะทะที่จะใช้ต้ม โดยตั้งน้ำให้เดือดจัดแล้วใช้สาแหรกเล็กใส่ก้อนแป้งหย่อนลงไปในน้ำที่กำลังเดือดจัด ต้มให้แป้งสุกเข้าไปประมาณ 1-2 เซนติเมตร หรือประมาณร้อยละ 27-34 ของแป้งทั้งหมด ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ไม่ควรให้สุกมากเกินไปเพราะแป้งจะเหนียวมากเกินไปทำให้โรยเส้นได้ยาก ถ้าเป็นโรงงานขนาดใหญ่ไม่นิยมต้มแป้งเนื่องจากไม่สะดวก แต่จะใช้วิธีนึ่งแป้งแทน

1.3.6 การนวดแป้ง เป็นการผสมแป้งดิบและแป้งสุกเข้าด้วยกัน นอกจากนี้ยังช่วยให้เม็ดแป้งแตกมากขึ้น การนวดแป้งอาจทำด้วยมือหรือเครื่องจักร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณการผลิต การนวดแบบชาวบ้านมักใช้ครกไม้ ตำด้วยสากมือจนแป้งเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ขั้นตอนนี้เรียกว่า "การโน้มแป้ง" แป้งที่ได้จะมีความหนืดพอดี

1.3.7 การโรยเส้น เมื่อตำแป้งจนทำให้แป้งที่สุกรอบ ๆ ก้อนแป้งผสมผสานกับแป้งข้างในจนเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว นำแป้งไปนวดต่ออีกครั้ง ถ้าหากแป้งแห้งเกิน

ไปขณะนวดให้ใช้น้ำอุ่นค่อย ๆ เติมลงไปทีละน้อย กะให้แป้งเหลวพอสมควร เพื่อที่จะนำไปใช้โรยเส้นต่อ การโรยเส้นนั้นจะมีแว่นสำหรับใช้โรย โดยอาจจะเป็นแผ่นทองเหลือง หรือฝากระป๋องนมที่เจาะรูรอบ ๆ แล้วมีผ้าดิบหุ้มรอบ ๆ พอที่จะห่อหุ้มแป้งที่จะโรยลงไปได้ กะทะที่ใช้ต้มขนมจีนต้องมีขนาดใหญ่มากพอ มิฉะนั้นน้ำร้อนที่ใช้ลวกจะลดอุณหภูมิเร็วเกินไป ทำให้เส้นไม่สุกและไม่เหนียว การโรยเส้นในโรงงานขนาดใหญ่ใช้เครื่องมือที่มีลักษณะเหมือนแว่น แต่ทำด้วยแผ่นโลหะ ต่อตรงกับท่อ เครื่องปั๊ม และถังเก็บแป้งที่นวดแล้ว เมื่อเดินเครื่องปั๊มน้ำแป้งจะถูกอัดผ่านแว่นลงในน้ำร้อนเช่นเดียวกับการใช้แว่นในการผลิตแบบพื้นบ้านหรืออุตสาหกรรมในครัวเรือน

ในขณะทำการโรยเส้นควรรักษาอุณหภูมิของน้ำไว้ที่ 90-95 องศาเซลเซียส และรอจนกระทั่งเส้นขนมจีนลอยจึงตักออก ถ้าปล่อยทิ้งไว้นานเส้นจะสุกมากเกินไป

1.3.8 การทำให้เย็นและจับเส้น เมื่อเส้นสุกให้ตักขึ้นแล้วใส่ลงในน้ำเย็นเพื่อหยุดการดูดน้ำของเส้นขนมจีน มิฉะนั้นเส้นจะเปื่อย การจับเส้นต้องใช้ความชำนาญ เพราะจะต้องทำอย่างรวดเร็วและให้สวยโดยไม่ให้หนามากเกินไป เมื่อจับเส้นเสร็จแล้วต้องใส่เข่ง กระจาด เพื่อให้น้ำผ่านออกได้สะดวก เสร็จแล้วหาผ้ากรองชุบน้ำมาปิดไว้กันลมที่จะทำให้ขนมจีนแห้งแล้วจะทำให้ขนมจีนไม่อร่อย

ส่วนการทำขนมจีนแป้งสดมีวิธีการทำเช่นเดียวกับการทำขนมจีนแป้งหมักแต่ไม่ต้องหมักข้าวตามข้อ 1.3.1

1.4 คุณภาพทางโภชนาการของขนมจีน[1,2]

ขนมจีนประกอบด้วย

ความชื้น ร้อยละ	70-77
คาร์โบไฮเดรท ร้อยละ	21-29
โปรตีน ร้อยละ	1.5-1.6

ขนมจีนจะเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรทอย่างดี นอกจากนี้เครื่องปรุง เช่น น้ำยา น้ำพริก แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน ยังเป็นแหล่งของไขมันและโปรตีน ส่วนเครื่องเคียงได้แก่ ผักต่าง ๆ เช่น ถั่วงอก มะระ ใบโหระพา ใบแมงลัก ถั่วฝักยาว ก็เป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ที่ดีอีกด้วย ดังนั้นการบริโภคขนมจีนนับได้ว่าเป็นอาหารที่มีสารอาหารครบ

ดังได้กล่าวมาแล้วเบื้องต้นเกี่ยวกับการนิยมบริโภคขนมจีนของคนไทย และกรรมวิธีผลิตขนมจีนรวมทั้งส่วนประกอบของขนมจีน จะเห็นได้ว่าแต่ละขั้นตอนใน

การทำขนมจีนจะมีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ และเนื่องจากการบริโภคขนมจีนของคนไทยส่วนมากนิยมบริโภคโดยตรงไม่ผ่านความร้อน เคยมีรายงานอยู่บ่อย ๆ ว่ามีผู้บริโภคขนมจีนแล้วเกิดอาการอาหารเป็นพิษ มีอาการท้องเสีย อาเจียน จะพบบ่อย ๆ ในฤดูร้อนเนื่องจากมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขนมจีน กลุ่มงานจุลชีววิทยาได้เล็งเห็นความสำคัญในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงได้ทำการศึกษาวิธีการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขนมจีน โดยใช้วิธีที่สะดวก ง่าย โดยใช้ตู้อบไมโครเวฟ และลังถึง เพื่อผู้บริโภคจะได้ข้อมูลไปพิจารณาใช้ให้เหมาะสมกับสภาวะและความสะดวกของตนเอง

1.5 การใช้ตู้อบไมโครเวฟ

ในปัจจุบันนี้การใช้ตู้อบไมโครเวฟในการปรุงอาหารนับว่ามีบทบาทมาก คนส่วนใหญ่ที่ทำงานนอกบ้านมักไม่ค่อยมีเวลามากในการประกอบอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากการจราจรที่ติดขัดอย่างมาก ชีวิตส่วนใหญ่ของผู้คนจะอยู่แต่นอกบ้าน เนื่องจากเวลาในการพักผ่อนมีน้อย รวมทั้งเวลาในการประกอบอาหารก็ต้องน้อยลงไปเป็นเงาตามตัว แม่บ้านส่วนใหญ่จึงหันมาใช้ตู้อบไมโครเวฟในการประกอบอาหาร และอุ่นอาหาร วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่าการหุงต้มแบบอื่น รวมทั้งประหยัดพลังงานเชื้อเพลิง ประกอบกับในปัจจุบันนี้ราคาของตู้อบไมโครเวฟไม่แพงจนเกินไป ครอบครัวชั้นกลางส่วนใหญ่จะซื้อหาและมีไว้ตามบ้าน

1.5.1 หลักการของตู้อบไมโครเวฟ [4,5]

ตู้อบไมโครเวฟเป็นตู้โลหะสี่เหลี่ยม ภายในตู้ทำด้วยเหล็กไร้สนิม อะลูมิเนียม หรือโลหะเคลือบด้วยอะคริลิก มีหลอดแมกนีตรอน (magnetron) ซึ่งเป็นหลอดสุญญากาศ ทำหน้าที่ผลิตไมโครเวฟ แผ่พลังงานในรูปของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ไมโครเวฟจะสะท้อนจากผิวโลหะ เนื่องจากช่องว่างในตู้อบไมโครเวฟทำจากโลหะ คลื่นไมโครเวฟจะสะท้อนอยู่ข้างใน ไมโครเวฟจะสามารถทะลุผ่านแก้ว ภาชนะที่ทำด้วยเครื่องปั้นดินเผา พลาสติก กระดาษ เมื่อไมโครเวฟถูกดูดด้วยวัสดุชนิดใดก็ตาม พลังงานจะถูกเปลี่ยนเป็นความร้อน เมื่ออาหารดูดซับไมโครเวฟเข้าไป จะทำให้อนุภาคบวกและลบของน้ำในอาหารสั่นสะเทือนเป็นผลให้พันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย โมเลกุลเกิดการเคลื่อนที่เสียดสีกัน ทำให้เกิดความร้อนขึ้น อาหารจะสุกอย่างรวดเร็ว อาหารที่สุกโดยวิธีนี้จะใช้เวลารวดเร็วกว่าการใช้ความร้อนธรรมดา 10-20 เท่า

1.5.2 กลไกในการทำลายจุลินทรีย์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ

กลไกที่คลื่นไมโครเวฟทำลายจุลินทรีย์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด[6] นักวิจัยส่วนใหญ่ให้ความเห็นว่าความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟเป็นตัวทำลายจุลินทรีย์ในอาหาร บางท่านให้ความเห็นว่าความร้อนอย่างเดียวเป็นตัวการในการทำลายจุลินทรีย์ ในขณะที่บางท่านคิดว่าน่าจะมีปัจจัยอื่น ๆ ด้วย แต่นักวิจัยกลุ่มนี้ก็ไม่ได้ให้ความเห็นว่าจะมีปัจจัยใด ความยุ่งยากต่าง ๆ ในการเปรียบเทียบผลการวิจัยนี้ ส่วนใหญ่มาจากชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ โดยนักวิจัยหลาย ๆ ท่านมักจะใช้จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน นอกจากนี้โครงสร้างที่แตกต่างกันของตู้อบไมโครเวฟที่ผลิตออกมา ซึ่งเป็นตัวแปรที่ก่อให้เกิดปัญหาในการเปรียบเทียบการทดลอง ความสนใจในการที่จะนำไมโครเวฟมาใช้ในการฆ่าเชื้อในอาหารมาจากการที่ไมโครเวฟใช้เวลาน้อยกว่าและอุณหภูมิต่ำกว่าวิธีให้ความร้อนแบบปกติ

อย่างไรก็ตามได้มีนักวิจัยบางท่านให้ความเห็นในเรื่องของผลของไมโครเวฟต่อเซลล์จุลินทรีย์ เช่น การทดลองของ Webb และ Dodds[7] โดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ 136 GHz (gigahertz) ใช้เวลา 4 ชั่วโมง และรักษาระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในการให้ความร้อน อี. โคไล ซึ่งอยู่ในระยะ แลกเฟส (lag phase) และล็อกเฟส (log phase) พบว่า เซลล์ในระยะแลกเฟสไม่มีการแบ่งตัว และไม่ได้ทำให้เซลล์ในทั้ง 2 ระยะตาย สำหรับเซลล์ในระยะล็อกเฟสก็ไม่ได้มีผลในการแบ่งตัวของเซลล์ต่อมา เนื่องจากเซลล์ในระยะนี้ต่อมาสามารถแบ่งตัวได้ นักวิจัยทั้ง 2 ท่านนี้ได้สรุปว่าคลื่นไมโครเวฟทำให้เซลล์ในระยะแรกของวงจรชีวิตเสียหายโดยมีผลต่อปฏิกิริยาเมแทบอลิซึมภายในเซลล์

