การทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปลอดเชื้อโดยใช้เตาไมโครเวฟครัวเรือน

วีระศักดิ์ จงเฟื่องปริญญา[1] วัชรี จาดไร่ขิง[1] และ กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์[2*]
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

** Corresponding Author: kobchai.p@chula.ac.th*
[1] นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
[2] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

ข้อมูลบทความ

ประวัติบทความ :
รับเพื่อพิจารณา : 17 กุมภาพันธ์ 2564
แก้ไข : 30 สิงหาคม 2564
ตอบรับ : 3 กันยายน 2564
DOI : 10.14456/kmuttrd.2021.14

คำสำคัญ :
เตาไมโครเวฟ /
เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง /
การทำให้ปลอดเชื้อ / อาหารเลี้ยงเชื้อ

บทคัดย่อ

กระบวนการฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทั่วไปใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 2 ชั่วโมง จึงนับว่าเป็นกระบวนการที่สิ้นเปลืองทั้งเวลาและพลังงาน ดังนั้นจึงไม่เหมาะสำหรับเตรียมอาหารปริมาณน้อย เตาไมโครเวฟเป็นอุปกรณ์ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ฆ่าจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและใช้เวลาสั้น งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบการใช้เตาไมโครเวฟครัวเรือนขนาด 1,200 วัตต์ในการฆ่าเชื้อเพื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) และ Nutrient Agar (NA) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการเตรียม NB และ NA หากใช้กำลังไฟฟ้าสูงสุด ต้องใช้เวลาฉายรังสีไมโครเวฟต่อเนื่องเป็นเวลา 180 วินาทีหลังอาหารเลี้ยงเชื้อเดือดจึงสามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด เมื่อเพาะเลี้ยง *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ใน NB และ NA ที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดเจริญได้ไม่แตกต่างจากในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง ลักษณะทางกายภาพของเชื้อทั้งสองชนิดที่เพาะเลี้ยงใน NB เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์ไม่เปลี่ยนแปลง ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟไม่แตกต่างจากกรณีของแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง จากการคำนวณการใช้พลังงานไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ พบว่า การฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟใช้พลังงานไฟฟ้าน้อยกว่าและรวดเร็วกว่าการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง ดังนั้น จึงเหมาะสมที่จะใช้ไมโครเวฟในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณน้อย

Sterilization of Bacterial Culture Media Using Household Microwave Oven

Weerasak Chongfuengprinya[1] , Watcharee Jadraikhing[1] and Kobchai Pattaragulwanit[2*]
Chulalongkorn University, Phayathai Road, Pathumwan, Bangkok 10330

** Corresponding Author: kobchai.p@chula.ac.th*

[1] Scientist, Department of Microbiology, Faculty of Science.

[2] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science.

Article Info

Article History:
Received: January 19, 2021
Revised: August 14, 2021
Accepted: August 27, 2021
DOI : 10.14456/kmuttrd.2021.14

Keywords:
Microwave / Autoclave / Sterilization / Culture Media

Abstract

Sterilization of culture media generally involves the use of an autoclave operating at 121°C at a pressure of 15 lb/in.2 for 20 min. Such a process takes about 2 hours, implying that it is a time- and energy-consuming process and therefore not suitable for preparation of a small amount of media. Microwave oven has been reported as an equipment capable of efficiently destroying microorganisms within very short time. Therefore, this research aimed to use a 1200-W household microwave for sterilization of Nutrient Broth (NB) and Nutrient Agar (NA). Microwave irradiation at 1200 W for 180 seconds after the media had boiled could well sterilize the culture media. Growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in the microwaved media was noted to be the same as in the autoclaved media. Morphology of the cells cultured in microwaved media remained unchanged. Sugar utilization patterns of both the cells cultured in microwaved as well as those in the autoclaved media were similar. Power consumption and time consuming for media sterilization by microwave were less than those by autoclaving. Therefore, utilization of microwave is suitable for sterilization a small volume of culture media.

