บทที่ 9

การควบคุมจุลินทรีย์

(Microbial Control)

microorganism

- จุลินทรีย์มีการแพร่กระจายทั่วไปทั้งบนดิน ในน้ำ ในอากาศ มีทั้งพวกที่เป็นประโยชน์ ใช้เป็นอาหาร เช่นเห็ด จุลินทรีย์ประเภทยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนเซลล์เดียว จุลินทรีย์หลายประเภท
- ใช้ในการแปรรูปอาหารหรือถนอมอาหาร บางชนิดเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสารปฏิชีวนะเพื่อใช้เป็นยารักษาโรค ส่วนในด้านที่เป็นโทษ จุลินทรีย์หลายชนิดทำให้เกิดโรคทั้งพืช สัตว์และมนุษย์ บางชนิดทำให้อาหารบูดเน่าเสีย จึงจำเป็นต้องมีการควบคุมให้มีจุลินทรีย์ในปริมาณที่เหมาะสม

Microorganisms Can Make Food

Yoghurt

Made by adding bacteria to milk. Bacteria turn sugar in milk into **lactic acid**. Milk **clots** & **thickens** into yoghurt.

^ clotted milk

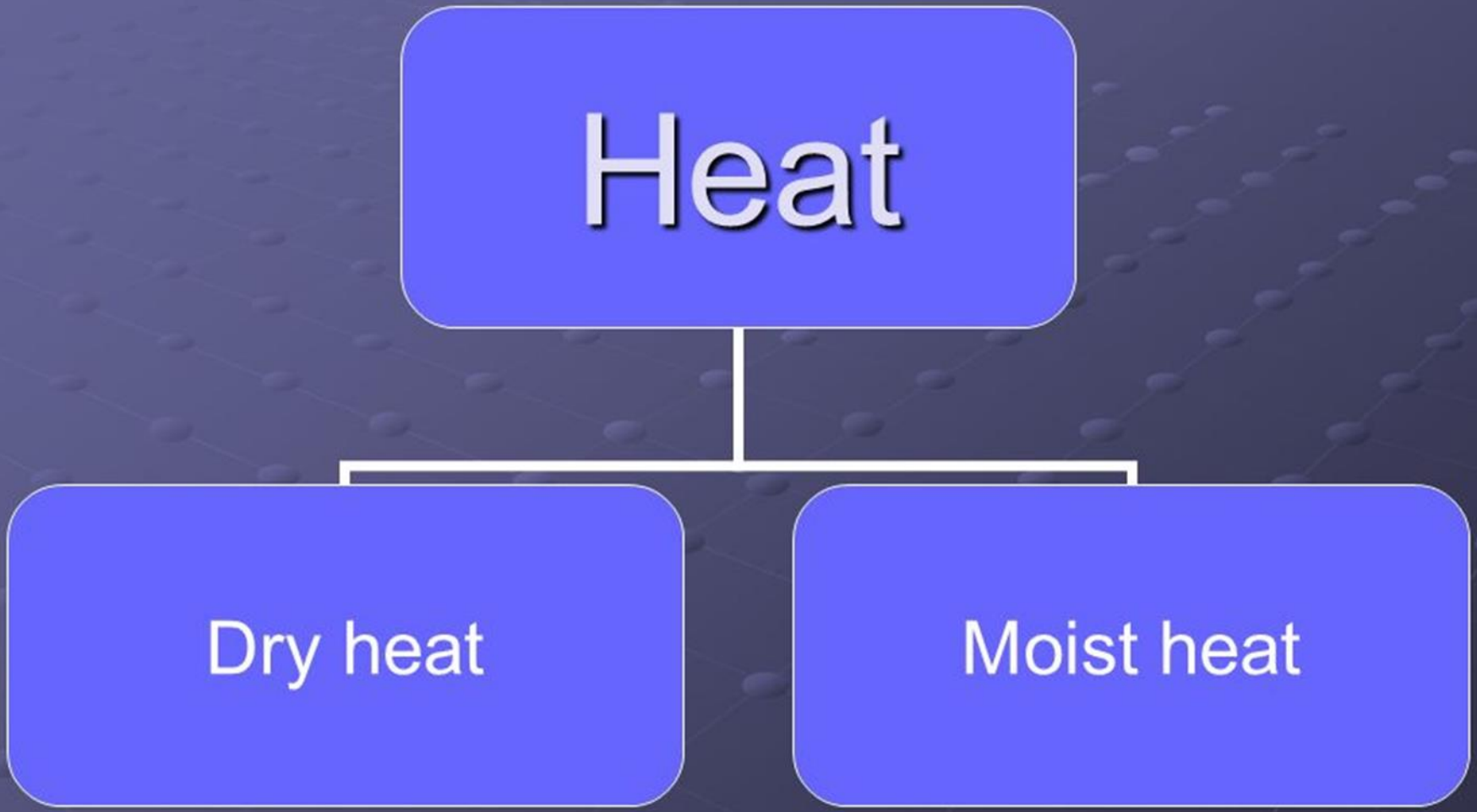
Microbial control

- **หลักการควบคุมจุลินทรีย์**
- นักจุลชีววิทยาได้นำความรู้เกี่ยวกับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์มาดัดแปลงเพื่อควบคุมจุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็นการป้องกัน การยับยั้ง หรือการทำลายจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งหรือทำลายนั้น เนื่องจากสาเหตุใดสาเหตุหนึ่งหรือหลายสาเหตุร่วมกัน ดังนี้

1. ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลาย
- 2. เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์
- 3. เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพคอลลอยด์ของโปรพลาสซึม
- 4. เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดนิวคลีอิกหรือกรดนิวคลีอิกถูกทำลาย
- 5. เกิดการต่อต้านการสร้างสารในกระบวนการสร้างและสลาย