1.5.3 ไมโครเวฟมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ในอาหารอย่างไร

ผลของไมโครเวฟต่อจุลินทรีย์ในอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง[6] เช่น ลักษณะสำคัญของอาหาร ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ระดับความชื้น ปริมาณสารอาหาร (nutrient content) โครงสร้างทางชีววิทยา (biological structure) ส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร รูปร่างและขนาดของอาหาร ปัจจัย อื่น ๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้นของสภาพแวดล้อม ระยะเวลาในการใช้ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับ สมบัติทางฟิสิกส์ เคมี ของจุลินทรีย์ที่จะถูกคลื่นไมโครเวฟ และขึ้นอยู่กับ สภาวะของเชื้อ ว่าเป็นเซลล์ (vegetative cell) หรือ สปอร์ ปริมาณของเชื้อ

1.5.4 การทำลายจุลินทรีย์ในอาหารโดยการใช้ตู้อบไมโครเวฟ

การใช้ตู้อบไมโครเวฟในการทำลายจุลินทรีย์ในอาหารสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหารชนิดต่าง ๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเวลาที่ใช้ อุณหภูมิที่ใช้ น้ำหนักของอาหาร การปิดหรือไม่ปิดอาหารด้วยพลาสติก[5] มีนักวิจัยหลายท่านได้รายงานว่าการใช้ตู้อบไมโครเวฟสามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาอาหารหลายชนิด เช่น แฮม พายไก่[8,9] โดยไม่คำนึงถึงว่ากลไลในการทำลายจุลินทรีย์จะเป็นอย่างไร

Crespo และคณะ[10] ได้รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีความไวต่อการให้ความร้อนด้วยตู้อบไมโครเวฟและวิธีให้ความร้อนด้วยตู้อบแบบธรรมดาต่าง ๆ กัน เชื้อซูโดโมแนส พูทรีแฟซีน (*Pseudomonas putrefacien*) เป็นเชื้อที่ถูกทำลายง่ายที่สุดด้วยทั้ง 2 วิธี คือ ตู้อบไมโครเวฟและการอบด้วยเตาอบแบบธรรมดาที่อุณหภูมิ 176 องศาเซลเซียส เชื้อสเตรปโตคอกคัส ฟีคาลิส (*Streptococcus faecalis*) เป็นเชื้อที่ถูกทำลายยากที่สุดต่อการใช้ความร้อนด้วยเตาอบแบบธรรมดา และเชื้อแล็กโตแบซิลลัส แพลนทารัม (*Lactobacillus plantarum*) เป็นเชื้อที่ทนทานต่อการใช้ความร้อนด้วยตู้อบไมโครเวฟ

Fung และ Cunningham[6] ก็ได้ศึกษาผลของไมโครเวฟที่มีต่อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ผลการทดลองดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ปริมาณจุลินทรีย์ในซุปมะเขือเทศหลังจากการให้ความร้อนโดยตู้อบไมโครเวฟ นาน 2 นาที

ชนิดของจุลินทรีย์	ร้อยละของเซลล์ที่ไม่ตาย
สเตรปโตคอกคัส ฟีคาลีส (*Streptococcus faecalis*)	7.9
เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*)	0.93
ซาลโมเนลลา ไทฟิมูเรียม (*Salmonella thyhimurium*)	0.87
สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*)	0.46
ซูโดโมแนส ฟลูออเรสซีนส์ (*Pseudononas fluorescenes*)	0.41
แอลคาลิจีนส์ วิสคอแลกทิส (*Alcaligenes viscolactis*)	0.07
โปรเทียส วุลการิส (*Proteus vulgaris*)	0.018

จากการทดลองของ Fung และ Cunningham สรุปได้ว่าจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มีความไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนจากตู้อบไมโครเวฟต่างกัน และสเตรปโตคอกคัส ฟีคาลิสเป็นเชื้อที่ทนทานต่อการอบด้วยไมโครเวฟมากที่สุด

Cunningham[11] ศึกษาผลของตู้อบไมโครเวฟต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเนื้อสด พบว่าเมื่อใช้เวลาในระยะสั้น ๆ ตั้งแต่ 5 ถึง 20 วินาที ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำลดจำนวนลงอย่างมาก จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มแรก 10^7-10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรในนิวเทรียนท์บรอท จะลดลงจนถูกทำลายหมดหลังจากใช้ไมโครเวฟนาน 15 วินาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เชื้อเซอราเทียมาร์เซสเซนส์ (*Serratia marcescens*) ซูโดโมแนส ซินแทกซา (*Pseudomonas synthaxa*) และแอลคาลิจีนส์ วิสโคแลกทิส (*Alcaligenes viscolactis*) จะถูกทำลายอย่างง่ายหลังจากใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อน และเมื่อใช้เนื้อสัตว์ปีกสดซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดตอนเริ่มแรก 10^4 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตรของผิวหน้าของเนื้อสด หลังจากใช้ไมโครเวฟนาน 20 วินาที และ 40 วินาที จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงไป 1 และ 2 log cycle ตามลำดับ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของหนังไก่หลังจากให้ความร้อนด้วยตู้อบไมโครเวฟจะลดลงจาก 10^5 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ถึง 10^3 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ในเวลา 30 วินาที

Olsen[12] ได้ศึกษาการฆ่าเชื้อราโดยคลื่นไมโครเวฟ ท่านผู้นี้ได้ใช้ตู้อบไมโครเวฟที่มีความแรง 2450 MHz พบว่าปริมาณเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ (*Aspergillus niger*) ไรโซพัส นิกริแคนส์ (*Rhizopus nigricans*) และ เพนนิซิลเลียม (*Penicillium sp.*) ที่อยู่บนขนมปังมีจำนวนลดลงอย่างมาก เมื่อใช้ไมโครเวฟ นาน 2 นาที อุณหภูมิสูงสุดไม่เกิน 65 องศาเซลเซียส แต่ถ้าใช้วิธีให้ความร้อนด้วยเตาอบแบบธรรมดา อุณหภูมิที่ใช้ในการทำลายเชื้อราเหล่านี้คือ 68-71 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

Page และ Martin[13] พบว่าเมื่อใช้ตู้อบไมโครเวฟความแรง 2450 MHz เวลา 10 นาที ในการทำลายฟิลม์ที่ทำให้แห้งโดยอากาศ ของเชื้อ อี. โคไล สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส และบาซิลลัส สับทีลิส (*Bacillus subtilis*) จะทำให้จำนวนจุลินทรีย์ดังกล่าวลดลงไป 5, 2 และ 0 log cycle ตามลำดับ แต่เมื่อเชื้อนั้นถูกทำให้ชื้นขึ้นจะพบว่าการลดจำนวนลงของเชื้อจะมากขึ้น คือ สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส จะลดลง 8 log cycle ในเวลา 30 วินาที อี. โคไล ในเวลา 45 วินาที และสปอร์ของบาซิลลัส สับทีลิส ในเวลา 10 นาที Roberts[14] พบว่าเซลล์ของยีสต์ถูกทำลายได้ง่ายในสภาพที่เป็นของเหลวเมื่อเทียบกับในสภาพที่เป็นฟิล์มแห้ง

บทที่ 2 - วัตถุประสงค์

2.1 การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์ดังต่อไปนี้

2.1.1 วิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของขนมจีนที่จำหน่ายในตลาด ว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคหรือไม่

2.1.2 ศึกษาวิธีทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขนมจีนโดยใช้วิธีที่สะดวกรวดเร็ว โดยใช้การอบด้วยตู้อบไมโครเวฟและการนึ่งด้วยลังถึง

2.1.3 เพื่อทดลองหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายจุลินทรีย์โดยการอบด้วยตู้อบไมโครเวฟและการนึ่งด้วยลังถึง

2.2 ระยะเวลาในการทำวิจัยครั้งนี้รวม 7 เดือน ตั้งแต่กรกฎาคม 2539 - กุมภาพันธ์ 2540

2.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาวิจัยเรื่องนี้มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคโดยตรงเพราะสามารถเลือกใช้วิธีทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในขนมจีนก่อนการบริโภคได้ตามความเหมาะสมของตนเอง เพื่อป้องกันตนเองและครอบครัวในการบริโภคอาหารที่สะอาด ไม่เกิดการเจ็บป่วยหลังจากการบริโภค

บทที่ 3 - วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

ตู้เย็น ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิ - 20 ± 0.2 องศาเซลเซียส

เครื่องตีป่น

ตู้อบเพาะเชื้อ ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส

ตู้อบเพาะเชื้อ ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส

เครื่องฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแห้ง (hot air sterilizer) ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 170 – 175 องศาเซลเซียส

หม้อนึ่งอัด (autoclave) ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 121 ± 1 องศาเซลเซียส

เครื่องอังน้ำ ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 45 ± 0.05 องศาเซลเซียส

เครื่องอังน้ำ ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิที่ 80 ± 1 องศาเซลเซียส

ตู้อบเพาะเชื้อปราศจากออกซิเจน (anaerobic incubator)

เครื่องนับโคโลนี

ไมโครเวฟ

ลังถึง

อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาของกองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อมีทั้งอาหารสำเร็จรูปของบริษัท Difco[16], Merck[17], Eiken[18] และที่เตรียมขึ้นเอง ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดและวิธีเตรียมอยู่ในภาคผนวก 1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีดังต่อไปนี้

คุกมีทมีเดียม (cooked meat medium) ของ Oxoid

ซิมมอนส์ ซิเตรท อะการ์ (Simmons citrate agar) ของ Difco

เซเลไนต์ซีสทีนบรอท (selenite cystine broth) ของ Merck

ทริปโทน บรอท (tryptone broth)

ทริปเพิลชูการ์ไอร์ออนอะการ์ (triple sugar iron agar) ของ Difco

นิวเทรียนท์อะการ์ (nutrient agar) ของ Difco

บริลเลียนท์กรีนไบล์ ร้อยละ 2 (brilliant green bile 2%) ของ Difco

บริลเลียนท์กรีนอะการ์ (brilliant green agar) ของ Difco

บิสมัทซัลไฟท์อะการ์ (bismuth sulfite agar) ของ Difco
เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท (brain heart infusion broth) ของ Difco
แบร์คปาร์กเกอร์อะการ์เบส (Baird-Parker agar base) ของ Difco
โปเทโทเดกซโทรสอะการ์ (potato dextrose agar) ของ Difco
เพลตเคานต์อะการ์ (plate count agar) ของ Difco
โมไทลิติไนเตรทมีเดียม (motility nitrate medium)
ยูเรียบรอท (urea broth) ของ Difco
ลอริลซัลเฟตบรอท (lauryl sulfate broth) ของ Merck
ลีวายน์ อี เอ็ม บี อะการ์ (Levine EMB agar) ของ Difco
แล็กโทสบรอท (lactose broth) ของ Difco
แล็กโทสเจลาทินมีเดียม (lactose gelatin medium)
ไลซีนไอร์ออนอะการ์ (lysine iron agar) ของ Difco
อีซีมีเดียม (EC medium) ของ Difco
เอฟเอ็มซีดับบลิวอะการ์ (FM-CW agar) ของ Eiken Chemical Co., Ltd.
เอส-เอสอะการ์ (SS agar) ของ Difco
เอ็มอาร์-วีพี มีเดียม (MR-VP medium) ของ Difco

3.3 สารเคมี

สารเคมีชนิดต่าง ๆ มีทั้งสำเร็จรูปและที่เตรียมขึ้นเอง ส่วนประกอบแต่ละชนิดและวิธีเตรียมอยู่ในภาคผนวก 1