1. บทนำ

ไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีความยาวคลื่นขนาด 0.001 ถึง 1 เมตร มีความถี่ระหว่าง 300 เมกกะเฮิรตซ์ถึง 300 กิกะเฮิรตซ์ [1-2] และสามารถเปลี่ยนไปเป็นความร้อนโดยการสั่นสะเทือนของอนุภาคที่มีประจุหรือการหมุนตัวของโมเลกุลที่มีขั้ว ทำให้เกิดการชนกันกับโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงหลังจากที่วัตถุได้รับคลื่นและมีการดูดซับพลังงานดังกล่าวทำให้เกิดความร้อนขึ้น [3] องค์กร International Telecommunication Union (ITU) ได้กำหนดความถี่ของคลื่นไมโครเวฟสำหรับการให้พลังงานในอุตสาหกรรมและการใช้ในบ้านเรือนที่ความถี่ 915±25 เมกกะเฮิรตซ์ และ 2,450 ±50 เมกกะเฮิรตซ์ตามลำดับ [1-2] ในปัจจุบันไมโครเวฟได้ถูกใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น การลวกการทำให้สุก การทำให้แห้ง การพาสเจอไรส์การสเตอริไลส์ การละลายน้ำแข็ง การควบคุมจุลินทรีย์เป็นต้น [4] มีการศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำนมวัวด้วยกระบวนการพาสเจอไรเซชันด้วยไมโครเวฟโดยที่องค์ประกอบทางเคมีเช่น ไขมันแลคโตส และโปรตีนไม่เสียสภาพเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ความร้อนด้วยวิธีอื่น [2] ในทางเกษตรกรรม ไมโครเวฟถูกใช้ในกระบวนการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรโดยการควบคุมประชากรจุลินทรีย์ [1] เช่น การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟร่วมกับเทคโนโลยีการอบแห้งแบบอื่นเพื่อควบคุมความชื้นในพืชที่มีความชื้นสูงหลังเก็บเกี่ยว เช่น ถั่ว ข้าว และข้าวโพด [1] ไมโครเวฟมีผลในการทำลายจุลินทรีย์เช่นกัน [5] กลไกของไมโครเวฟที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มีสองลักษณะคือ ผลที่เกิดจากความร้อน การเคลื่อนที่ของโมเลกุลเช่นน้ำก่อให้เกิดความร้อนซึ่งทำให้จุลินทรีย์ตายได้ [6] และผลที่ไม่เกี่ยวกับความร้อนเช่นการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่มีขั้ว ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้สูญเสียการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพและเกิดเมแทบอลิซึมผิดปกติทำให้เซลล์ตาย [7-8] Kim และคณะ [9] ศึกษาการทำลาย *Bacillus subtilis* โดยใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟ 500 วัตต์และ 2,000 วัตต์เทียบกับการต้มเดือดพบว่าการใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 2,000 วัตต์ให้ผลในการฆ่าแบคทีเรียมากที่สุดและพบว่าโครงสร้างดีเอ็นเอถูกทำลายเมื่อใช้ไมโครเวฟในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างเซลล์จากการต้มเดือด Cockrell และคณะ [10] พบว่าไมโครเวฟเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียทนร้อน *Thermus scatoductus* SA-01 มีการทดลองนำฟองน้ำล้างจานและพลาสติกแผ่นขัดปนเปื้อนเชื้อโรคไปฉายรังสีไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือนด้วยกำลังไฟสูงสุด พบว่าสามารถฆ่าแบคทีเรียร้อยละ 99 ในเวลานาน 2 นาที โดย *E. coli* จะตายหลังจากฉายรังสีนาน 30 วินาที ส่วนสปอร์ของ *Bacillus cereus* ซึ่งทนความร้อน สารเคมี และรังสีจะตายหลังจากฉายรังสีนาน 4 นาที [2] ในทางการแพทย์ได้มีงานวิจัยการใช้ไมโครเวฟขนาด 650 วัตต์ ในการทำลายแบคทีเรีย *Pseudomanas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans,* และ *Bacillus subtilis* ในวัสดุเรซินสำหรับใช้ในงานทันตกรรม [1] และใช้ไมโครเวฟเพื่อทำลายจุลินทรีย์ในของเสียทางการแพทย์ที่แห้งโดยไมโครเวฟขนาด 385, 450 และ 700 วัตต์ที่เวลา 1, 5 และ 10 นาทีตามลำดับ และมีรายงานว่าสามารถใช้ไมโครเวฟครัวเรือนขนาด 800 วัตต์ในการทำลายเอนโดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ที่จำนวน 107 สปอร์ต่อมิลลิลิตรปริมาตร 300 มิลลิลิตรในเวลา 300 วินาที [1]

ในปัจจุบันนี้การทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อปลอดเชื้อจะใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที ซึ่งกระบวนการนี้คือการใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง (autoclave) กระบวนการดังกล่าวสามารถทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดรวมถึงสปอร์ อย่างไรก็ตาม การใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานอย่างน้อย 2 ชั่วโมง การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในปริมาณน้อยและฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงจึงไม่คุ้มค่า เสียเวลาในการดำเนินงานนาน และสิ้นเปลืองพลังงานอย่างมาก

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะทดสอบการทำลายจุลินทรีย์โดยการฉายรังสีด้วยเตาไมโครเวฟครัวเรือนในกระบวนการการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวและอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง จากนั้นจะทดสอบการเจริญของแบคทีเรียในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ ศึกษาลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และทดสอบความสามารถของเชื้อในการใช้อาหารที่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เทียบกับเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง และคำนวณเปรียบเทียบการใช้พลังงานไฟฟ้าเมื่อใช้เตาไมโครเวฟเพื่อฆ่าเชื้อเทียบกับการใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

2. วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพเตาไมโครเวฟครัวเรือนในการทำให้ปลอดเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

3. วิธีดำเนินการวิจัย

1. แบคทีเรียและการเพาะเลี้ยง

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ *Escherichia coli* สายพันธุ์ MSCU0349 และ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ MSCU0353 จากคลังจุลินทรีย์ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดบน Nutrient Agar (NA) (beef extract 3 กรัม peptone 5 กรัม วุ้นผง 15 กรัมในน้ำ 1 ลิตร) บนจานเพาะเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยการดูจากลักษณะโคโลนี เก็บรักษาสายพันธุ์โดยเขี่ยโคโลนีเดี่ยวถ่ายลงอาหาร NA slant บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เตรียมเชื้อสำหรับใช้งานโดยเขี่ยเชื้อจาก Nutrient Agar Slant ลงบนจาน Nutrient Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

2. การหาจำนวนเชื้อด้วยวิธี viable plate count

เก็บตัวอย่างเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำเกลือ 0.85% (w/v) ปริมาตร 9 มิลลิลิตรถือเป็นการเจือจาง 10 เท่า เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าหลอดทดลอง เจือจางครั้งละ 10 เท่าให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นกระจายเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมานับจำนวนโคโลนี และถือว่า 1 โคโลนีมาจากเซลล์แบคทีเรีย 1 เซลล์ เลือกนับจำนวนเชื้อจากแต่ละการเจือจางที่มีจำนวนเชื้อที่เจริญอยู่บนจานระหว่าง 30-300 โคโลนี

3. การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อโดยไมโครเวฟ

3.1 หาตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) ภายในเตาไมโครเวฟ ในงานวิจัยนี้ใช้เตาไมโครเวฟยี่ห้อ Sharp รุ่น R-390I ทดสอบหาตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) ตามวิธีของ Kharkovsky และ Hasar [11] โดยวางกระดาษความร้อน (thermal paper) ไว้ที่พื้นของช่องอบโดยไม่ใส่จานหมุนแล้วฉายรังสีไมโครเวฟ 1,200 วัตต์ เป็นเวลา 1 นาที หรือจนกว่ากระดาษความร้อนเปลี่ยนสี

3.2 การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ด้วยเตาไมโครเวฟ

3.2.1 การสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของน้ำและเวลาที่ใช้ในการทำให้น้ำเดือด

ใช้น้ำกลั่นบรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 50 มิลลิลิตรหรือในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 300 มิลลิลิตร วางขวดน้ำกลั่นปริมาตรต่างๆบนจานหมุนในตำแหน่งที่ผ่านจุดร้อน ฉายรังสีไมโครเวฟด้วยกำลังไฟสูงสุด 1,200 วัตต์ จับเวลาจนกระทั่งน้ำเดือดโดยสมบูรณ์ทุกขวด สร้างกราฟมาตรฐานปริมาตรของน้ำ (แกน X) และเวลาที่ใช้เพื่อทำให้น้ำเดือด (แกน Y) สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของน้ำและระยะเวลาที่ใช้เพื่อทำให้น้ำเดือด

3.2.2 การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ด้วยเตาไมโครเวฟ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) (beef extract 3 กรัม peptone 5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร) บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 50 มิลลิลิตร ชั่งน้ำหนักแต่ละขวดก่อนการทดลอง วางขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อรูปชมพู่บนจานหมุนในตำแหน่งที่ผ่านจุดร้อนที่หาได้จากการทดลองข้อ 3.1 ฉายรังสีไมโครเวฟด้วยกำลังไฟสูงสุด 1,200 วัตต์โดยกำหนดระยะเวลาที่ฉายรังสีไมโครเวฟกับอาหารเลี้ยงเชื้อจากระยะเวลาที่ทำให้น้ำจากอุณหภูมิห้องเดือด (ตามข้อ 3.2.1) เป็นเวลาเริ่มต้นและฉายรังสีไมโครเวฟเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อเดือดต่อเนื่องไปอีกเป็นเวลา 0 60 120 และ 180 วินาทีตามลำดับ รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักหลังการทดสอบและปรับให้มีน้ำหนักเท่ากับเริ่มต้นด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ทำการทดลองสามซ้ำ นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฉายรังสีไมโครเวฟด้วยเตาไมโครเวฟดังกล่าวข้างต้นไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ หากพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นแสดงว่ายังไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้หมด

3.3 การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar ด้วยเตาไมโครเวฟ

เตรียม Nutrient Agar (NA) จำนวน 300 มิลลิลิตร ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้ NB ตามการทดลองที่ 3.2 เติม 1.5% วุ้น (Bacto agar, Merck) ละลายวุ้นโดยฉายรังสีไมโครเวฟอาหารเลี้ยงเชื้อจนเดือด จากนั้นนำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อออกมาเขย่าเพื่อให้วุ้นละลายและฉายรังสีไมโครเวฟเป็นเวลา 60 วินาที ทำซ้ำอีก 3 ครั้งจนวุ้นละลายทั้งหมด แล้ว

จึงฉายรังสีไมโครเวฟเพื่อฆ่าเชื้อเป็นเวลา 180 วินาที จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

เตรียม NB ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 50 มิลลิลิตรหรือ NA ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปริมาตรขวดละ 300 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง ยี่ห้อ Tomy รุ่น E-315 ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

5. การเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย

5.1 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NB

ก. การเจริญของแบคทีเรีย

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ในขวดแก้วรูปชมพู่ปริมาตรขวดละ 50 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อโดยวิธีไมโครเวฟด้วยสภาวะที่หาได้จากข้อ 3.3 หรือฆ่าเชื้อโดยวิธีเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงตามวิธีข้อ 4 เขี่ยเชื้อ *E. coli* หรือ *S. aureus* 3 โคโลนีลงใน NB ที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟหรือฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงชนิดละ 2 ขวดนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เขย่า 200 รอบต่อนาทีและเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หาจำนวนเชื้อด้วยวิธี viable plate count ตามวิธีในข้อ 2 เปรียบเทียบกราฟการเจริญ (growth curve) ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่เจริญใน NB ที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีไมโครเวฟหรือวิธีเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

ข. ทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย

เก็บตัวอย่าง *E. coli* หรือ *S. aureus* ตามข้อ ก ที่เวลา18 ชั่วโมง ย้อมสีแกรมเพื่อเปรียบเทียบรูปร่างของแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus รุ่น CX33) กำลังขยายภาพ 1000 เท่า

ค. ทดสอบความสามารถในการย่อยน้ำตาลของ *E. coli* และ *S. aureus*

เก็บตัวอย่าง *E. coli* หรือ *S. aureus* ตามข้อ ก ที่เวลา 24 ชั่วโมงถ่ายเชื้อลงในอาหาร Fermentation broth ที่เติม 1% กลูโคส แลคโตส แมนนิทอลหรือซูโครส นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยน้ำตาลของแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีไมโครเวฟหรือวิธีเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