- **วิธีการควบคุมจุลินทรีย์**
- การควบคุมจุลินทรีย์หมายถึง การป้องกัน การกำจัดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยแบ่งวิธีควบคุมจุลินทรีย์เป็นวิธีใหญ่ ๆ ได้แก่วิธีการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ คือ
  - **การใช้ความร้อน** โดยความร้อนจะทำให้โปรตีนและส่วนประกอบภายในเซลล์จุลินทรีย์แปรสภาพไป การใช้ความร้อนควบคุมจุลินทรีย์ยังแบ่งได้ 2 วิธี คือ

sterilization by heat

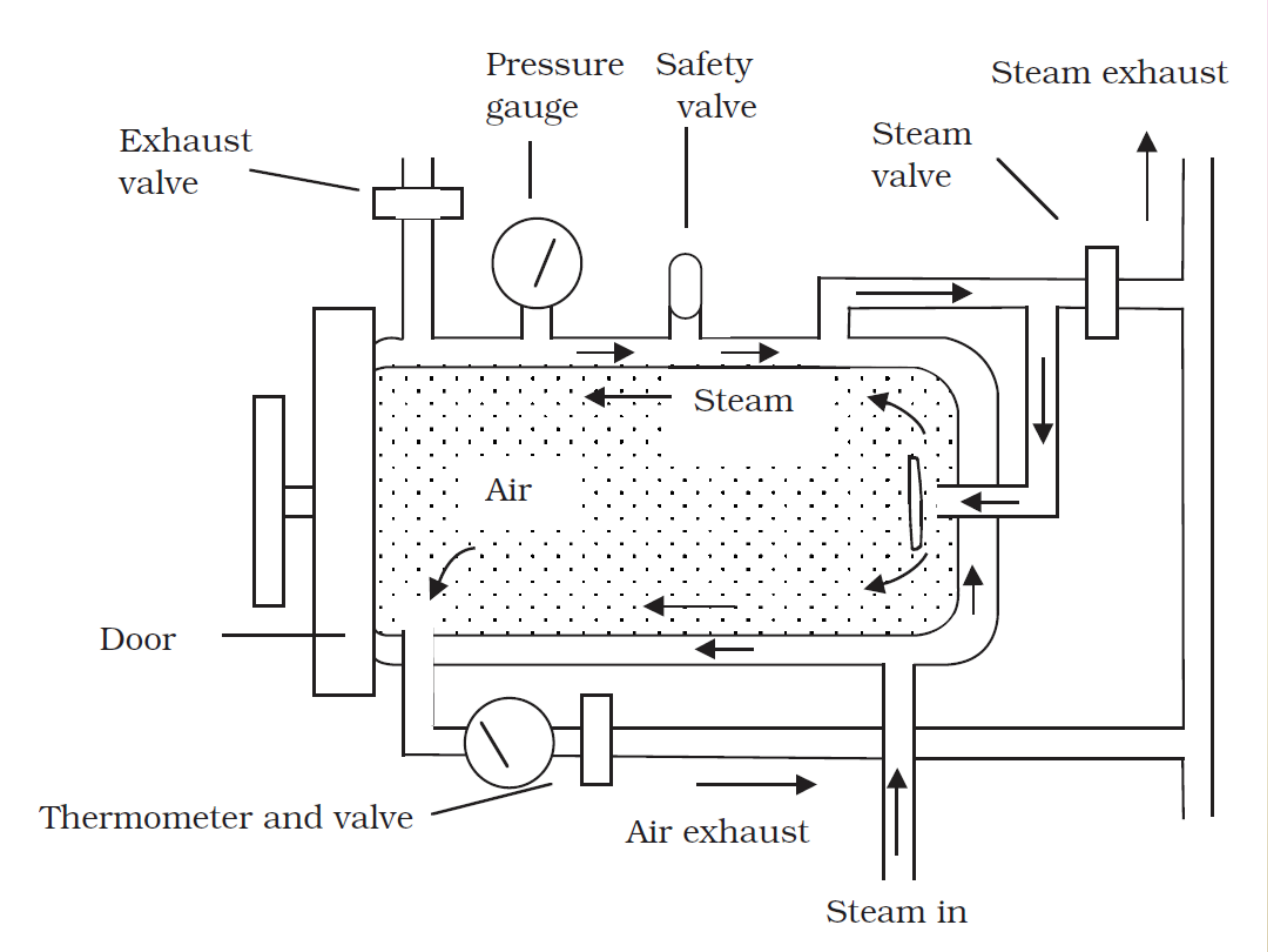


- **1.1.1 การใช้ความร้อนเปียกหรือไอน้ำร้อน** มี 4 วิธีการคือ
- 1.1.1.1 การใช้ไอน้ำร้อนภายใต้ความดัน (Steam Under Pressure) เป็นการกำจัดจุลินทรีย์รวมทั้งสปอร์โดยใช้หม้อนึ่งอัดไอ โดยใช้ไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15-20 นาทีสำหรับวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมจุลินทรีย์ด้วยวิธีนี้มักเป็น อาหารเพาะเชื้อ เครื่องมือเครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เป็นต้น
-