3.4 วิธีการทดลอง

3.5 การเตรียมตัวอย่างขนมจีนสำหรับวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ได้ซื้อตัวอย่างขนมจีนที่จำหน่ายในท้องตลาดในกรุงเทพ ฯ 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 000 กรัม วิเคราะห์จุลินทรีย์ ยีสต์ โคลิฟอร์ม อี.โคไล และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทั้ง 10 ตัวอย่าง และนำตัวอย่างขนมจีน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่ 4, 5, 7, 8 และ 9 ไปศึกษาทดลองทำลายจุลินทรีย์โดย แบ่งตัวอย่างไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) และขนมจีนที่เหลือจะนำไปผ่านกรรมวิธีทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ตู้อบไมโครเวฟ และการนึ่งด้วยลังถึง โดยมีวิธีการดังนี้

3.5.1 ตู้อบไมโครเวฟ ใช้ตัวอย่างขนมจีนประมาณ 100 กรัม ใส่ในจานแก้วแล้วใช้ความร้อนสูงสุดสำหรับไมโครเวฟขนาด 750 วัตต์ ใช้เวลา 0.5 นาที แล้วใช้ตัวอย่างเดียวกันที่ยังไม่ได้ผ่านความร้อนโดยแบ่งมาอีกในปริมาณเท่าเดิมคือ 100 กรัม ใช้ความร้อนในการไมโครเวฟ 1 นาที และ 2 นาที ตามลำดับ

3.5.2 การนึ่งด้วยลังถึง ต้มน้ำในหม้อนึ่งให้เดือดโดยปิดฝา เมื่อน้ำเดือดเปิดฝาใส่จานที่บรรจุขนมจีนปริมาณเท่ากับข้อ 3.5.1 ปิดฝาใหม่ แล้วเริ่มจับเวลาตั้งแต่ตอนนี้ ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงเวลาในการให้ความร้อนที่ต่างกันเมื่อใช่ภาชนะและขนาดต่างกัน ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้เวลาที่ใช้ในการทำความร้อนโดยการนึ่งจะหมายความถึงเวลาตั้งแต่น้ำเริ่มเดือด ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อโดยการนึ่ง 1 นาที 2 นาที 3 นาที และ 5 นาทีตามลำดับ

3.5.2.1 เวลาที่ใช้ในการทำให้น้ำเดือด

จากการทดลองต้มน้ำในหม้อนึ่งให้เดือดโดยปิดฝา ทำการทดลองทั้งหมด 5 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ยของเวลาที่ใช้จนน้ำเดือดคือ 3 นาที 44 วินาที (ข้อมูลดิบในภาคผนวก 3)

3.5.3 นำตัวอย่างที่เป็นตัวเปรียบเทียบ ตัวอย่างที่ให้ความร้อนโดยไมโครเวฟที่เวลาต่าง ๆ กัน และตัวอย่างที่ให้ความร้อนโดยการนึ่งมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาพร้อมกัน

3.6 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์ดัดแปลงจาก AOAC[19] และ Ohashi[20]

3.6.1 การเตรียมตัวอย่าง

ใช้ช้อนซึ่งอบฆ่าเชื้อแล้วตักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มมา 25 กรัม ใส่ลงในเครื่องตีปั่น เติมสารละลายเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยความเร็วสูง 1 ถึง 2 นาที จะได้สารละลายความเข้มข้น 1 ต่อ 10 ทำให้เจือจางต่อไปเรื่อย ๆ โดยใช้ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในสารละลายเจือจาง 9 มิลลิลิตร

3.6.2 วิธีวิเคราะห์

3.6.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)

-ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง (จากข้อ 3.6.1) ซึ่งมีความเข้มข้นต่าง ๆ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ความเข้มข้นละ 2 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อเพลตเคานต์อะการ์ที่หลอมเหลวแล้ว มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 10-15 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเชื้อเบา ๆ เพื่อผสมตัวอย่างให้เข้ากับอาหาร รอจนอาหารเป็นวุ้นแข็งตัวจึงคว่ำจาน นำไปอบเพาะเชื้อในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

-นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อโดยใช้เครื่องนับโคโลนีที่มีแว่นขยายและแสงสว่างช่วย นับในจานเพาะเชื้อที่มี 30-300 โคโลนี นับทั้ง 2 จาน แล้วหาค่าเฉลี่ย คำนวณและรายงานเป็น จำนวนโคโลนีต่อกรัม

3.6.2.2 ยีสต์

วิธีเตรียมตัวอย่างทำเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 และวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.6.2.1 แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อโปเทโทเดกซโทรสอะการ์ และอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 2-5 วัน

3.6.2.3 โคลิฟอร์มและอี.โคไล

ใช้ปิเปตดูดสารละลายที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 10, 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 1 000 ใส่ลงในหลอดทดลองซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อลอริลซัลเฟตบรอทอยู่หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด นำหลอดทั้งหมดไปอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ถึง 48 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สเกิดขึ้น นำไปทดสอบต่อโดยนำหลอดที่มีแก๊สมาเขย่าเบา ๆ ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนท์กรีนไบล์ร้อยละ 2 อบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ตรวจดูถ้ามีแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่าเป็นโคลิฟอร์ม คำนวณหาค่าเอ็มพีเอ็นจากจำนวนหลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้น โดยใช้ตารางเอ็มพีเอ็น (ภาคผนวก 2)

สำหรับการตรวจสอบ อี.โคไล ดูจากอาหารเลี้ยงเชื้อลอรีลซัลเฟตบรอทที่มีแก๊สเกิดขึ้นหลังการอบเพาะเชื้อ 24 และ 48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออีซีมีเดียม อบเพาะเชื้อในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ถ้ามีแก๊สเกิดขึ้นนำไปขีดเป็นเส้น ๆ (streak) บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อลีวายน์อีเอ็มบีอะการ์ ในลักษณะที่จะให้โคโลนีแยกจากกันหลังการอบเพาะเชื้อ อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีซึ่งมีสีเข้มมีเหลือบโลหะ เลือกมาอย่างน้อย 2 โคโลนี นำไปถ่ายลงอาหารเลี้ยงเชื้อ นิวเทรียนท์อะการ์

อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง นำไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ดังนี้

-เพาะเชื้อลงในทริปโทนบรอท อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ทดสอบการเกิดอินโดลโดยเติมโคแวกสรีเอเจนท์ 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้ามีสีแดงเกิดขึ้นที่ส่วนบนซึ่งเป็นชั้นของแอลกอฮอล์ แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นบวก

-เพาะเชื้อในเอ็มอาร์-วีพีมีเดียม อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ใช้ปิเปตดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเพื่อทดสอบอะเซทิลเมทิลคาร์มินอล โดยเติมสารละลายแอลฟาเนฟทอลร้อยละ 5 จำนวน 0.6 มิลลิลิตร สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร) 0.2 มิลลิลิตร และครีเอทีน 2-3 เกล็ด เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นแสดงว่าปฏิกิริยาวีพีเป็นบวก ถ้าไม่มีการเปลี่ยนสี แสดงว่าปฏิกิริยาวีพีเป็นลบ

นำอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพีที่เหลือไปอบเพาะเชื้อต่ออีก 48 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยาเมทิลเรด โดยเติมสารละลายเมทิลเรดลงไป 5 หยด ถ้าเปลี่ยนเป็นสีแดง แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นบวก

-เพาะเชื้อในซิมมอนส์ซิเตรทอะการ์ อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 96 ชั่วโมง บันทึกผลของการเจริญเติบโตเป็นบวกหรือลบ (การทดสอบซิเตรท)

อี. โคไล จะให้ปฏิกิริยา อินโดลเป็นบวกหรือลบ เมทิลเรดเป็นบวก วีพีเป็นลบ ซิเตรทเป็นลบ คำนวณหาค่าเอ็มพีเอ็นจากจำนวนหลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นโดยใช้ตารางเอ็มพีเอ็น (ภาคผนวก 2)

3.6.2.4 ซาลโมเนลลา

-ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสบรอท 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

-ปิเปตดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในเซเลไนต์ซีสทีนบรอท อบ เพาะเชื้อที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อจุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อจากเซเลไนต์ซีสทีนบรอท แล้วขีดเป็นเส้น ๆ บนผิวหน้าที่แห้งแล้วของอาหารเลี้ยงเชื้อบิสมัทซัลไฟท์อะการ์ อาหารเลี้ยงเชื้อเอส-เอสอะการ์ และอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนท์กรีนอะการ์ ในลักษณะที่จะให้โคโลนีแยกจากกันหลังการอบเพาะเชื้อ นำไปอบเพาะเชื้อที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีที่

ศิรินธรวิทยาศาสตร์บริการ

ไม่มีสีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอส-เอสอะการ์ หรือโคโลนีที่มีสีดำหรือสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อบิสมัทซัลไฟท์อะการ์ และโคโลนีสีแดงหรือสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนท์กรีนอะการ์ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของซาลโมเนลลา

-นำเชื้อที่มีลักษณะของซาลโมเนลลาที่บริสุทธิ์แล้วมาตรวจสอบเพื่อยืนยัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิดดังนี้

3.6.2.4.1 เพาะเชื้อลงในทริปเพิลชูการ์ไอร์ออนอะการ์ โดยขีดเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อและแทงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ถ้ามีซาลโมเนลลาจะทำให้ส่วนบนของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีแดง ส่วนภายในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเหลือง อาจมีสีดำอยู่ในวุ้นถ้าเป็นชนิดที่สร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ และมักจะมีแก๊สซึ่งสังเกตุได้จากรอยแยกของวุ้น

3.6.2.4.2 เพาะเชื้อลงในไลซีนไอร์ออนอะการ์ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3.6.2.4.1 ถ้ามีซาลโมเนลลาอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นสีม่วงอย่างเดิมหลังจาก 24 ชั่วโมงแล้ว อาจมีสีดำบ้างถ้าสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ และอาจมีแก๊สด้วย ดูได้จากรอยแยกของวุ้น

3.6.2.4.3 เพาะเชื้อลงในยูเรียบรอท อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ถ้าเป็นซาลโมเนลลาจะไม่เปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อ (คอยสังเกตุดูสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้ามีการเปลี่ยนสีระหว่างการอบแสดงว่าไม่ใช่ซาลโมเนลลา)

3.6.2.4.4 เพาะเชื้อลงในทริปโทนบรอท อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง แล้วเติมโคแวกสรีเอเจนท์ลงไป ถ้าเป็นซาลโมเนลลาจะเกิดปฏิกิริยาอินโดล ลบ จะไม่เปลี่ยนสีของโคแวกสรีเอเจนท์

นำเชื้อที่ผ่านการตรวจสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิดดังกล่าวมาแล้ว ไปทดสอบการจับตัวเป็นก้อน (agglutination) กับโพลีวาเลนท์โอ (polyvalent O) และโพลีวาเลนท์เอชแอนติซีรา (polyvalent H antisera) ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าเป็นซาลโมเนลลา

3.6.2.5 สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส

ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 3.6.1 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หยดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตรลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแบร์คปาร์กเกอร์อะการ์เบส ที่เติม อี วาย เทลลูไรท์ลงไปแล้ว อย่างละ 3 จาน ใช้แท่งแก้วโค้งงอซึ่งอบฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ กลับจานเพาะเชื้อ

อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง ตรวจดูถ้ามีโคโลนีซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือมีสีดำ เป็นมันนูน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร อาหารเลี้ยงเชื้อรอบ ๆ โคโลนีมีลักษณะทึบ มักจะมีบริเวณใสรอบนอก และดูโคโลนีซึ่งไม่มีลักษณะเฉพาะคือมีลักษณะและขนาดเหมือนโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ แต่อาหารเลี้ยงเชื้อรอบ ๆ โคโลนีไม่มีลักษณะทึบและใส นับจำนวนโคโลนีแต่ละชนิดแยกจากกัน เลือกโคโลนีแต่ละชนิดมา 2-3 โคโลนี นำไปดูลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยย้อมสีแบบกรัม (gram stain) ถ้าพบว่าเป็นเซลล์แบบกลม (cocci) เกาะกันเหมือนพวงองุ่นและติดสีน้ำเงินคือเป็นกรัมบวกจึงนำไปทดสอบโคอะกูเลสต่อ โดยถ่ายเชื้อลงในหลอดซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท 5 มิลลิลิตร อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

การทดสอบโคอะกูเลส

ละลายโคอะกูเลสพลาสมา อีดีทีเอ (coagulase plasma EDTA) 100 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดพลาสมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วเล็ก ๆ เติมเชื้อที่เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท ลงไป 2 หยด อบที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจดูการแข็งตัวของพลาสมาทุก ๆ ชั่วโมง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ถ้ามีการแข็งตัวของพลาสมาเกิดขึ้นแสดงว่ามีแบคทีเรียชนิดสแตไฟโลคอกคัส ออเรียส

3.6.2.6 คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์

เติมตัวอย่างขนมจีน 1 กรัม ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อคุกมีทมีเดียม 2 หลอด นำไปแช่ในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 20 นาที แล้วเททับหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย พาราฟินที่ฆ่าเชื้อแล้ว อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 3 วัน ถ้ามีแก๊สเกิดขึ้นให้ใช้ที่เขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อลงในจานเพาะเชื้อเอฟเอ็มซีดับบลิวอะการ์ที่มีเอกโยล์กผสมอยู่ อบเพาะเชื้อในตู้อบเพาะเชื้อปราศจากออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีสีเหลืองหรือเหลืองอมขาว มีรัศมีขุ่นรอบ ๆ นำเชื้อที่มีลักษณะดังกล่าวไปตรวจสอบดังนี้

3.6.2.6.1 เพาะเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโมไทลิติไนเตรทมีเดียม โดยแทงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ถ้าเป็นคลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์จะมีการเจริญเติบโตเฉพาะแนวที่เพาะเชื้อลงไป (non-motile) แล้วนำไปทดสอบการ

เกิดไนไตรท์โดยใช้ไนไตรท์เทสท์รีเอเจนท์ โดยการเติมสารละลายเอ 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายบี 0.2 มิลลิลิตร ถ้ามีสีส้มเกิดขึ้นภายใน 15 นาที แสดงว่ามีไนไตรท์ ถ้าไม่มีสีเกิดขึ้น เติมผงสังกะสีลงไปเล็กน้อย ทิ้งไว้ 10 นาที ถ้าไม่มีสีเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อได้รีดิวซ์ไนเตรทไปหมดแล้ว แต่ถ้ามีสีส้มเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรท

3.6.2.6.2 เพาะเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล็กโทสเจลาทินมีเดียม อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจดูถ้ามีแก๊สเกิดขึ้นและสีของอาการเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อมีการใช้น้ำตาลแล็กโทสทำให้เกิดกรด แล้วนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ตรวจดูว่าเจลาทินกลายเป็นของเหลวหรือไม่ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว นำไปอบเพาะเชื้ออีก 24 ชั่วโมง แล้วตรวจว่าเจลาทินกลายเป็นของเหลวหรือไม่อีกครั้งหนึ่ง

3.6.2.6.3 เพาะเชื้อลงในทริปโทนบรอท อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ทดสอบการเกิดอินโดลโดยเติมโคแวกสรีเอเจนท์ 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้ามีสีแดงเกิดขึ้นที่ส่วนบนซึ่งเป็นชั้นของแอลกอฮอล์ แสดงว่ามีการสร้างอินโดลขึ้น

คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์จะมีการเจริญเติบโตเฉพาะแนวที่เพาะเชื้อ รีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ ให้กรดและแก๊สจากแล็กโทส ทำให้เจลาทินละลายเป็นของเหลวใน 48 ชั่วโมง และไม่สร้างอินโดล

บทที่ 4 - ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างขนมจีนที่ซื้อมาจากตลาด

จากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์และยีสต์ในตัวอย่างขนมจีนที่ซื้อมาจากตลาดในกรุงเทพ ฯ จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 2.5×10^4 ถึง 4.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม และปริมาณยีสต์อยู่ในช่วง 2.0×10^3 ถึง 4.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์และยีสต์ในขนมจีน 10 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ประเภทของขนมจีน	จุลินทรีย์ (โคโลนี/กรัม)	ยีสต์ (โคโลนี/กรัม)
1	หมัก	8.5×10^4	5.4×10^4
2	หมัก	8.1×10^4	3.6×10^4
3	หมัก	4.8×10^8	4.0×10^7
4	หมัก	2.1×10^5	8.0×10^4
5	หมัก	2.5×10^4	*
6	หมัก	3.0×10^7	*
7	หมัก	2.4×10^5	*
8	หมัก	4.5×10^4	2.0×10^3
9	สด	2.9×10^6	4.6×10^5
10	สด	1.7×10^7	*

หมายเหตุ * หมายถึงไม่ได้วิเคราะห์รายการนี้

ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไลแสดงในตารางที่ 4.2 พบโคลิฟอร์มในขนมจีน 3 ตัวอย่าง คือตัวอย่างที่ 2, 3 และ 8 มีปริมาณโคลิฟอร์ม 24, 19 และ >1 100 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนอี.โคไล พบในตัวอย่างที่ 8

จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค คือ ซาลโมเนลลา คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ และสแตไฟโลคอกคัส ออเรียส ไม่พบในทุกตัวอย่าง

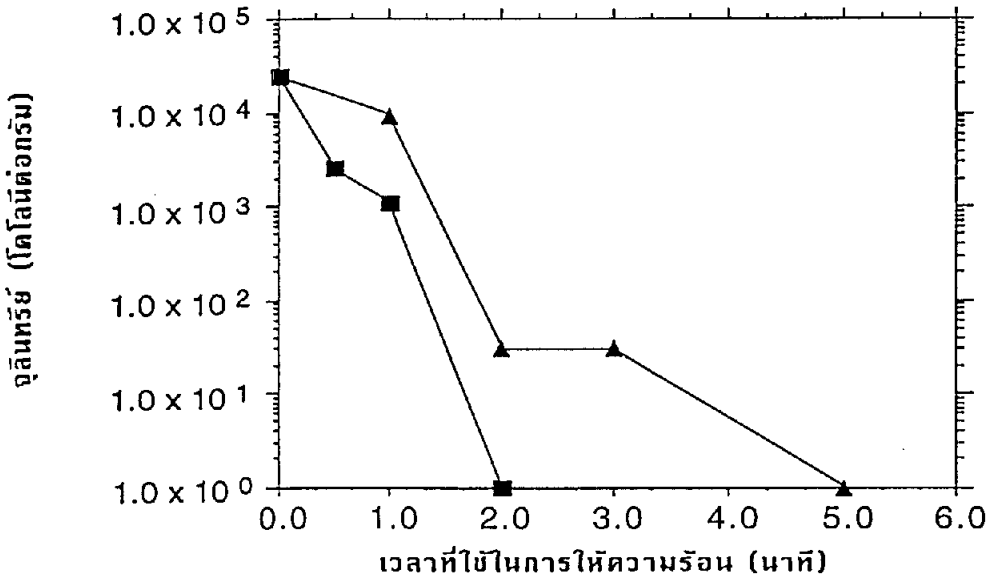
ตารางที่ 4.2 ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล ในขนมจีน 10 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	โคลิฟอร์ม (เอ็มพีเอ็น/กรัม)	อี.โคไล (เอ็มพีเอ็น/กรัม)
1	<3	<3
2	24	<3
3	19	<3
4	<3	<3
5	<3	<3
6	<3	<3
7	<3	<3
8	>1 100	20
9	<3	<3
10	<3	<3

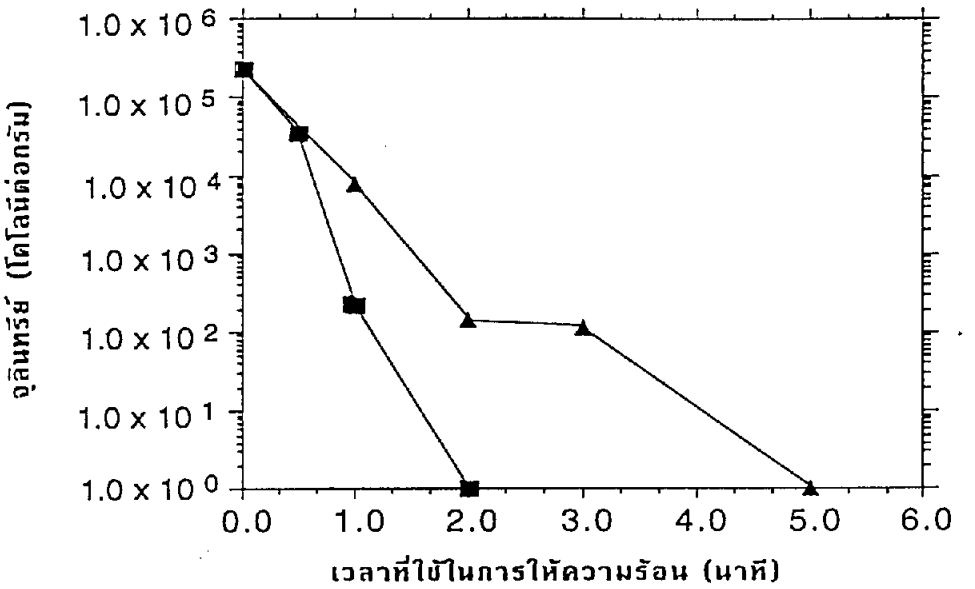
4.2 การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในขนมจีน

ขนมจีนที่ซื้อมาจากตลาดนอกจากจะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ ยีสต์ โคลิฟอร์ม อี.โคไล และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้ว ยังทำการศึกษาการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้คลื่นไมโครเวฟจากตู้อบไมโครเวฟ และการนึ่งโดยใช้ลังถึง ในตัวอย่างที่ 4, 5, 7, 8 และ 9