5.2 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เก็บตัวอย่าง *E. coli* หรือ *S. aureus* ตามข้อ 5.1ก ที่เวลา 18 ชั่วโมง หาจำนวนเชื้อด้วยวิธี viable plate count ตามข้อ 2 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีไมโครเวฟหรือวิธีเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง หาจำนวนเชื้อทั้งสองชนิดระหว่างอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีทั้งสองแบบตามสูตรหาค่า Productivity (PR) โดยค่าที่รับได้ต้องไม่น้อยกว่า 0.7 ตามสมการ

$$P_R = N_s/N_0$$

เมื่อ N_s คือจำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟ

N_0 คือจำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

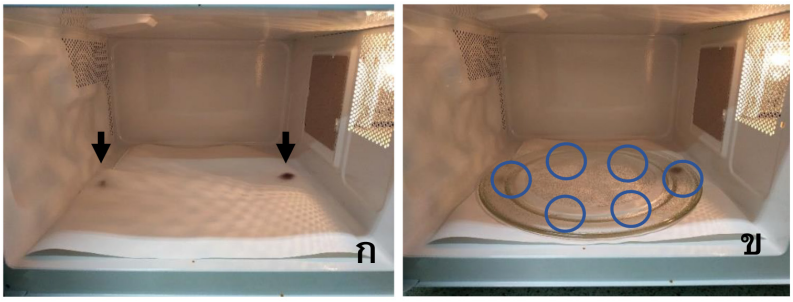
6. เปรียบเทียบพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยเตาไมโครเวฟและเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีฆ่าเชื้อด้วยวิธีไมโครเวฟตามวิธีในข้อ 3.3 หรือฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงตามวิธีในข้อ 3.4 ในการวัดพลังงานไฟฟ้าโดยใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงในการฆ่าเชื้อ เติมน้ำกรอง 4 ลิตรเพื่อใช้ต้มให้เกิดไอน้ำในเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง อุณหภูมิเริ่มต้นของน้ำที่ใช้ต้มคือ34 องศาเซลเซียส และหยุดวัดพลังงานไฟฟ้าเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 80 องศาเซลเซียสโดยใช้เครื่องวัดพลังงานไฟฟ้าแบบเสียบปลั๊ก (Multifunctional Mini Ammeter) รุ่น WF-D02A เปรียบเทียบพลังงานไฟฟ้าที่ใช้เมื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตรต่าง ๆ

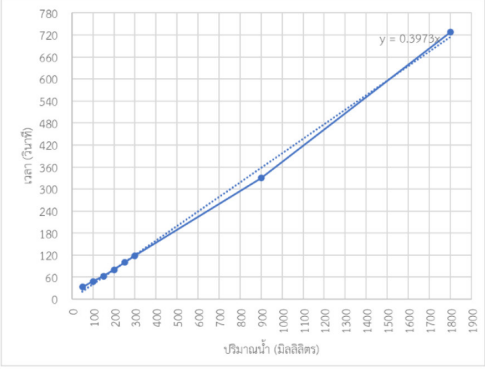
4. ผลการทดลอง

1. หาตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) ภายในเตาไมโครเวฟ

จากการทดสอบหาตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) โดยวางกระดาษความร้อนโดยไม่ใส่จานหมุนและฉายรังสีไมโครเวฟจนกระดาษความร้อนเปลี่ยนสี จากนั้นนำจานหมุนวางทับลงบนกระดาษความร้อน พบว่าจุดร้อนในเตาไมโครเวฟที่ใช้ในการทดสอบอยู่บริเวณขอบของจานหมุน (รูปที่ 1ก) จึงกำหนดจุดสำหรับวางภาชนะสำหรับใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ NB และ NA ที่บริเวณขอบจานหมุนเพื่อให้ได้รับพลังงานสูงที่สุด (รูปที่ 1ข)



รูปที่ 1 (ก) ตำแหน่งเกิดจุดร้อน (hot spots) (ลูกศร) และ (ข) ตำแหน่งวางขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ (วงกลม) ในเตาไมโครเวฟ



รูปที่ 2 ระยะเวลาที่ใช้เตาไมโครเวฟฉายรังสีน้ำปริมาตรต่าง ๆ จากอุณหภูมิห้องจนเดือด

2. การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NB ด้วยเตาไมโครเวฟ

2.1 การสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรน้ำและเวลาที่ใช้ในการทำให้น้ำเดือด

เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อแปรผันตรงกับปริมาตรของสิ่งของที่ต้องการให้ความร้อน [12] ดังนั้นจึงต้องหาเวลาที่ใช้ในการฉายรังสีไมโครเวฟเพื่อให้น้ำปริมาตรต่างๆถึงจุดเดือด จากการทดสอบพบว่าระยะเวลาการฉายรังสีไมโครเวฟที่กำลังสูงที่สุด 1,200 วัตต์ ทำให้น้ำจากอุณหภูมิห้องถึงจุดเดือดจะมากขึ้นตามปริมาตร เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเขียนเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ใช้กับปริมาตรน้ำพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงตามสมการที่ 1 (รูปที่ 2) ซึ่งสามารถใช้ทำนายระยะเวลาที่ใช้สำหรับฉายรังสีไมโครเวฟอาหารเลี้ยงเชื้อจนอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มเดือดได้ในการทดลองถัดไปได้

$$y = 0.3973x \quad \text{.....1}$$

เมื่อ y = ระยะเวลา (วินาที) ที่ใช้เพื่อทำให้น้ำเดือด

x = ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)

ในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NB จะใช้เวลาฉายรังสีไมโครเวฟจนเดือดต่อไปจากอาหารเลี้ยงเชื้อเดือดอีก 60, 120, 180 วินาที จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ไมโครเวฟฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาตรต่ำกว่า 200 มิลลิลิตรจะเกิดการเดือดรุนแรงจนพุ่งออกจากภาชนะบรรจุ จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้การฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปริมาตรน้อยกว่า 200 มิลลิลิตร การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาตร 200 ถึง 300 มิลลิลิตร สามารถทำได้โดยฉายรังสีไมโครเวฟต่อไปอีก 180 วินาทีหลัง