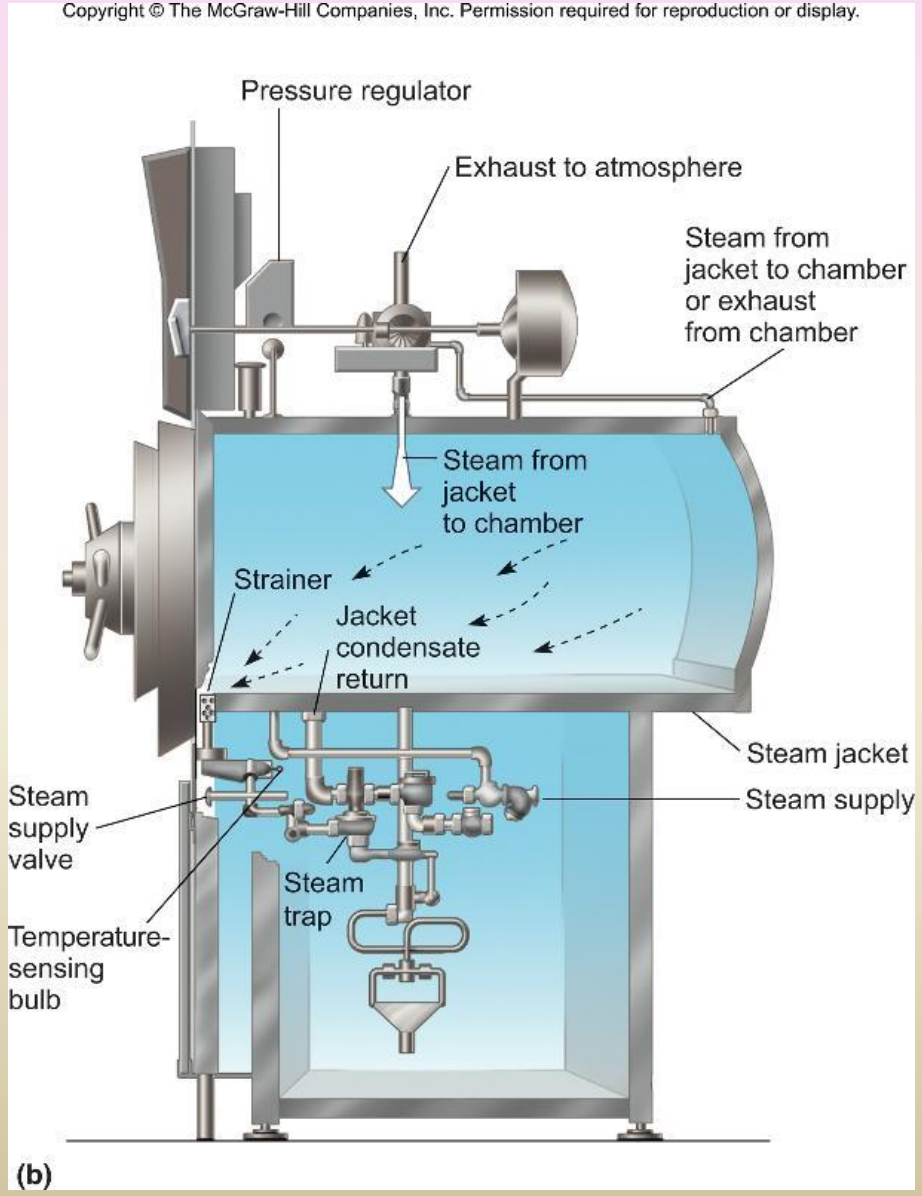
autoclave

AC-45

ลักษณะการทำงานของหม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave)

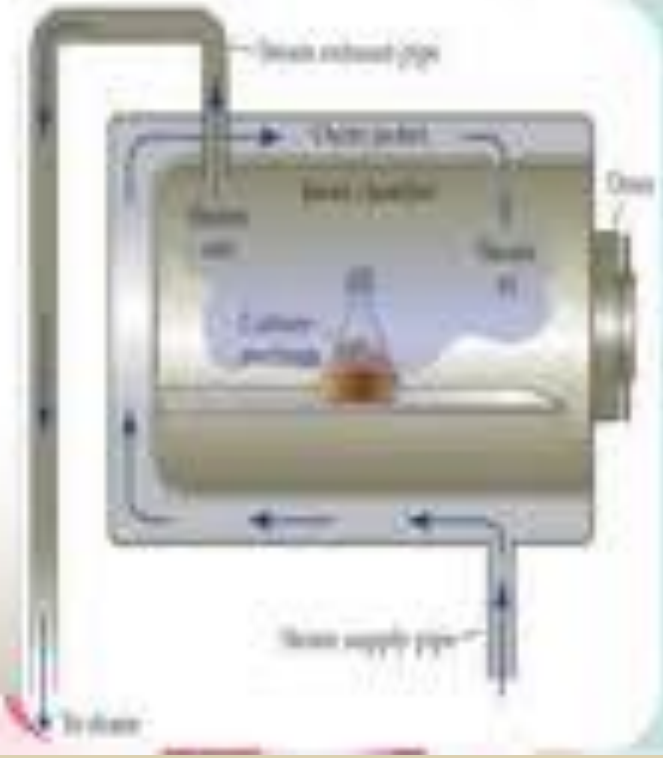


autoclave


Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.
Pressure regulator
Exhaust to atmosphere
Steam from jacket to chamber or exhaust from chamber
Steam from jacket to chamber
Strainer
Jacket condensate return
Steam jacket
Steam supply
Steam supply valve
Steam trap
Temperature-sensing bulb
(b)

- 1.1.1.2 **การทำไร้เชื้อลำดับส่วน (Tyndallization)** เป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา 3 วัน ๆ ละครั้ง แต่ละครั้งเว้นระยะเวลาที่ห่างกันประมาณ 24 ชั่วโมง โดยวิธารนี้จะทำให้จุลินทรีย์และสปอร์ถูกทำลายหมด และวิธีนี้มักใช้กับอาหารเพาะเชื้อบางชนิดที่ไม่สามารถให้อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียสได้ เพราะจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเสื่อมเสียคุณภาพได้

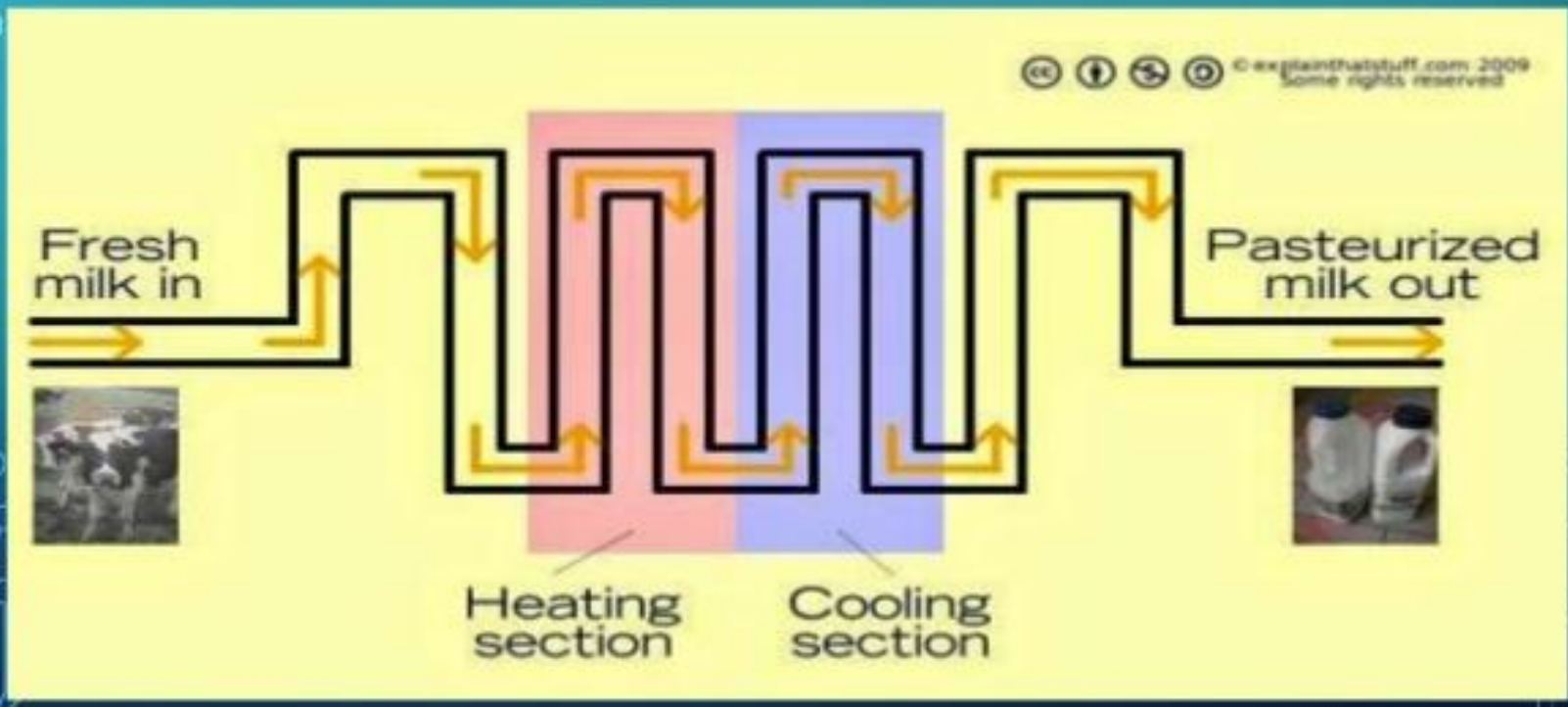
c. FRACTIONAL STERILIZATION (tyndallization)