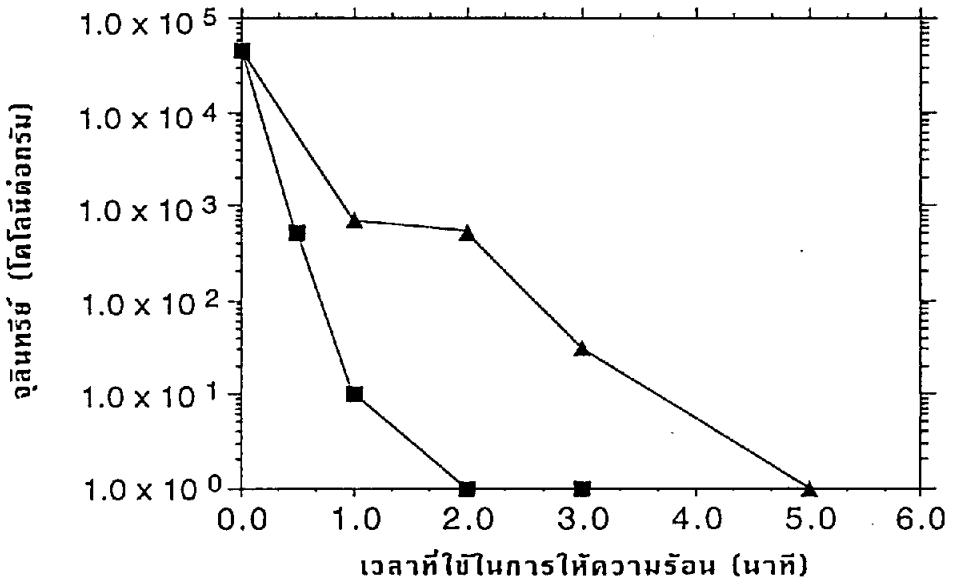
กราฟรูปที่ 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 และ 4.5 (และตารางในภาคผนวก 4) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในขนมจีน 5 ตัวอย่าง หลังจากผ่านการฆ่าเชื้อโดยใช้ตู้อบไมโครเวฟและลังถึง พบว่าจุลินทรีย์จะลดลง 4 ถึง 5 log cycle ในเวลา 2 นาทีและ 5 นาทีตามลำดับ และพบว่าหลังการใช้ตู้อบไมโครเวฟ 2 นาที จะทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในขนมจีนได้ดังแสดงในรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 ในขนมจีนตัวอย่างที่ 5, 7 และ 8 ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างที่ 4 และ 9 จะมีจุลินทรีย์เหลืออยู่เพียงเล็กน้อย คือ 10 และ 15 โคโลนีต่อกรัม หลังจากใช้ตู้อบไมโครเวฟ 2 นาทีดังแสดงในกราฟรูปที่ 4.4 และ 4.5 (และตารางในภาคผนวก 4) ในขนมจีนทั้ง 5 ตัวอย่าง กล่าวโดยทั่วไปจากกราฟทั้ง 5 รูป ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในตู้อบไมโครเวฟนานขึ้น หลังจาก 1 นาที ปริมาณจุลินทรีย์ในขนมจีนจะลดลงประมาณ 3 log cycle ยกเว้นในกราฟรูปที่ 4.1 ซึ่งจุลินทรีย์จะลดลงเพียง 1 log cycle เท่านั้น



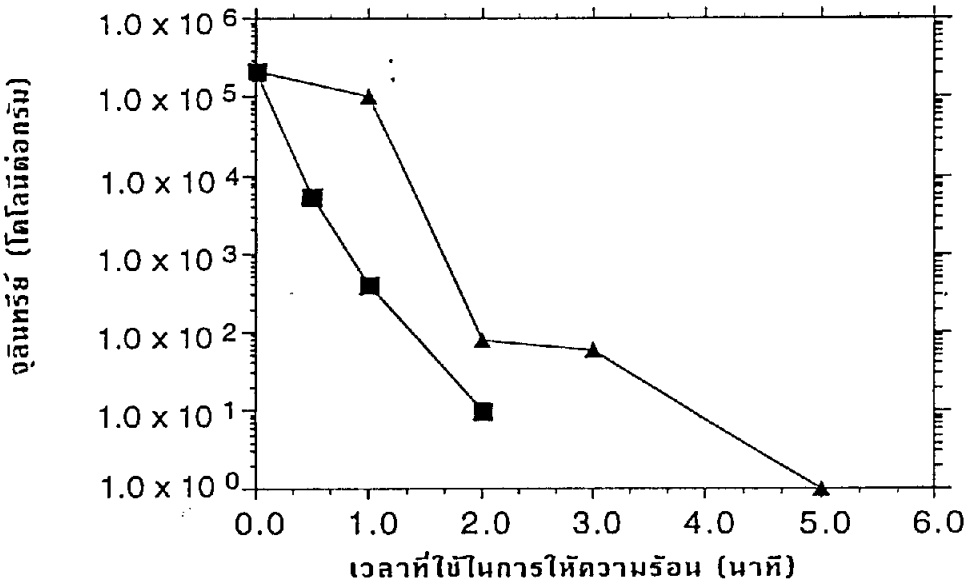
รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 5 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด



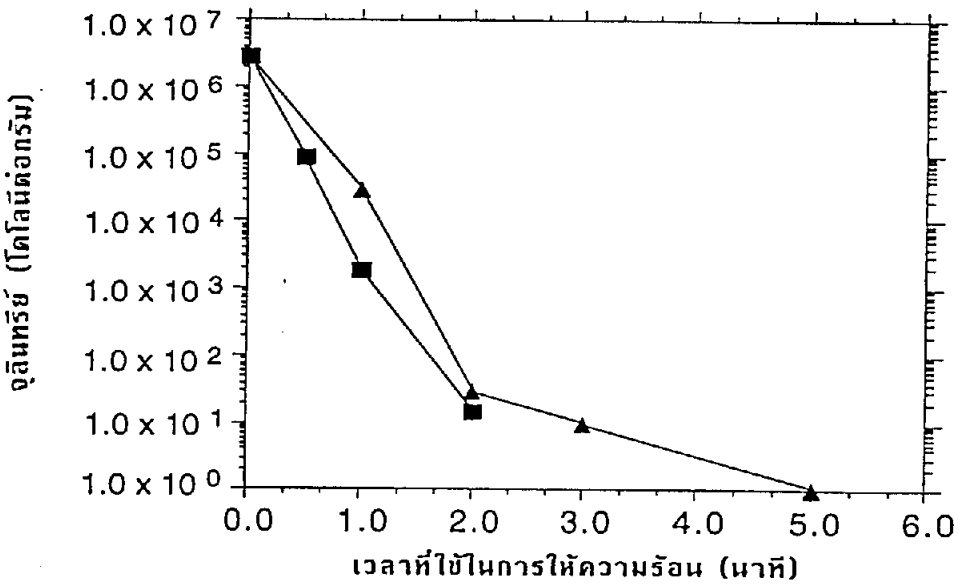
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 7 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 8 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด



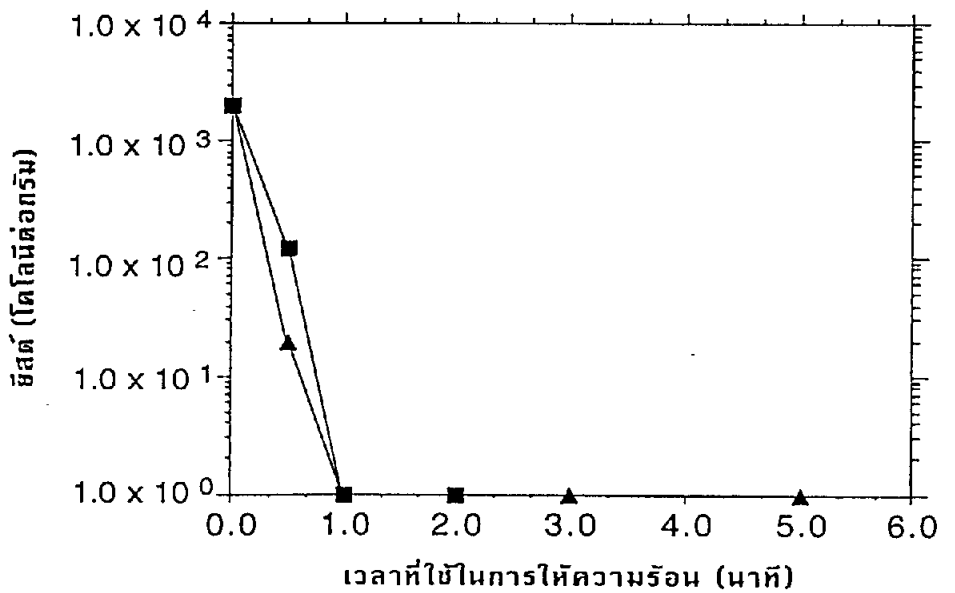
รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 4 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด



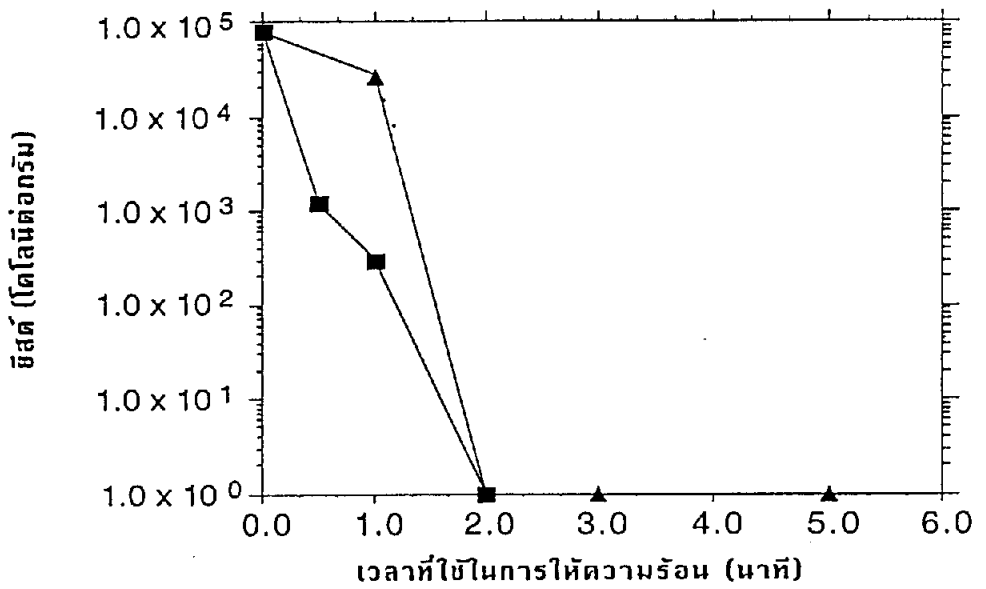
รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 9 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

ผลของการใช้ลังถึงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในขนมจีนแสดงในกราฟรูปที่ 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 และ 4.5 (และตารางในภาคผนวก 4) เช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่าเวลานาน 5 นาทีหลังจากน้ำเดือดสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่ในขนมจีนได้ทั้งหมด ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงเมื่อเวลาที่ใช้นึ่งนานขึ้น กราฟรูปที่ 4.1, 4.2 และ 4.4 จะให้รูปแบบ (pattern) ของกราฟที่ใกล้เคียงกันโดยเฉพาะในช่วงเวลา 2, 3 และ 5 นาทีของการให้ความร้อน ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากการนึ่ง 2 นาที โดยจะลดลงประมาณ 3 ถึง 5 log cycle หรือมีจุลินทรีย์เหลืออยู่ 30 ถึง 140 โคโลนีต่อกรัม (กราฟรูปที่ 4.1, 4.2, 4.4, 4.5 และภาคผนวก 4) ยกเว้นในตัวอย่างที่ 8 (กราฟรูปที่ 4.3 และภาคผนวก 4) จุลินทรีย์ที่เหลืออยู่มีปริมาณถึง 500 โคโลนีต่อกรัม และพบว่าหลังจากการนึ่ง 3 นาที จะมีจุลินทรีย์เหลืออยู่ 10 ถึง 120 โคโลนีต่อกรัม ตามกราฟทั้ง 5 รูปข้างต้นและภาคผนวก 4