จากอาหารเดือดพบว่าสามารถฆ่าเชื้อหมด 100% (ตารางที่ 1) จากการสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเหลืองอ่อนและไม่แตกต่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีออโคเคลฟ อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบน้ำหนักของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนและหลังฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟพบว่า หลังจากฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ 180 วินาทีหลังเดือดจะทำให้สูญเสียน้ำไป 9.27±2.11 กรัม แต่สามารถเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ตามน้ำหนักตั้งต้น

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth หลังจากผ่านการฉายรังสีไมโครเวฟที่เวลาต่าง ๆ

ปริมาตรอาหารรวม	เปอร์เซ็นต์อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย			
	เดือด 0 วินาที	เดือด 60 วินาที	เดือด 120 วินาที	เดือด 180 วินาที
200 มิลลิลิตร	0	93	94.44	100
250 มิลลิลิตร	0	94.44	94.44	100
300 มิลลิลิตร	0	94.44	94.44	100

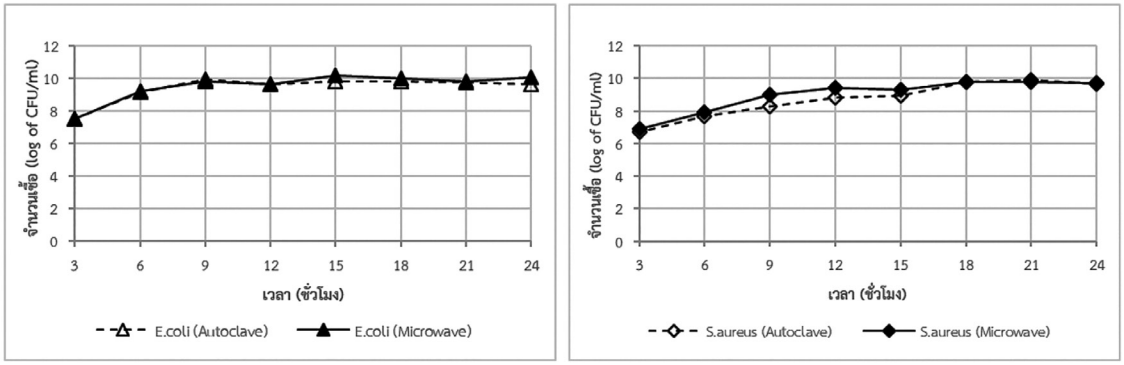
3. การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NA ด้วยเตาไมโครเวฟ

ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ปริมาตร 300 มิลลิลิตรตามวิธีในข้อ 3.3 เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเดือดและวุ้นละลายหมดฉายรังสีต่อไป 180 วินาที พบว่าไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงว่าสามารถใช้ไมโครเวฟฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างสมบูรณ์

4. ทดสอบคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟ

4.1 คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ NB

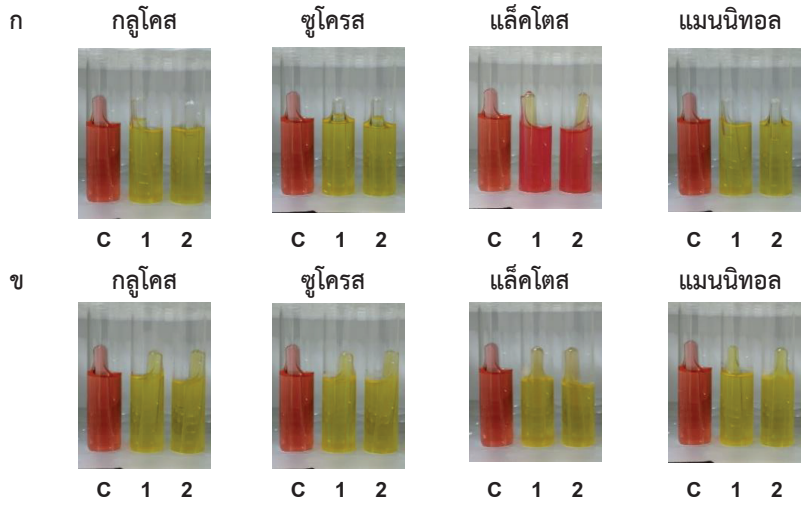
จากการเพาะเลี้ยง *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียตัวแทนแกรมลบและแกรมบวกตามลำดับ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ และเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง แสดงให้เห็นว่า *E. coli* และ *S. aureus* สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอัตราที่เท่าเทียมกันดังแสดงในรูปที่ 3ก และ ข *E. coli* และ *S. aureus* สามารถเพิ่มจำนวนได้สูงสุดในอาหาร NB ที่ฆ่าเชื้อด้วยเตาไมโครเวฟได้ 9.73±0.53 และ 10.03±0.40 log CFU/มิลลิลิตรตามลำดับ ในขณะที่จำนวนของ *E. coli* และ *S. aureus* ที่เจริญบน NB ที่ฆ่าเชื้อโดยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง คือ 9.71±0.60 และ 9.96±0.48 log CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อคำนวณ productivity (P_R) ตามสมการที่ 1 ได้ 1.05±0.22 และ 1.22±0.41 ตามลำดับ



(ก) (ข)

รูปที่ 3 กราฟแสดงการเพิ่มจำนวนเซลล์ของ *E. coli* (ก) และ *S. aureus* (ข) ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Nutrient Broth ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง (-Δ-) และฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ (-▲-)

เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการย้อมสีแกรมและตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง แบคทีเรียทั้งสองชนิดให้ผลการติดสีแกรมอย่างถูกต้องกล่าวคือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ติดสีแดง มีรูปร่างท่อนสั้น และ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ติดสีม่วง มีรูปร่างกลมอยู่ติดกันเป็นพวงองุ่น (ไม่แสดงผล) เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของหัวเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟหรือเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงในการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารทั้งสองชนิดให้ผลการใช้น้ำตาลที่เหมือนกันดังแสดงในรูปที่ 4ก และ ข