- Exposed to live steam for 30 mins for 3 consecutive days
- Vegetative forms are destroyed except endospores

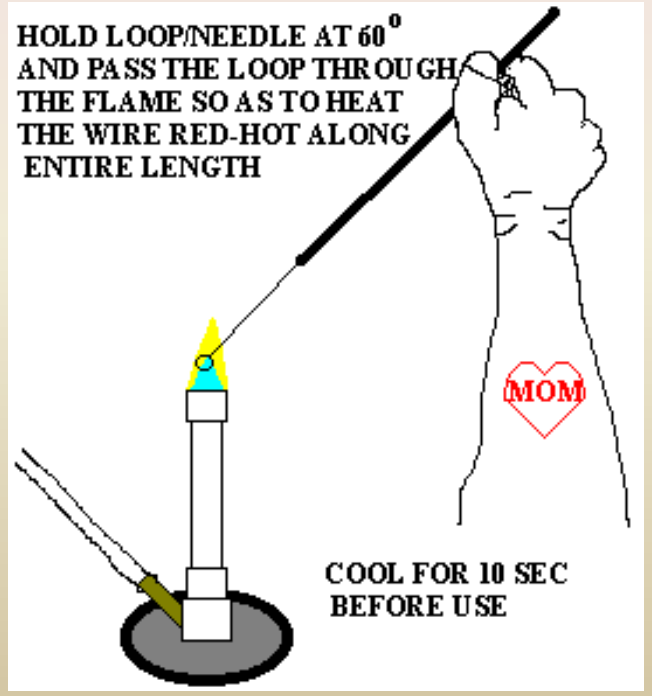
- 1.1.1.3 การต้ม (Boiling) เป็นการนำวัตถุที่จะฆ่าจุลินทรีย์ไปต้มในน้ำเดือด ซึ่งจะทำลายเฉพาะตัวจุลินทรีย์เท่านั้น ส่วนสปอร์จะถูกทำลายน้อยมาก
- 1.1.1.4 การฆ่าเชื้อแบบปาสเตอร์ (Pasteurization) เป็นการทำลายจุลินทรีย์บางชนิดที่ปะปนอยู่ในน้ำนม และผลิตภัณฑ์นมและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์บางชนิด โดยใช้อุณหภูมิ 62.8 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือที่อุณหภูมิ 72.7 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาทีและทำให้เย็นในทันที วิธีการนี้จะไม่ทำให้คุณภาพและรสชาติของอาหารและเครื่องดื่มเปลี่ยนแปลงไป