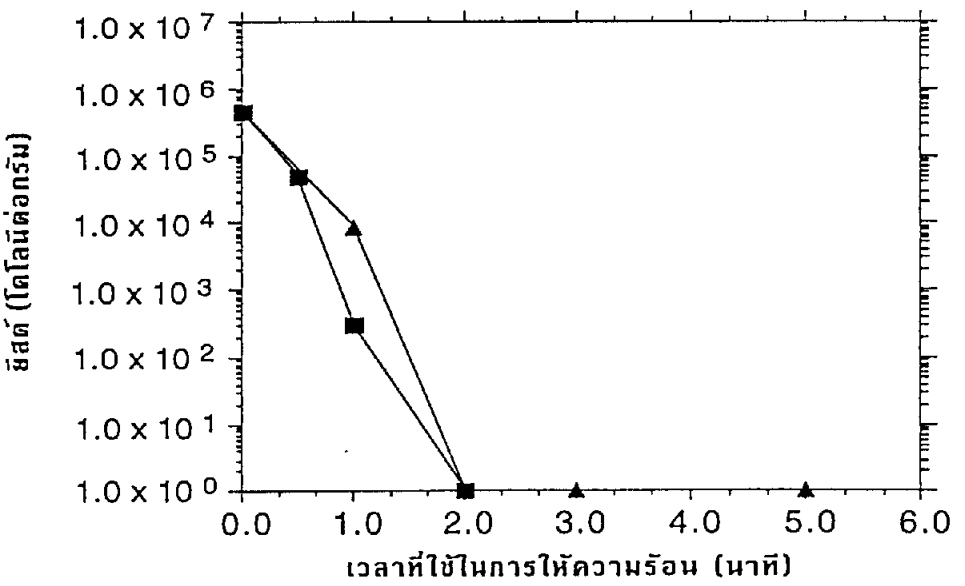
สำหรับปริมาณยีสต์ที่เหลืออยู่หลังจากการฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟและการนึ่งโดยลังถึง แสดงในกราฟรูปที่ 4.6, 4.7, 4.8 และภาคผนวก 4 ยีสต์สามารถถูกทำลายได้หมดหลังจากการใช้ไมโครเวฟหรือลังถึงนาน 2 นาที ในตัวอย่างที่ 4 และ 9 (กราฟรูปที่ 4.7 และ 4.8 ตามลำดับ และภาคผนวก 4) ซึ่งมีปริมาณยีสต์ก่อนการฆ่าเชื้อ 8.0×10^4 และ 4.6×10^5 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างที่ 8 (กราฟรูปที่ 4.6 และภาคผนวก 4) ซึ่งมีปริมาณยีสต์ก่อนการฆ่าเชื้อ 2.0×10^3 หลังจากการฆ่าเชื้อโดยทั้ง 2 วิธีเพียง 1 นาทีก็สามารถทำลายยีสต์จนหมด



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 8 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนยีสต์



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 4 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนยีสต์



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนขนมจีนตัวอย่างที่ 9 โดยตู้อบไมโครเวฟ ■ และลังถึง ▲ ต่อจำนวนยีสต์

ดังได้กล่าวมาแล้วในข้อที่ 4.1 ว่าพบโคลิฟอร์มในตัวอย่างที่ 2, 3 และ 8 ในตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ พบโคลิฟอร์ม 16 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม ในตัวอย่างที่ 3 หลังจากการอบด้วยไมโครเวฟ นาน 0.5 นาที และพบโคลิฟอร์ม 7.3 และ 3.6 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม ในตัวอย่างที่ 8 หลังจากการอบด้วยไมโครเวฟ 0.5 นาที และนึ่งด้วยลังถึง 1 นาที ตามลำดับ ซึ่งเฉพาะในตัวอย่างที่ 8 ทั้ง 2 กรณีดังกล่าวพบว่าเป็น อี.โคไล ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล ในตัวอย่างที่ 3 และ 8 หลังจากการอบด้วยไมโครเวฟและนึ่งด้วยลังถึงที่เวลาต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในทุกตัวอย่าง

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไลในตัวอย่างที่ 3 หลังจากการทำลายจุลินทรีย์ด้วยตู้อบไมโครเวฟ

วิธีการทำลายจุลินทรีย์และเวลาที่ใช้	โคลิฟอร์ม (เอ็มพีเอ็น/กรัม)	อี.โคไล (เอ็มพีเอ็น/กรัม)
ไมโครเวฟ 0 นาที	19	<3
ไมโครเวฟ 0.5 นาที	16	<3
ไมโครเวฟ 1 นาที	<3	<3
ไมโครเวฟ 2 นาที	<3	<3

หมายเหตุ ถ้าพบโคลิฟอร์มและอี.โคไลมากกว่า 3 เอ็มพีเอ็น/กรัม แสดงถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีของการผลิต

ตารางที่ 4.4 ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างที่ 8 หลังการทำลายจุลินทรีย์ด้วยไมโครเวฟและนึ่งด้วยลังถึง

วิธีการทำลายจุลินทรีย์และเวลาที่ใช้	โคลิฟอร์ม (เอ็มพีเอ็น/กรัม)	อี.โคไล (เอ็มพีเอ็น/กรัม)
ไมโครเวฟหรือนึ่ง 0 นาที	>1 100	75
ไมโครเวฟ 0.5 นาที	7.3	7.3
ไมโครเวฟ 1 นาที	<3	<3
ไมโครเวฟ 2 นาที	<3	<3
ลังถึง 1 นาที	3.6	3.6
ลังถึง 2 นาที	<3	<3
ลังถึง 3 นาที	<3	<3
ลังถึง 5 นาที	<3	<3

บทที่ 5 - วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของขนมจีนพบว่า ขนมจีนที่ซื้อมาจากตลาด 10 ตัวอย่าง มีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 2.5×10^4 ถึง 4.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณยีสต์อยู่ระหว่าง 2.0×10^3 ถึง 4.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งรวมทั้งขนมจีนแป้งสดและแป้งหมัก ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการยากที่จะสรุปว่าขนมจีนแป้งหมักหรือแป้งสดมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์แตกต่างกันมากน้อยเพียงใด เนื่องจากตามท้องตลาดในปัจจุบันนี้ ผู้ขายนิยมขายแต่ขนมจีนแป้งหมัก บางตลาดไม่มีขนมจีนแป้งสดเลย แต่อย่างไรก็ตามปรากฏว่าไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในทุกตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ พบโคลิฟอร์มใน 3 ตัวอย่าง และพบ อี.โคไลใน 1 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์นี้เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาคุณภาพขนมจีนทางจุลชีววิทยา เมื่อปีพ.ศ. 2527[21] ซึ่งพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ และสแตไฟโลคอกคัส ออเรียส จำนวน 19 และ 7 ตัวอย่างตามลำดับ และพบโคลิฟอร์ม 64 ตัวอย่าง ในตัวอย่างทั้งหมด 100 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ อาจสรุปได้ว่าการผลิตขนมจีนปัจจุบันนี้มีกรรมวิธีผลิตที่ดีขึ้น มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์น้อยลง แต่ก็ยังพบโคลิฟอร์มและอี.โคไล ในบางตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวบ่งถึงสุขลักษณะของการผลิต นอกจากนี้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดยังเป็นอีกตัวหนึ่งที่ช่วยบ่งบอกสุขลักษณะของการผลิตและคุณภาพของวัตถุดิบที่นำมาใช้ ดังได้กล่าวมาแล้วในข้อ 1.3 ถึงกรรมวิธีในการผลิตขนมจีน จะเห็นได้ว่ามีหลายขั้นตอนและใช้เวลาหลายวัน โดยเฉพาะขนมจีนแป้งหมัก ดังนั้นทุกขั้นตอนจะเสี่ยงต่อการปนเปื้อนทั้งนั้น เช่น การจับขนมจีน การขนส่ง และในช่วงรอการจำหน่ายที่ตลาด โดยการเก็บขนมจีนไว้ค้างคืน หรือในช่วงที่ผู้ขายใช้มือหยิบขนมจีนให้ลูกค้าก็เป็นจุดสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อโรคไปสู่ผู้บริโภคได้ ถึงแม้ขนมจีนที่วิเคราะห์ครั้งนี้จะไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่จากปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ รวมทั้งยีสต์ โคลิฟอร์ม และอี.โคไล ที่พบในบางตัวอย่าง อาจทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการอาหารเป็นพิษได้เมื่อบริโภคขนมจีนเหล่านี้เข้าไป โดยเฉพาะผู้บริโภคที่เป็นเด็ก และผู้สูงอายุ ซึ่งมีภูมิต้านทานต่อโรคน้อยกว่าผู้ใหญ่ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคจึงควรฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในขนมจีนก่อนการบริโภค

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ตู้อบไมโครเวฟและลังถึงในการทำลายจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเวลาในการอบหรือให้ความร้อนนานขึ้น ในกรณีของไมโครเวฟจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้เมื่ออบด้วยไมโครเวฟนาน 2 นาที

ผลการทดลองนี้คล้ายคลึงกับการทดลองเรื่องการทำลายจุลินทรีย์ในซอสพริก[22] ซึ่งพบว่าการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในซอสพริกด้วยไมโครเวฟต้องใช้เวลา 2 นาที โดยมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 1.7×10^4 โคโลนีต่อกรัม ในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นก็อยู่ในช่วงดังกล่าวหรือมากกว่า มีอยู่ 2 ตัวอย่างที่ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงถึง 2.1×10^5 และ 2.9×10^6 ซึ่งไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้เมื่อใช้ไมโครเวฟนาน 2 นาที อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่มีน้อยมาก คือ 10 -15 โคโลนีต่อกรัม อาจกล่าวได้ว่าไม่เป็นอันตรายในการบริโภค ขนมจีนที่อบด้วยไมโครเวฟนานกว่า 2 นาที จะมีผิวหน้าแห้ง มีลักษณะไม่น่ารับประทาน จึงไม่ควรอบด้วยไมโครเวฟนานกว่า 2 นาที นอกจากนี้ผลของไมโครเวฟต่อจุลินทรีย์ทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้ยังมีรายงานสนับสนุนโดย Cunningham[11] ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์เริ่มต้น 10^7-10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะลดลงจนถูกทำลายหมดหลังจากอบด้วยไมโครเวฟนานเพียง 15 วินาที

นอกจากนี้ยังพบว่าการอบด้วยตู้อบไมโครเวฟสามารถทำลายโคลิฟอร์ม และอี.โคไล ได้ โดยการลดลงของจำนวนโคลิฟอร์มในตัวอย่างที่ 3 และ 8 และการลดลงของอี.โคไลในตัวอย่างที่ 8 หลังจากการอบด้วยไมโครเวฟนาน 0.5 นาที ผลการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนการวิจัยของ Fung และ Cunningham[6] รวมทั้ง Page และ Martin[13] ที่พบว่าการใช้ตู้อบไมโครเวฟสามารถทำลายเชื้อ อี.โคไล ได้

การนึ่งด้วยลังถึงพบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขนมจีนได้ จุลินทรีย์จะลดลงเมื่อเวลาที่ใช้ในการนึ่งมากขึ้น และจะลดลงจนหมดเมื่อนึ่งไปได้ 5 นาทีหลังจากน้ำเดือด ส่วนปริมาณยีสต์ก็ลดลงอย่างรวดเร็วจนถูกทำลายหมดเมื่อนึ่งได้ 2 นาที การนึ่งยังสามารถฆ่าเชื้อ โคลิฟอร์ม และอี.โคไลอีกด้วย

การนึ่งจะใช้เวลาในการนึ่งนานกว่าการใช้ไมโครเวฟ เมื่อเอาเวลาที่ต้องใช้ในการทำให้น้ำเดือดตามการศึกษาครั้งนี้คือ 3 นาที 44 วินาที รวมกับเวลา 5 นาที หลังจากน้ำเดือดซึ่งพบว่าเวลานี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ทำให้ได้เวลาทั้งหมดประมาณ 9 นาที ซึ่งจะนานกว่าการใช้ไมโครเวฟที่ใช้เวลาเพียง 2 นาที การเลือกใช้วิธีทั้ง 2 วิธีนี้ก็อยู่ที่ผู้บริโภคว่าจะสะดวกกับการใช้แบบไหน ชาวบ้านตามชนบทอาจจะไม่มีไมโครเวฟใช้ ก็สามารถเลือกใช้ลังถึงได้ ส่วนผู้ที่อยู่ในกรุงเทพ ฯ หรือจังหวัดอื่น ๆ ที่อยู่ในสภาวะที่จะสามารถซื้อหาไมโครเวฟไว้ใช้ได้ ก็อาจเลือกใช้ไมโครเวฟในการทำลายจุลินทรีย์ในขนมจีนก่อนการบริโภค