รูปที่ 4 ความสามารถในการใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนของ (ก) E. coli และ (ข) S. aureus ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟ (1) ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง (2) และชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ) (C)

4.2 คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ NA

คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟ จะประเมินได้จากความสามารถในการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* บนอาหาร NA ที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟเทียบกับเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง พบว่าสามารถนับจำนวน *E. coli* และ *S. aureus* ที่เจริญบนอาหาร NA ที่ฆ่าเชื้อด้วยเตาไมโครเวฟได้ 8.22±0.04 และ 8.64±0.12 log CFU/มิลลิลิตรตามลำดับ ในขณะที่จำนวน E. coli และ S. aureus ที่เจริญบน NA ที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงได้ 8.28±0.04 และ 8.80±0.06 log CFU/มิลลิลิตรตามลำดับ เมื่อคำนวณ productivity (PR) ตามสมการที่ 1 ได้ 0.86±0.05 และ 0.7±0.11 ตามลำดับ

5. เปรียบเทียบพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยเตาไมโครเวฟและเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

ตารางที่ 2 ถึงตารางที่ 4 แสดงเวลาและปริมาณการใช้ไฟฟ้าเมื่อใช้เตาไมโครเวฟหรือเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงเพื่อฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NB หรือ NA ที่ปริมาตรต่าง ๆ คำนวนค่าไฟฟ้าโดยคำนวณจากค่าไฟเฉลี่ยต่อหน่วยปีงบประมาณ 2561 ของภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ 5.5 บาทต่อหน่วย ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าวิธีไมโครเวฟเป็นวิธีที่คุ้มค่ากว่าการใช้ออโคเคลฟ สามารถประหยัดพลังงานและค่าใช้จ่าย รวมทั้งประหยัดเวลาในกระบวนการได้อย่างมาก

5. อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ไมโครเวฟเป็นเครื่องใช้ไฟฟ้าในครัวเรือนและอุตสาหกรรมที่สามารถให้ความร้อนแก่วัตถุได้อย่างรวดเร็ว คลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดผลทางชีวภาพได้สองลักษณะคือผลที่เกี่ยวข้องกับความร้อน [6] และผลที่ไม่เกี่ยวข้องกับความร้อน [7, 13] ซึ่งผลทั้งสองลักษณะมีส่วนในการทำลายจุลินทรีย์ จึงมีผู้ประยุกต์ใช้ไมโครเวฟเพื่อทำให้ปลอดเชื้อในกิจกรรมต่างๆ เช่นด้านการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร สิ่งแวดล้อมและเกษตรกรรมเป็นต้น [1, 2, 4] เนื่องจากการทำลายจุลินทรีย์ด้วยไมโครเวฟมีประสิทธิภาพดีกว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการปกติ เช่นการต้มเดือด เนื่องจากใช้เวลาน้อยกว่าและยังคงคุณภาพของอาหารและคุณค่าทางโภชนาการเอาไว้ได้ [14] อย่างไรก็ตาม เนื่องจากไมโครเวฟมีการให้ความร้อนที่ไม่เท่ากันในช่องอบ [15] ดังนั้นก่อนการใช้ไมโครเวฟจึงจำเป็นต้องหาจุดร้อนเพื่อหาบริเวณที่ควรตั้งอาหาร

ตารางที่ 2 แสดงเวลาและพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NB และ NA ด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง

ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (มล.)	เวลาที่ใช้ (นาที)	พลังงานที่ใช้ต่อรอบ (กิโลวัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่อรอบ (บาท)	พลังงานที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (วัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (บาท)
600	92	1.2169	6.6930	2.0282	0.0112
1,200	102	1.3988	7.6934	1.1657	0.0064
1,800	115	1.5963	8.7797	0.8868	0.0049
4,200	118	1.6983	9.3407	0.4044	0.0022

ตารางที่ 3 แสดงเวลาและพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NB ด้วยเตาไมโครเวฟ

ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (มล.)	เวลาที่ใช้ (นาที)	พลังงานที่ใช้ต่อรอบ (กิโลวัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่อรอบ (บาท)	พลังงานที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (วัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (บาท)
200	4.3	0.1080	0.5940	0.5400	0.0030
250	4.45	0.1140	0.6270	0.4560	0.0025
300	5	0.1292	0.7103	0.4305	0.0024

ตารางที่ 4 แสดงเวลาและพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ NA ด้วยเตาไมโครเวฟ

ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (มล.)	เวลาที่ใช้ (นาที)	พลังงานที่ใช้ต่อรอบ (กิโลวัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่อรอบ (บาท)	พลังงานที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (วัตต์)	ค่าไฟฟ้าที่ใช้ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร (บาท)
600	10	0.2458	1.3516	0.4096	0.0023
900	12	0.2928	1.6101	0.3253	0.0018
1,200	14	0.3349	1.8417	0.2790	0.0015
1,500	16	0.3745	2.0595	0.2496	0.0014
1,800	18	0.4152	2.2833	0.2306	0.0013

เลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้รับพลังงานไมโครเวฟสูงที่สุด จากการทดสอบพบว่าจุดร้อนจะอยู่บริเวณขอบจานหมุนซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Vollmer [16] ที่พบจุดร้อนของไมโครเวฟเกิดขึ้นหลายจุดทั่วทั้งเตา แต่มีลักษณะคล้ายกับ Kharkovsky และ Hasar [11] ที่พบจุดร้อนจุดเดียว ดังนั้น ในการวิจัยจึงตั้งอาหารเลี้ยงเชื้อไว้บริเวณขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อและใส่จานหมุนเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อได้รับความร้อนทั่วถึงกัน

การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้ออาหารเหลว Nutrient Broth ด้วยไมโครเวฟ พบว่าไมโครเวฟที่ 1,200 วัตต์ไม่เหมาะสมที่จะใช้กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาตรน้อยกว่า 200 มิลลิลิตร เนื่องจากจะเกิดการเดือดรุนแรงและล้นขวดใส่อาหารจากการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้ออาหารเหลวปริมาตร 50 มิลลิตรจำนวน 6 ขวดพบว่าต้องใช้เวลารวมทั้งสิ้น300 วินาที(รวมเวลาตั้งแต่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเดือดและเวลาหลังอาหารเลี้ยงเชื้อเดือดอีก 180 วินาที) จึงจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อปลอดเชื้อได้ แม้ว่าการใช้ไมโครเวฟที่กำลังไฟน้อยกว่าจะสามารถลดจำนวนแบคทีเรียชีวิตได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว [17] แต่ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อปลอดเชื้อทั้งหมดจึงจำเป็นต้องใช้เวลานานขึ้นเพื่อทำลายทั้งเซลล์และสปอร์ของแบคทีเรียและรา เวลาที่ใช้ในการทำให้ปลอดเชื้อในงานวิจัยนี้ใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานก่อนหน้าของ Cao และคณะ [18] ที่ใช้ไมโครเวฟ 1,800 วัตต์เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อทำลายเซลล์ของ *Bacillus cereus* จำนวน 107 CFU/มิลลิลิตรปริมาตร 150 มิลลิลิตรและ Lueng-On [19] ที่ใช้ไมโครเวฟ 800 วัตต์ทำลายเอนโดสปอร์ของ *B. subtilis* จำนวน 107 CFU/มิลลิลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตรได้ทั้งหมด 300 วินาที เนื่องจากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟเมื่อใช้เวลานานอาจทำให้แบคทีเรียเจริญได้ไม่ดี [20] ดังนั้น หลังจากการใช้ไมโครเวฟเพื่อฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อจึงได้ทดสอบการเจริญของแบคทีเรียและความสามารถของแบคทีเรียในการใช้น้ำตาล โดยเลือกใช้แบคทีเรียสองชนิด คือ *E. coli* เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมลบ และ *S. aureus* เป็นตัวแทนแบคทีเรียแกรมบวก ผลแสดงให้เห็นว่า เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียทั้งสองชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟเชื้อจะเจริญได้ดีเท่ากับการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง เมื่อพิจารณาทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่าพบว่า เชื้อที่เลี้ยงในอาหารทั้งสองชนิดมีลักษณะที่เหมือนกัน และเชื้อทั้งสองชนิดให้ผลในการใช้น้ำตาลที่ไม่แตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟสามารถใช้ได้เช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง ถึงแม้ว่าจะสูญเสียน้ำไปเมื่อผ่านกระบวนการ ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ไมโครเวฟจะให้ความร้อนในระยะเวลาที่สั้น จึงทำให้คุณภาพของสารอาหารที่สูญเสียไปน้อยกว่า และทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีกว่าหรือเท่าเทียมกับอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง [21]

สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient Agar พบว่าเชื้อสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยไมโครเวฟได้น้อยกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูง ทั้งนี้น่าจะมีสาเหตุจากการฆ่าเชื้อที่ต้องใช้เวลานาน [20] เพื่อทำให้วุ้นละลายได้อย่างสมบูรณ์ วุ้นที่ไม่ละลายจะทำหน้าที่เหมือนเป็นเม็ดกันเดือด(boiling chip) ที่จะกระตุ้นให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดฟองอากาศเมื่อได้รับความร้อนจนถึงจุดเดือด [22] เมื่อฉายรังสีไมโครเวฟต่อเนื่องจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อจะเดือดรุนแรงจนเกิดฟองอากาศล้นออกจากภาชนะบรรจุและเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์จึงไม่สามารถฉายรังสีไมโครเวฟต่อเนื่องได้และต้องหยุดกระบวนการเพื่อเขย่าขวดละลายวุ้นให้สมบูรณ์ จึงใช้เวลาในการดำเนินการนานขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อคำนวณค่า Productivity ของอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟจะพบว่าเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* มีค่า 0.86±0.05 และ 0.70±0.11 ตามลำดับซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน ISO 11133-2 (2003) [23] จึงกล่าวได้ว่าการฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟสามารถนำมาใช้ฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar สำหรับการเรียนการสอนได้

เมื่อเปรียบเทียบพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการฆ่าเชื้อโดยไมโครเวฟพบว่าใช้พลังงานน้อยกว่าการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงเมื่อคำนวณต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร และใช้เวลาในการเตรียมน้อยกว่าอีกด้วย ความคุ้มค่าการใช้พลังงานไฟฟ้าเมื่อใช้เครื่องนึ่งไอน้ำความดันสูงขึ้นกับปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อ ยิ่งเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวนมากค่าใช้จ่ายในการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อต่อ 1 มล. จะลดลงอย่างมาก ดังนั้น โดยสรุปคือกระบวนการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อโดยไมโครเวฟใช้พลังงานและเวลาน้อยกว่า เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ในจำนวน 200 ถึง 300 มิลลิลิตร และอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar 600 ถึง 1,800 มิลลิลิตร

6. กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนเพื่อการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้โครงการวิจัยสายสนับสนุน

7. เอกสารอ้างอิง

1. Jeevitha, G.C., Sowbhagyab, H.B. and Hebbara, H.U., 2016, "Application of Microwave for Microbial Load Reduction in Black Pepper (*Piper nigrum* L.)," *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 96 (12), pp. 4243-4249.