MILK PASTEURIZATION

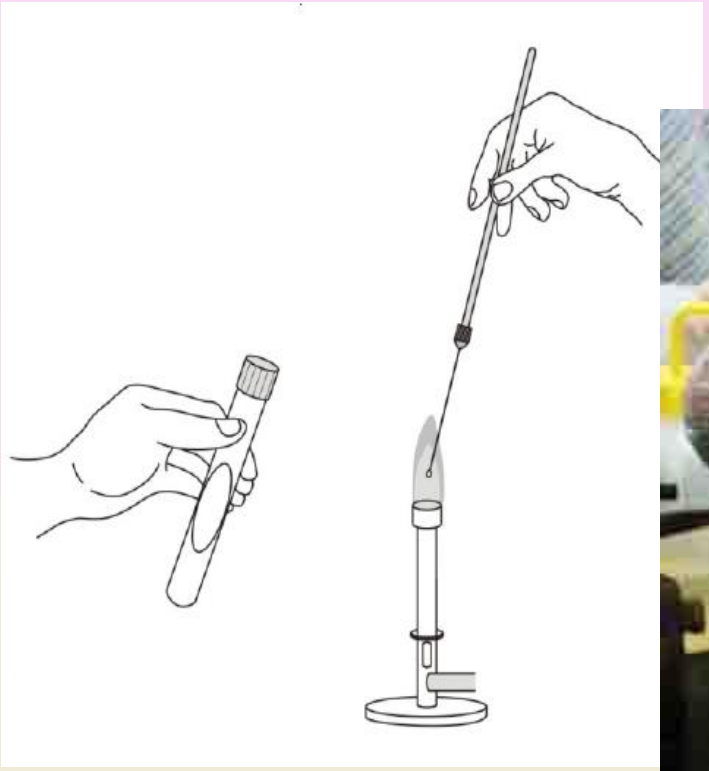


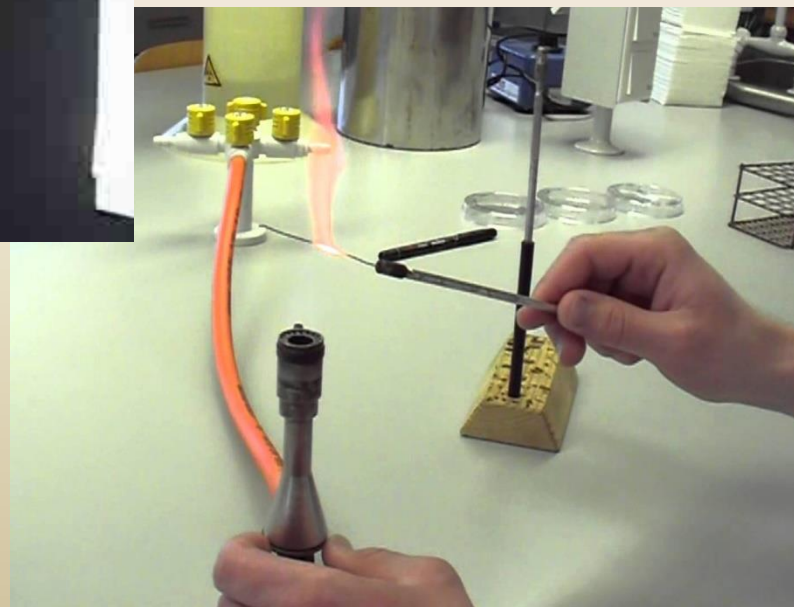
การผลิตน้ำนมโคพาสเจอร์ไรซ์

- การใช้ความร้อนแห้ง มี 2 วิธีการ ดังนี้
- 1.1.2.1 การเผา (Burning หรือ Incineration) เป็นการทำลายจุลินทรีย์ที่ติดมากับเครื่องมือขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ โดยการนำเครื่องมือมาเผาบนเปลวไฟโดยตรง เครื่องมือที่ใช้วิธีนี้ได้แก่ ห่วงถ่ายเชื้อ เข็มถ่ายเชื้อ นอกจากนี้การเผาทำลายโดยทั่วไปก็จัดอยู่ในวิธีการนี้ด้วย



การใช้ความร้อนแห้งทำการฆ่าเชื้อห่วงถ่ายเชื้อ (loop)



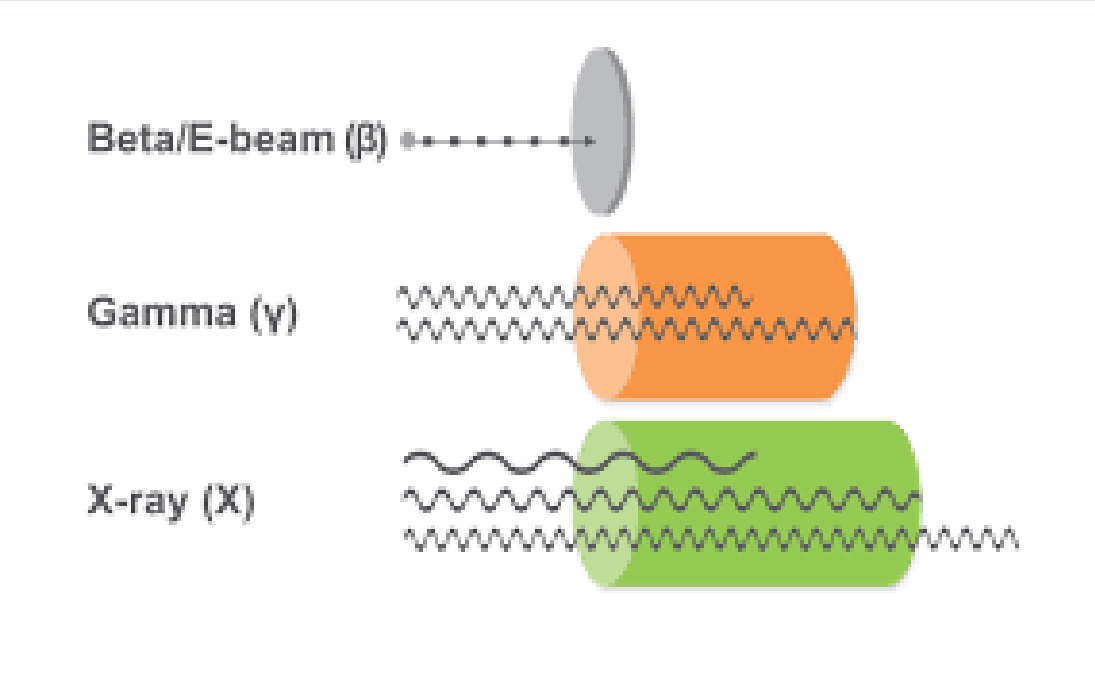


- การใช้เตาอบลมร้อน (Hot Air Oven) ซึ่งใช้อุณหภูมิประมาณ 160-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง จะสามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์และสปอร์ได้ทั้งหมด วิธีนี้มักใช้กับวัสดุที่ไม่เสื่อมสลายเมื่อสัมผัสกับความร้อนสูง ๆ โดยตรง เช่นเครื่องแก้ว กระบอกฉีดยาแก้วเป็นต้น