บทที่ 6 - สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของขนมจีนที่ซื้อมาจากตลาด 10 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 2.5×10^4 ถึง 4.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณยีสต์อยู่ระหว่าง 2.0×10^3 ถึง 4.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม พบโคลิฟอร์ม 3 ตัวอย่าง และอี.โคไล 1 ตัวอย่าง แต่ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค คือ คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ สแตไฟโลคอกคัส ออเรียส และซาลโมเนลลา

ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีมาตรฐานของขนมจีนโดยเฉพาะ อาจนำข้อกำหนดทางจุลินทรีย์ตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดไว้เรื่องอาหารควบคุมเฉพาะมาใช้ โดยได้ระบุว่าจะต้องไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารซึ่งได้แก่ ซาลโมเนลลา คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ และสแตไฟโลคอกคัส ออเรียส ถ้ามีการกำหนดโคลิฟอร์มและ อี.โคไลในอาหารด้วย โคลิฟอร์มจะต้องน้อยกว่า 3 เอ็มพีเอ็นต่อกรัม และต้องไม่พบ อี.โคไล

การทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในขนมจีนโดยการอบด้วยตู้อบไมโครเวฟและการนึ่งด้วยลังถึงมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้ดี ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเวลาที่ใช้อบหรือนึ่งเพิ่มขึ้น การอบด้วยตู้อบไมโครเวฟใช้เวลา 2 นาทีก็สามารถทำลายจุลินทรีย์ในขนมจีนส่วนใหญ่ได้ ส่วนการนึ่งด้วยลังถึงต้องใช้เวลาหลังจากน้ำเดือด 5 นาที ในการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด การอบด้วยไมโครเวฟและการนึ่งด้วยลังถึงยังสามารถทำลายเชื้อโคลิฟอร์ม และอี.โคไลได้อีกด้วย ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคขนมจีนจึงควรนึ่งหรืออบด้วยตู้อบไมโครเวฟก่อนการบริโภค

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสุจินต์ ศรีคงศรี ผู้อำนวยการกองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ในการให้คำแนะนำและแก้ไขการเขียนผลงานนี้ และคุณวรรณี สมพร หัวหน้ากลุ่มงานจุลชีววิทยา ในการให้คำปรึกษาและแนะนำจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ณรงค์ นิยมวิทย์. ขนมจีน. **อาหาร** ปีที่ 15, ฉบับที่ 3, กรกฎาคม-กันยายน 2528, หน้า 123-129

2. ศิวาพร ศิวเวชช. ศึกษาการผลิตขนมจีนจากข้างฟ่าง. **วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์** ปีที่ 26, ฉบับที่ 3, กรกฎาคม-กันยายน 2535, หน้า 291-295

3. กาญจนา. ขนมจีนแป้งหมักแหลมงอบ. **เทคโนโลยีชาวบ้าน** ปีที่ 4, ฉบับที่ 37, ตุลาคม 2534, หน้า 16-17

4. สุมาลี ทั่งพิริยกุล และ วินัย นุตมากุล. ความปลอดภัยในการใช้เตาอบไมโครเวฟประกอบอาหาร. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ** ฉบับที่ 125, มกราคม 2534, หน้า 26-27

5. Decareau, R. V. **Microwave Foods: New Product Development**. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut USA, 1992

6. Fung, D. Y. C. and Cunningham, F. E. Effect of microwaves on microorganisms in Foods. **Journal of Food Protection** 1980, vol. 43, no. 8, p. 641-650.

7. Webb, S. J. and Dodds, D. D. Inhibition of bacterial cell growth by 136 gc microwaves. **Nature** 1968, vol. 218, p. 374-375

8. Bergtsson, N. E., Kheen, W. and Del Valle, F. R. Radio-frequency pasteurization of cured hams. **Journal of Food Science** 1970, vol. 35, p. 681-687.

9. Cunningham, F. E. The effect of brief microwave treatment on numbers of bacteria in fresh chicken patties. **Poultry Science** 1978, vol. 57, p. 296-297.

10. Crespo, F. L., Ockerman, H. W. and Irvin, K. M. Effect of conventional and microwave heating on *Pseudomas putrifaciens, Streptococcus faecalis*, and *Lactobacillus plantarum* in meat tissue. **Journal of Food Protection** 1977, vol. 40, no. 9, p. 558-591.

11. Cunningham, F. E. Influence of microwave radiation on psychrotrophic bacteria. **Journal of Food Protection** 1980, vol. 43, no. 8, p. 651-655.

12. Olsen, C. M. Microwaves inhibit bread molds. **Food Engineering** 1968, vol. 37, p. 51-53.

13. Page, W. J. and Martin, W. G. Survival of microbial films in the microwave oven. **Canadian Journal of Microbiology** 1978, vol. 24, p. 1431-1433.

14. Roberts, P. C. B. Vibility studies on ascospores and vegetative cells of S. cerevisiae exposed to microwaves at 2450 Mhz. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 1972, vol. 23, p. 544.

15. PelcZar, M. J., Chan, E. C. S. and Krieg, N. R. **Microbiology: Concepts and Applications**. McGraw-Hill, Inc. New York, 1993, p. 204.

16. Difco Manual Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology. 10th ed. Difco Laboratories. Detroit Michigan 1984.

17. E. Merck, Microbiology Manual, Darmstadt, 1992.

18. Eiken Products for Culture Media. Eiken Chemical Co., Ltd. Tokyo Japan.

19. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Arlington, Virginia 1995: Chapter 17 p. 3-5, 33-34, 58-60.

20. Chashi, M. H., Murakami, H., Kudoh, Y., Sakai, S. **Manual for the Laboratory Diagnosis of Bacterial Food Poisoning and the Assessment of the Sanitary Quality of Food**. Seamic Publication, Tokyo. 1978, p. 55-57

21. การศึกษาคุณภาพขนมจีนทางจุลชีววิทยา **รายงานกิจกรรมกรมวิทยาศาสตร์บริการ** ปีงบประมาณ 2527, ฉบับที่ 42, หน้า 124-129

22. การศึกษาทดลองวิธีทำลายจุลินทรีย์ในซอสพริก **รายงานกิจกรรมกรมวิทยาศาสตร์บริการ** ปีงบประมาณ 2528, ฉบับที่ 43, หน้า 97-100

ภาคผนวก 1

1. อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม

1.1 คุกมีทมีเดียม (cooked meat medium) ของ Oxoid

มีส่วนประกอบดังนี้

หัวใจวัว	454	กรัม
เพปโทน (peptone)	10	กรัม
แลบเล็มโก พาวเดอร์ (lab-lemco powder)	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)	5	กรัม
กลูโคส (glucose)	2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ใช้คุกมีทมีเดียม 1 กรัม ต่อน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.2 ซิมมอนส์ ซิเตรท อะการ์ (Simmons citrate agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

แมกนีเซียมซัลเฟต (magnesium sulfate)	0.2	กรัม
แอมโมเนียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (ammonium dihydrogen phosphate)	1	กรัม
ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (dipotassium phosphate)	1	กรัม
โซเดียมซิเตรท (sodium citrate)	2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
บรอมไทมอลบลู (brom thymol blue)	0.08	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	กรัม

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.8 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอด ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางหลอดให้เอียงจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวให้มีส่วนสแลนท์ (slant)

1.3 เซเลไนต์ซีสทีนบรอท (selenite cystine broth) ของ Merck

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทน (tryptone)	5	กรัม
แล็กโทส (lactose)	4	กรัม
โซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate)	10	กรัม
โซเดียมแอซิดเซเลไนต์ (sodium acid selenite)	4	กรัม
แอล-ซีสทีน (L-cystine)	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด แบ่งใส่หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ ขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร หลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก ควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อให้หมดภายในวันที่เตรียม

1.4 ทริปโทน บรอท (tryptone broth)

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทน	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

1.5 ทริปเพิลชูการ์ไอร์ออนอะการ์ (triple sugar iron agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์ (beef extract)	3	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์ (yeast extract)	3	กรัม
เพปโทน	15	กรัม
โพรทีโอสเพปโทน (proteose peptone)	5	กรัม
เดกซโทรส (dextrose)	1	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
ซูโครส (sucrose)	10	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate)	0.2	กรัม

โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
โซเดียมไทโอซัลเฟต (sodium thiosulfate)	0.3	กรัม
วุ้น	12	กรัม
ฟีนอลเรด (phenol red)	0.024	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.4 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลองขนาดขนาด 18 x 180 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางหลอดให้เอียงจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวให้มีส่วนบัทท์ (butt) และส่วนสแลนท์ (slant)

1.6 นิวเทรียนท์ (nutrient agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์	3	กรัม
เพปโทน	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.8 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายก่อนบรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.7 บริลเลียนท์กรีนไบล์ร้อยละ 2 (brilliant green bile 2%) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

เพปโทน	10	กรัม
ดีวัว (Oxgall)	20	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
บริลเลียนท์กรีน (brilliant green)	0.0133	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.2 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ซึ่งมีหลอดจับแก๊สดูแรห์มคว่ำอยู่ในหลอด บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อหลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.8 บริลเลียนท์กรีนอะการ์ (brilliant green agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

โพรทีโอสเพปโทน	10	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	3	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
แซ็กคาโรส (saccharose)	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
บริลเลียนท์กรีน	0.0125	กรัม
วุ้น	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.9 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.9 บิสมัทซัลไฟท์อะการ์ (bismuth sulfite agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์	5	กรัม
เพปโทน	10	กรัม
เดกซโทรส	5	กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต (disodium phosphate)	4	กรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต	0.3	กรัม
บิสมัทซัลไฟท์อินดิเคเตอร์ (bismuth sulfite indicator)	8	กรัม
วุ้น	20	กรัม
บริลเลียนท์กรีน	0.025	กรัม

น้ำกลั่น 1 ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.7 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดฝา ต้มให้เดือดไม่เกิน 1-2 นาที ต้องระวังอย่าให้เดือดนานกว่านี้ ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.10 เบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นบรอท (brain heart infusion broth) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

อินฟิวชั่นจากสมองลูกวัว (infusion from calf brain)	200	กรัม
อินฟิวชั่นจากหัวใจวัว (infusion from beef heart)	250	กรัม
โพทีโอสเพปโทน	10	กรัม
เดกซโทรส	2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.4 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

1.11 แบร์คปาร์กเกอร์อะการ์เบส (Baird-Parker agar base) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทน	10	กรัม
บีฟเอกซแทรกต์	5	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	1	กรัม
ไกลซีน (glycine)	12	กรัม
โซเดียมไพรูเวต (sodium pyruvate)	10	กรัม
ลิเทียมคลอไรด์ (lithium chloride)	5	กรัม
วุ้น	20	กรัม

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมในน้ำกลั่น แล้วต้มจนละลาย บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 – 50 องศาเซลเซียส เติม อี วาย เทลลูไรท์ เอ็นริชเมนท์ (EY tellurite enrichment, Difco) 50 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.12 โปเทโทเดกซโทรสอะการ์ (potato dextrose agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