2. Assawarachan, R., Nookong, M., Chailungka, N. and Amornlerdpison, D., 2011, "Effects of Microwave Power on the Drying Characteristics, Color and Phenolic Content of *Spirogyra* sp.," *Journal of Food, Agriculture and Environment,* 11 (1), pp. 15-18.

3. Tyagi, V.K. and Lo, S.-L., 2013, "Microwave Irradiation: A Sustainable Way for Sludge Treatment and Resource Recovery," *Renewable and Sustainable Energy Reviews,* 18, pp. 288-305.

4. Guo, Q., Sun, D.-W., Cheng, J.-H. and Han, Z., 2017, "Microwave Processing Techniques and Their Recent Applications in the Food Industry," *Trends in Food Science and Technology,* 67, pp. 236-247.

5. Chen, M., Fan, D.M., Li, T.F., Yan, B.W., Gao, Y.S., Zhao, J.X. and Zhang, H., 2017, "Synergistic Bactericidal Effects of Basic Amino Acids and Microwave Treatment on *Escherichia coil," LWT-Food Science and Technolgy,* 84, pp. 99-105.

6. Mishra, T., Kushwah, P., Dholiya, K. and Kothari, V., 2013, "Effect of Low Power Microwave Radiation on Microorganisms and Other Life Forms," *International Journal of Microwave and Wireless Technologies,* 1 (1), pp. 4-11.

7. Kang, Y. and Kato, S., 2014, "Thermal and Non-thermal Germicidal Effects of Microwave Radiation on Microbial Agents," *Indoor and Built Environment,* 23 (8), pp. 1080-1091.

8. Jankovic, S.M., Milosev, M.Z. and Novakovic, M.L., 2014, "The Effect of Microwave Radiation on Microbial Culture," *American Journal of Hospital Pharmacy,* 1 (2), pp. 102-109.

9. Kim, S.Y., Jo, E.K., Kim, H.J., Bai, K. and Park, J.K., 2008, "The Effects of High-Power Microwaves on the Ultrastructure of *Bacillus subtilis," Letters in Applied Microbiology,* 47 (1), pp. 35-40.

10. Cockrell, A.L., Fitzgerald, L.A., Cusick, K.D., Barlow, D.E., Tsoi, S.D., Soto, C.M., Baldwin, J.W., Dale, J.R., Morris, R.C., Little, B.J. and Biffinger, J.C., 2015, "A Comparison of the Physical and Biochemical Properties of *Thermus scotoductus* SA-01 Cultured with Microwave Radiation and Conventional Heating," *Applied Environmental Microbiology,* 81 (18), pp. 1-36.

11. Kharkovsky, S. and Hasar, U.C., 2003, "Measurement of Mode Patterns in a High-Power Microwave Cavity," *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement,* 52 (6), pp. 1815-1819.

12. Ojha, S.C., Chankhamhaengdecha, S., Singhakaew, S, Ounjai, P. and Janvilisri, T, 2016, "Inactivation of *Clostridium difficile* Spores by Microwave Irradiation," *Anaerobe,* 38, pp. 14-20.

13. Banik, S., Bandyyopadhya, S. and Ganguly, S., 2003, "Bioeffects of Microwave – A Brief Review," *Bioresource Technology,* 87 (2), pp. 155–159.

14. Stratakos, A.C., Delgado-Pando, G., Linton, M., Patterson, M.F. and Koidis, A., 2016, "Industrial Scale Microwave Processing of Tomato Juice Using a Novel Continuous Microwave System," *Food Chemistry,* 190, pp. 622-628.

15. Atuonwu, J.C. and Tasson, S.A., 2019, "Energy Issues in Microwave Food Processing: A Review of Developments and the Enabling Potentials of Solid-State Power Delivery," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 59 (9), pp. 1392-1407.

16. Vollmer, M., 2004, "Physics of the Microwave Oven," *Physics Education,* 39 (1), pp. 74-81.

17. Gedikli, S., Tabak, Ö., Tomsuk, Ö. and Çabuk, A., 2008, "Effect of Microwaves on Some Gram Negative and Gram Positive Bacteria," *Journal of Applied Biological Sciences,* 2 (1), pp. 67-71.

18. Cao, J.-X., Wang, F., Li, X., Sun, Y.Y., Wang, Y., Ou, C.-R., Shao, X.-F., Pan, D.-D. and Wang, D.-Y., 2018, "The Influence of Microwave Sterilization on the Ultrastructure, Permeability of Cell Membrane and Expression of Proteins of *Bacillus Cereus*," *Frontiers in Microbiology,* 9, pp. 1-9.

19. Lueng-On, P., 2016, Effects of Household and Single Mode Microwaves on Selected Microorganisms and Applications, Master Thesis, Program in Microbiology and Microbial Technology, Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University. (In Thai)

20. Bhattacharjee, M.K., Sugawara, K. and Ayandeji, O.T., 2009, "Microwave Sterilization of Growth Medium Alleviates Inhibition of Aggregatibacter actinomycetemcomitans by Maillard Reaction Products," *Journal of Microbiological Methods,* 78 (2), pp. 227-230.

21. Kothari, V., Patadia, M. and Trivedi, N., 2011, "Microwave Sterilized Media Supports Better Microbial Growth Than Autoclaved Media," *Research in Biotechnology,* 2 (5), pp. 63-72.

22. Nichols, L., 2020, Controlled Boiling [Online], Available: https://chem. libretexts.org /Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_Lab_Techniques_(Nichols)/01%3A_General_Techniques/1.04%3A_Heating_and_Cooling_Methods/1.4B%3A_Controlled_Boiling. [1 February 2021]

23. International Organization for Standardization (ISO), 2003, Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Guidelines on Preparation and Production of Culture Media–Part 2: Practical Guidelines on Performance Testing of Culture Media, ISO/TS 11133-2:2003.