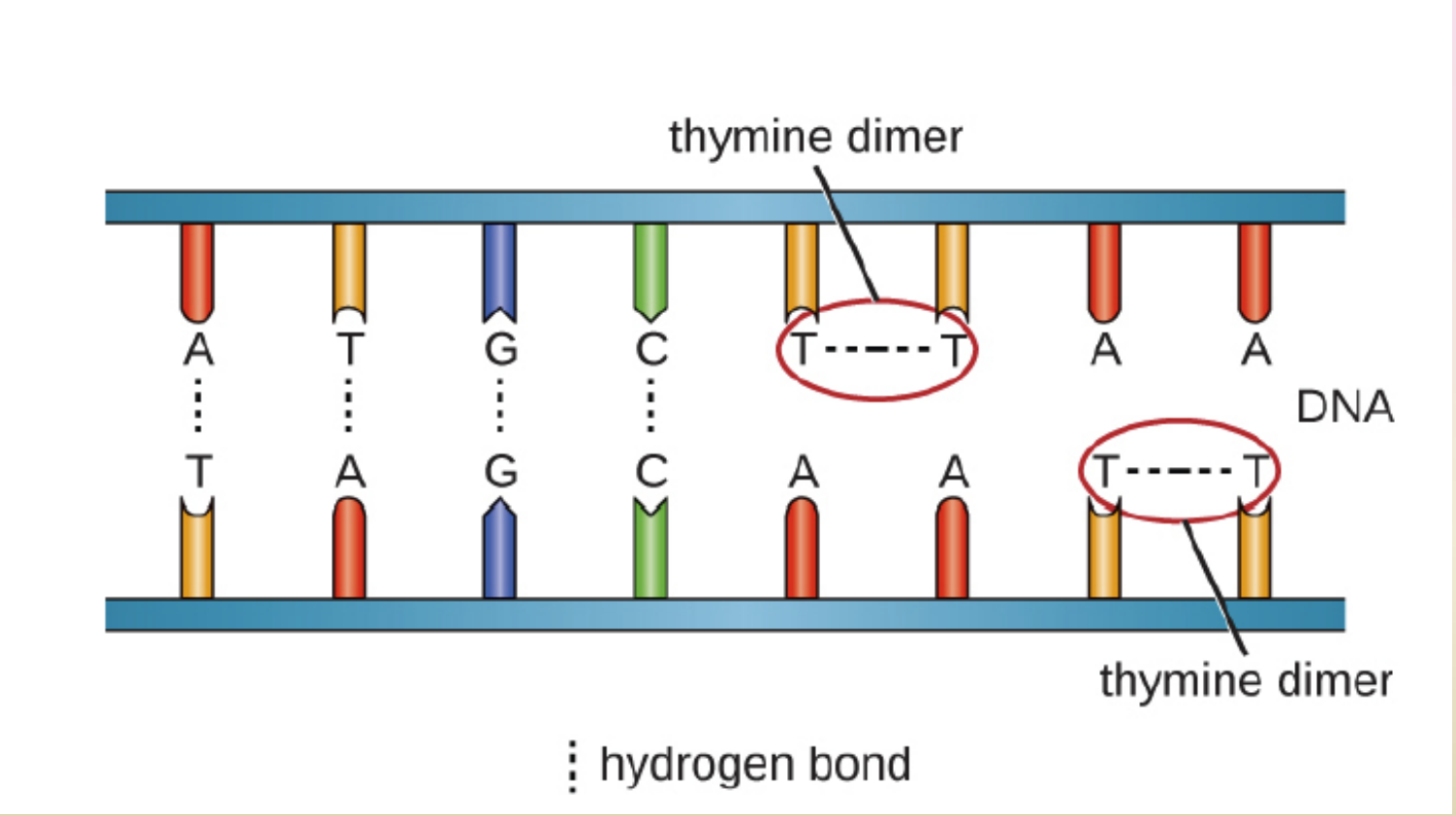
เตาอบลมร้อน (hot air oven)

- การใช้ความเย็น อุณหภูมิที่ต่ำภายในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็งที่ 0 องศาเซลเซียส หรือ -20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เนื่องจากเอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ ส่วนใหญ่มักใช้ในการถนอมอาหารบางชนิดเท่านั้น เช่น การแช่แข็งเนื้อสัตว์เป็นต้น

- การใช้รังสี ได้แก่รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีแกมมา จะทำให้กรดนิวคลีอิกและจุลินทรีย์แปลงสภาพไป มักใช้รังสีกับวัสดุที่ทำด้วยพลาสติกซึ่งไม่สามารถสัมผัสกับความร้อนได้โดยตรง นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์อาหารและผลิตผลทางการเกษตรบางชนิดจะมีการใช้รังสีเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย



ผลของการใช้รังสีที่ทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพไป

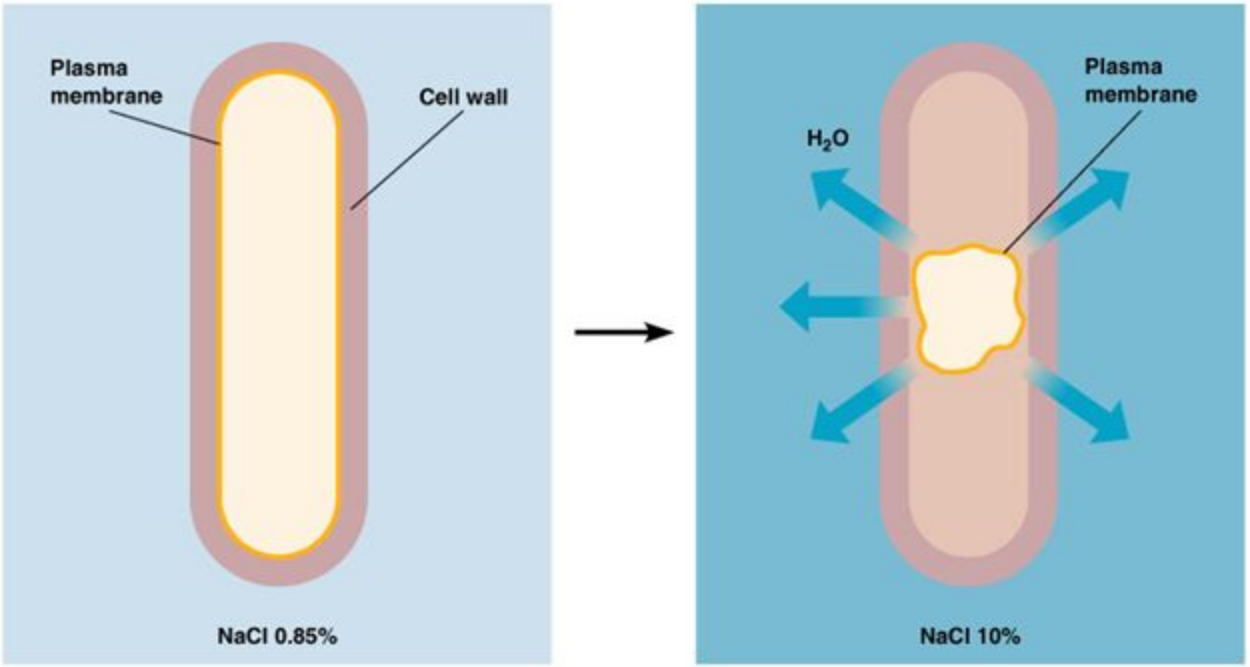


- การใช้ความแตกต่างของแรงดันออสโมซีส (Osmosis) วิธีนี้ใช้กับจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมที่เป็นสารละลาย โดยการใส่สารบางอย่างลงไปในสารละลายเช่น เกลือ น้ำตาล เพื่อทำให้เกิดความแตกต่างของแรงดันออสโมซิสระหว่างเซลล์ของจุลินทรีย์กับสารละลายที่จุลินทรีย์อยู่ โดยทั่วไปพบว่า น้ำเกลือที่เข้มข้นร้อยละ 10-15 หรือสารละลายของน้ำตาลเข้มข้นร้อยละ 50-70 จะสามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ได้ดี อย่างไรก็ตามวิธีนี้มักนิยมใช้ในการถนอมอาหารเท่านั้น