อินฟิวชั่นจากมันฝรั่ง	200	กรัม
เดกซโทรส	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 5.6 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมในน้ำกลั่น แล้วต้มจนละลาย บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-ด่างก่อนนำไปใช้ให้เท่ากับ 3.5 โดยใช้ กรดทาร์ทาริกร้อยละ 10 (10% tartaric acid) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใช้ได้ทันที

1.13 เพลตเคานต์อะการ์ (plate count agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทน	5	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	2.5	กรัม
เดกซโทรส	1	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลายก่อนบรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.14 โมไทลิติไนเตรทมีเดียม (motility nitrate medium)

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์	3	กรัม
เพปโทน	5	กรัม
โพแทสเซียมไนเตรท (potassium nitrate)	5	กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต	2.5	กรัม
กาแล็กโทส (galactose)	5	กรัม
กลีเซอรอล (glycerol)	5	กรัม
วุ้น	3	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.3 ± 0.1 ที่ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลองที่มีจุกเกลียวขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.15 ยูเรียบรอท (urea broth) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

ยีสต์เอกซแทรกต์	0.1	กรัม
โมโนโพแทสเซียม ฟอสเฟต (monopotassium phosphate)	9.1	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต	9.5	กรัม
ยูเรีย (urea)	20	กรัม
ฟีนอลเรด	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.8 ± 0.1 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องกรองจุลินทรีย์ แบ่งใส่หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อขนาด 13 x 125 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 3 มิลลิลิตร

1.16 ลอริลซัลเฟตบรอท (lauryl sulfate broth) ของ Merck

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทส (tryptose)	20	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต	2.75	กรัม
โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate)	2.75	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
แล็กโทส	5	กรัม
โซเดียม ลอริล ซัลเฟต (sodium lauryl sulfate)	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.8 ± 0.1 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ซึ่งมีหลอดจับแก๊ส ดูแรห์ม (durham) คว่ำอยู่ในหลอด บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อหลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

1.17 ลีวายน์ อี เอ็ม บี อะการ์ (Levine EMB agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

เพปโทน	10	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต	2	กรัม
อีโอซิน วาย (Eosin Y)	0.4	กรัม
เมทิลลีน บลู (methylene blue)	0.065	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.2 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมในน้ำกลั่น แล้วต้มจนละลาย บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.18 แล็กโทสบรอท (lactose broth) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์	3	กรัม
เพปโทน	5	กรัม
แล็กโทส	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.9 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 225 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

1.19 แล็กโทสเจลาทินมีเดียม (lactose gelatin medium)

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทส	15	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	10	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต	5	กรัม
ฟีนอลเรด	0.05	กรัม
เจลาทิน (gelatin)	120	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.5 ± 0.1 ที่ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลองที่มีจุกเกลียวขนาด 18 x 180 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.20 ไลซีนไอร์ออนอะการ์ (lysine iron agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

เพปโทน	5	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	3	กรัม
เดกซโทรส	1	กรัม
แอล-ไลซีน ไฮโดรคลอไรด์ (L-lysine hydrochloride)	10	กรัม

เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรท (ferric ammonium citrate)	0.5	กรัม
โซเดียมไทโอซัลเฟต	0.04	กรัม
บรอมครีซอลเพอร์เพิล (brom cresol purple)	0.02	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.7 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เติมส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 18 x 180 มิลลิเมตร หลอดละประมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางหลอดให้เอียงจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวให้มีส่วนบัทท์ และส่วนสแลนท์

1.21 อีซีมีเดียม (EC medium) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

ทริปโทส	20	กรัม
แล็กโทส	5	กรัม
ไบล์ซอลต์หมายเลข 3 (bile salts No. 3)	1.5	กรัม
ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต	4	กรัม
โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต	1.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.9 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ซึ่งมีหลอดจับแก๊ส ดูแรห์ม คว่ำอยู่ในหลอด บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.22 เอฟเอ็มซีดับบลิวอะการ์ (FM-CW agar) ของ Eiken Chemical Co. Ltd.

มีส่วนประกอบดังนี้

เพปโทน	15	กรัม
ยีสต์เอกซแทรกต์	5	กรัม

อินฟิวชั่นจากสมองลูกวัว	50	กรัม
อินฟิวชั่นจากหัวใจวัว (infusion from ox heart)	65	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
ฟีนอล เรด	0.05	กรัม
ฟราดิโอมัยซิน (fradiomycin)	400	มิลลิกรัม
วุ้น	15	กรัม

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.6

เติมส่วนผสมในน้ำกลั่น แล้วต้มจนละลาย บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก ต้มให้เดือด ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติมเอกโยล์กเอ็นริชเมนท์ (egg yolk enrichment, Difco) ร้อยละ 10 ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียม ผสมให้เข้ากัน เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 20 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.23 เอส-เอสอะการ์ (SS agar) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บีฟเอกซแทรกต์	5	กรัม
โพรทีโอสเพปโทน	5	กรัม
แล็กโทส	10	กรัม
ไบล์ซอลท์	8.5	กรัม
โซเดียมซิเตรท	8.5	กรัม
โซเดียมไทโอซัลเฟต	8.5	กรัม
เฟอร์ริก ซิเตรท (ferric citrate)	1	กรัม
บริลเลียนท์กรีน	0.33	มิลลิกรัม
นิวทรัลเรด (neutral red)	0.025	กรัม
วุ้น	13.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร ปิดจุก ต้มให้เดือด 2-3 นาที ทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ

55-60 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ทำให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้

1.24 เอ็มอาร์-วีพี มีเดียม (MR-VP medium) ของ Difco

มีส่วนประกอบดังนี้

บัฟเฟอร์ เพปโทน (buffered peptone)	7	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต	5	กรัม
เดกซโทรส	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 6.9 ± 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

2. สารเคมี

2.1 กรดทาร์ทาริกร้อยละ 10 (10% tataric acid)

ชั่งกรดทาร์ทาริก 10 กรัม ใส่น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2.2 โคแวกสรีเอเจนท์ (Kovac's reagent)

ละลายพาราไดเมทิลอะมิโนเบนซัลดีไฮด์ (p-dimethy-aminobenzaldehyde) 5 กรัม ในเอมิลอัลกอฮอล์ 75 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

2.3 โคอะกูเลสพลาสมา อีดีทีเอ (coagulase plasma EDTA) ของ Difco

2.4 ซาลโมเนลลาโพลีวาเลนท์ เอช แอนติซีรัม (Salmonella polyvalent H antiserum) ของ Difco

2.5 ซาลโมเนลลาโพลีวาเลนท์ โอ แอนติซีรัม (Salmonella polyvalent O antiserum) ของ Difco

2.6 ไนไตรท์เทสท์รีเอเจนท์ (nitrite test reagent)

2.2.1 สารละลายเอ

ละลายกรดซัลฟานิลิก (sulfanilic acid) 8 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 5 โมลต่อ ลิตร จำนวน 1 ลิตร

2.2.2 สารละลายบี

ละลายแอลฟาแนฟทอล (α-naphthol) 5 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 5 โมลต่อ 1 ลิตร จำนวน 1 ลิตร

2.7 สารละลายเจือจาง

ใช้สารละลายริงเกอร์ (ringer solution) - ¼ strength ringer solution tablets ของ Oxoid

มีส่วนประกอบดังนี้

โซเดียมคลอไรด์	2.25	กรัม
โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride)	0.105	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride $6H_2O$)	0.12	กรัม
โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate)	0.05	กรัม

ค่าความเป็นกรด-ด่าง สุดท้ายเท่ากับ 7.0

ส่วนประกอบที่สำเร็จแล้วจะเป็นเม็ด (tablet) ละลาย 1 เม็ด ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายริงเกอร์เจือจาง 1 ใน 4 ซึ่งใช้เป็นสารละลายเจือจางในการเตรียมตัวอย่าง แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก 2

ตารางเอ็มพีเอ็น (AOAC 1995)

(ใช้ตัวอย่าง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม ความเข้มข้นละ 3 หลอด)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	เอ็มพีเอ็น/กรัม	0.1	0.01	0.001	เอ็มพีเอ็น/กรัม	0.1	0.01	0.001	เอ็มพีเอ็น/กรัม	0.1	0.01	0.001	เอ็มพีเอ็น/กรัม
0	0	0	<3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	<3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	15	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

ภาคผนวก 3

เวลาในการต้มน้ำในลังถึงจนน้ำเดือด

ครั้งที่	เวลา
1	3 นาที 45 วินาที
2	3 นาที 59 วินาที
3	4 นาที 10 วินาที
4	3 นาที 6 วินาที
5	3 นาที 39 วินาที
ค่าเฉลี่ย	3 นาที 44 วินาที

ภาคผนวก 4

ปริมาณจุลินทรีย์และยีสต์หลังจากการทำลายจุลินทรีย์โดยใช้ตู้อบไมโครเวฟและลังถึง

ตัวอย่างที่	วิธีในการทำลายจุลินทรีย์โดยใช้	เวลาที่ใช้ (นาที)	จุลินทรีย์ (โคโลนีต่อกรัม)	ยีสต์ (โคโลนีต่อกรัม)
4	ตู้อบไมโครเวฟ	0	2.1×10^5	8.0×10^4
		0.5	5.5×10^3	1.2×10^3
		1	4.0×10^2	3.0×10^2
		2	1.0×10	0
	ลังถึง	0	2.1×10^5	8.0×10^4
		1	1.0×10^5	2.7×10^4
		2	8.0×10	0
		3	6.0×10	0
		5	0	0
5	ตู้อบไมโครเวฟ	0	2.5×10^4	*
		0.5	2.5×10^3	*
		1	1.1×10^3	*
		2	0	*
	ลังถึง	0	2.5×10^4	*
		1	9.5×10^3	*
		2	3.0×10	*
		3	3.0×10	*
		5	0	*

ตัวอย่างที่	วิธีในการทำลายจุลินทรีย์	เวลาที่ใช้ (นาที)	จุลินทรีย์ (โคโลนีต่อกรัม)	ยีสต์ (โคโลนีต่อกรัม)
7	ตู้อบไมโครเวฟ	0	2.4×10^5	*
		0.5	3.3×10^4	*
		1	2.3×10^2	*
		2	0	*
	ลังถึง	0	2.4×10^5	*
		1	8.0×10^3	*
		2	1.4×10^2	*
		3	1.2×10^2	*
		5	0	*
8	ตู้อบไมโครเวฟ	0	4.5×10^4	2.0×10^3
		0.5	5.0×10^2	1.2×10^2
		1	1.0×10	0
		2	0	0
	ลังถึง	0	4.5×10^4	2.0×10^3
		1	7.0×10^2	2.0×10
		2	5.0×10^2	0
		3	3.0×10	0
		5	0	0

<u>หมายเหตุ</u> * หมายถึงไม่ได้วิเคราะห์รายการนี้

ตัวอย่างที่	วิธีในการทำลายจุลินทรีย์	เวลาที่ใช้ (นาที)	จุลินทรีย์ (โคโลนีต่อกรัม)	ยีสต์ (โคโลนีต่อกรัม)
9	ตู้อบไมโครเวฟ	0	2.9×10^6	4.6×10^5
		0.5	9.0×10^4	5.0×10^4
		1	1.8×10^3	3.0×10^2
		2	1.5×10	0
	ลังถึง	0	2.9×10^6	4.6×10^5
		1	2.9×10^4	8.7×10^3
		2	3.0×10	0
		3	1.0×10	0
		5	0	0

หมายเหตุ ตัวอย่างขนมจีน 5 ตัวอย่างที่นำมาศึกษาการทำลายจุลินทรีย์เป็นตัวอย่างที่สุ่มมาจากตัวอย่าง 10 ตัวอย่างที่ซื้อมาจากตลาด