- การใช้แรงดัน (Pressure) ได้มีการศึกษาพบว่า ในสภาพความดันปกติของบรรยากาศ แบคทีเรียทั่วไปจะมีการเจริญและแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมงและพบว่าแรงดันมีผลต่อรูปร่าง การเคลื่อนที่ และการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรียด้วย เช่นถ้านำแบคทีเรียไปเลี้ยงในที่มีความดัน 9,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แบคทีเรียจะเจริญอยู่ได้แต่จะไม่มีการแบ่งเซลล์ หรือหากนำแบคทีเรียไปเลี้ยงในสภาพความดันสูง ๆ ที่ 88,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 14 ชั่วโมง จะสามารถฆ่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ได้และถ้าเพิ่มความดันเป็น 2 เท่า จะสามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้

- Osmotic Pressure
  - Hypertonic environments, (increased salt or sugar), cause plasmolysis
  - Cell wall protects bacteria from hypotonic environments
  - Extreme or obligate halophiles require high osmotic pressure
  - Facultative halophiles tolerate high osmotic pressure

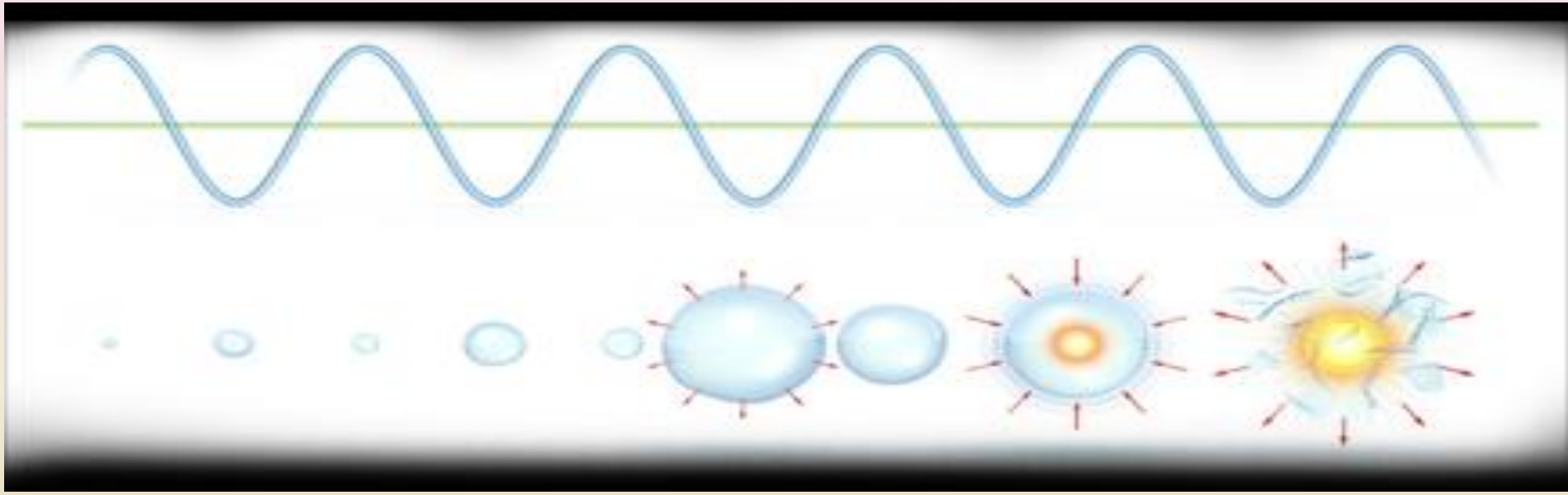
Normal bacterial cell is 80-90% water



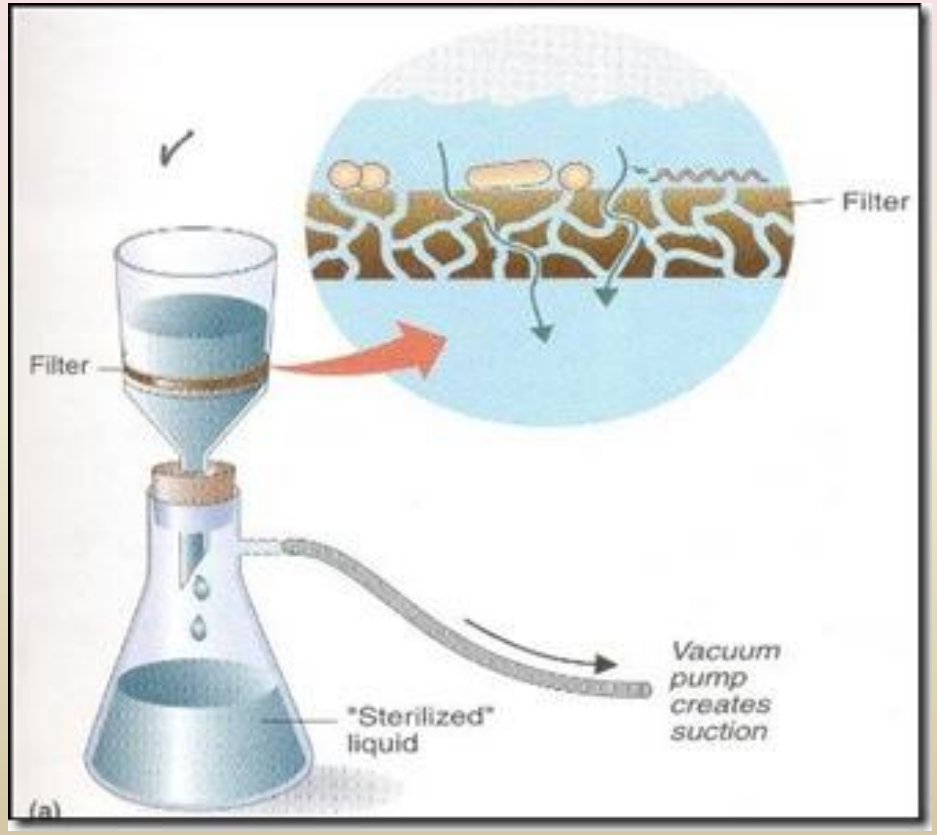
Plasmolysis in a hypertonic high salt solution

- การใช้คลื่นเสียง (Sonic Vibration) เสียงที่มีความถี่สูง ๆ ในช่วง 9,000 รอบต่อนาที ถึง 200,000 รอบต่อวินาที สามารถทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกได้ แต่แบคทีเรียแต่ละชนิดจะทนต่อคลื่นเสียงที่แตกต่างกันไป โดยทั่วไปความถี่ของเสียงที่หูมนุษย์สามารถรับได้ อยู่ในช่วง 31-32,000 รอบต่อนาที โดยความถี่ของเสียงในช่วง 9,000 รอบต่อนาทีถึง 200,000 รอบต่อวินาที เรียกว่า Supersonic wave สำหรับความถี่ของคลื่นเสียงที่มากกว่า 200,000 รอบต่อวินาทีเรียกว่าคลื่นเหนือเสียงหรือคลื่นอัลตราโซนิก

Ultrasonic wave



- การกรอง (filtration) การกรองเป็นเพียงการแยกจุลินทรีย์ออกจากของเหลวต่าง ๆ ที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนหรือระเหยง่ายเมื่อถูกความร้อนเช่น ซีรั่ม สารปฏิชีวนะ เป็นต้น โดยการใช้เครื่องกรองและเยื่อกรองที่ทำด้วยเซลลูโลส อะซีเตท (Cellulose Acetate) ซึ่งมีรูบนเยื่อกรองเล็กกว่าจุลินทรีย์ โดยขนาดของรูอยู่ระหว่าง0.023-14 ไมครอน และมักใช้กับการกรองแบคทีเรียเท่านั้น เพราะไวรัสและไมโครพลาสมาสามารถผ่านเยื่อกรองได้



- การทำให้ตกตะกอน (Sedimentation) เป็นวิธีการแยกจุลินทรีย์ออกจากของเหลวเช่นเดียวกับการกรอง โดยการนำของเหลวไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วต่าง ๆ กัน เช่นถ้าใช้ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที พวกยีสต์ รา และแบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่จะตกตะกอน แต่ถ้าใช้ความเร็วถึง 100,000 รอบต่อนาที พวกแบคทีเรียขนาดเล็ก ริกเกตเซีย รวมทั้งไวรัสจะตกตะกอน

เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

- การควบคุมโดยการใช้สารเคมี
- สารเคมีบางชนิดมีคุณสมบัติทำลายจุลินทรีย์ได้ โดยจะทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีโดยส่วนใหญ่แล้ว ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ถึงแม้จะใช้ความเข้มข้นตามมาตรฐานที่กำหนดก็ตาม โดยสารเคมีที่ควบคุมจุลินทรีย์แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

- สารระงับเชื้อ (Antiseptic) เป็นสารเคมีที่สามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของจุลินทรีย์ได้ เช่น เอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 ด่างทับทิม ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซิลเวอร์ไนเตรท เป็นต้น โดยมากแล้วสารระงับเชื้อเหล่านี้มักใช้ควบคุมจุลินทรีย์ตามผิวหนัง เนื้อเยื่อ เนื่องจากไม่เป็นพิษต่อร่างกาย
- สารทำลายเชื้อ (Disinfectant) เป็นสารเคมีที่ทำลายทั้งตัวจุลินทรีย์รวมทั้งสปอร์ สารเหล่านี้ได้แก่ ฟอร์มาลิน ฟีนอล ฟอร์มาลดีไอด์ เป็นต้น สารทำลายเชื้อนี้มักใช้กับสิ่งของเครื่องใช้ สิ่งขับถ่ายของผู้ป่วย เนื่องจากทำลายเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต

สรุปท้ายบท

- การควบคุมจุลินทรีย์ เป็นการป้องกัน ยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ ซึ่งปกติมักพบตามวัตถุสิ่งของต่าง ๆ อาจทำลายโดยสิ้นเชิงหรือบางส่วน การเลือกวิธีการใดในการทำลายจุลินทรีย์นั้นต้องพิจารณาความเหมาะสม และไม่ควรทำให้วัตถุหรือผลิตภัณฑ์นั้นเปลี่ยนสภาพไป การที่จุลินทรีย์ถูกทำลายหรือโดนยับยั้งด้วยวิธีการทาง กายภาพหรือการใช้สารเคมีวิธีใดก็ตาม เกิดเนื่องจากโครงสร้างภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกเปลี่ยนแปลงสภาพไป หรือกลไกการเกิดเมเทบอลิซึมถูกยับยั้งนั่นเอง

แบบฝึกหัดท้ายบท

- 1. การที่จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งหรือทำลายนั้นเนื่องจากสาเหตุใดบ้าง
- 2. จงบอกความแตกต่างของการทำไร้เชื้อลำดับส่วน (Tyndallization) กับการฆ่าเชื้อแบบปาสเตอร์
- (Pasteurization)
- 3. จงยกตัวอย่างวิธีการควบคุมโดยการใช้สารเคมี
- 4. เหตุใดนมพาสเจอร์ไรซ์จึงสามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้เพียง 7-10 วัน
- 5. อุณหภูมิและความดันที่ใช้ในหม้อนึ่งอัดไอคือเท่าใด
- 6. ความเร็วรอบของเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่เท่าใดทำให้แบคทีเรียขนาดเล็กรวมทั้งไวรัสตกตะกอนได้
- 7. การใช้ความถี่ของคลื่นเสียงที่ความเร็วรอบเท่าใด จึงจะทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกได้
- 8. จงอธิบายวิธีการฆ่าเชื้อแบบปาสเตอร์ (Pasteurization)
- 9.อุณหภูมิภายในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็งเท่าใด จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้
- 10. จงยกตัวอย่างสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มา 2 ชนิด

The end