บทที่ 21
การควบคุมจุลินทรีย์โดยปัจจัยทางกายภาพ

การควบคุมจุลินทรีย์สำหรับความหมายในที่นี้ หมายถึงการลดจำนวนและ/หรือลดกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ทั้งหมด จุดประสงค์หลักในการควบคุมจุลินทรีย์ คือ (1) เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรคและการติดโรค (infection) (2) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน (contamination) และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ และ (3) เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายและเน่าเสียของวัตถุโดยจุลินทรีย์

จุลินทรีย์อาจถูกกำจัด ถูกยับยั้ง หรือถูกฆ่าทำลายโดยปัจจัยต่าง ๆ ทางกายภาพ ขบวนการต่าง ๆ ทางกายภาพ หรือปัจจัยทางเคมีต่าง ๆ เทคนิคและปัจจัยต่าง ๆ จะกระทำต่อจุลินทรีย์โดยวิถีทางซึ่งแตกต่างกัน และแต่ละเทคนิคหรือปัจจัยก็มีขอบเขตจำกัดในการใช้เพื่อต่อต้านจุลินทรีย์

1. หลักเกี่ยวกับการควบคุมจุลินทรีย์

คำว่า ตาย (death) ซึ่งใช้ในวิชาจุลชีววิทยา หมายถึงการสูญเสียความสามารถในการสืบพันธุ์ (reproduce) อย่างไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถเพิ่มจำนวนได้ด้วยตัวเองแต่จุลินทรีย์ที่ตายแล้วไม่สามารถเพิ่มจำนวนตัวเองหรือไม่สามารถเจริญเติบโต การตรวจสอบการตายของจุลินทรีย์ต้องอาศัยเทคนิคในห้องปฏิบัติการเพื่อชี้แสดงให้เห็นว่ามีการเจริญเติบโตหรือไม่โดยใส่ (inoculate) ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ลงไปในสื่อกลางอาหารที่เหมาะสม การล้มเหลวในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เมื่อนำไปใส่ลงในสื่อกลางอาหารที่เหมาะสมเป็นเครื่องชี้แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ และการล้มเหลวในการสืบพันธุ์เป็นข้อกำหนดถึงการตายของจุลินทรีย์ ปัจจัยหนึ่งซึ่งซับซ้อนในความหมายนี้คือการตอบสนองของจุลินทรีย์อาจไม่เหมือนกันในทุกชนิดของสื่อกลางอาหาร ตัวอย่างเช่น เซลล์ของ *Escherichia coli* แขวนลอยในของเหลวเมื่อถูกทำให้ร้อนแล้ว นำไปเพาะเลี้ยงด้วยสื่อกลางอาหาร trypticase soy agar ในจานเลี้ยงเชื้อจะได้จำนวนเซลล์ซึ่งรอด

ตายมากกว่าที่นำไปเพาะเลี้ยงในสื่อกลางอาหารซึ่งผสมด้วยเกลือของน้ำดี (bile salts) เช่น deoxycholate agar

1.1 อัตราการตายของแบคทีเรีย

เมื่อของเหลวที่มีเซลล์แบคทีเรียแขวนลอยอยู่ถูกหยดลงไปในกรดเข้มข้นและร้อนหรือถูกหยดลงไปในเตาเผา เซลล์แบคทีเรียทั้งหมดอาจถูกฆ่าทำลายอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งไม่สามารถวัดอัตราการตายได้ อย่างไรก็ตามถ้าทำให้ประชากร เซลล์แบคทีเรียตายลงด้วยสภาวะซึ่งไม่รุนแรงมากนัก ก็จะมีผลทำให้ประชากรเซลล์แบคทีเรียทั้งหมดถูกฆ่าทำลายไปภายในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นด้วยอัตราความเร็วแบบขยายตัวคงที่ (constant exponential rate) ซึ่งก็เป็นไปในทำนองกลับกันกับการเจริญเติบโตแบบขยาย (exponential growth pattern)

อัตราการตายแบบขยายอาจถูกทำให้เข้าใจได้ง่ายขึ้นด้วยแบบจำลองอย่างง่าย โดยนึกวาดภาพว่าเซลล์แต่ละเซลล์ในประชากรทั้งหมดเป็นเป้า ๆ หนึ่งซึ่งถูกยิงด้วยกระสุนนัดเล็ก ๆ ของปัจจัยทางเคมีหรือปัจจัยทางกายภาพจำนวนมากที่สาดเข้ามาในลักษณะสะเปะสะปะเช่นเดียวกันกับการส่ายยิงไปมาด้วยปืนกลเข้าใส่ฝูงชนโดยไม่มีการเล็งไปที่เป้าใดเป้าหนึ่งโดยเฉพาะ ในที่นี้ให้ถือว่ากระสุนนัดหนึ่งเมื่อกระทบเป้า ๆ หนึ่งก็ทำให้แบคทีเรียตายหนึ่งเซลล์

โอกาสที่กระสุนกระทบเป้าเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อจำนวนเป้า หรือความหนาแน่นของจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่เป็นเป้าว่ามากน้อยเพียงใด นั่นก็คือถ้ายิงเข้าไปในหมู่เป้าที่มีจำนวนมากก็มีโอกาสถูกเป้ามากแต่ถ้ายิงต่อไปเรื่อย ๆ จำนวนเป้าที่ยังไม่ถูกยิงก็ลดลงไปตามลำดับ และจะกลายเป็นยากยิ่งขึ้นที่จะยิงให้ถูกเป้าที่เหลือ ดังจะได้ยกตัวอย่างเป็นตัวเลขให้เข้าใจโดยสมมุติเมื่อเริ่มต้นมีเป้าจำนวน 1 ล้านเป้า แล้วสาดกระสุนเข้าไปในหมู่เป้านี้เป็นเวลา 1 นาทีโดยกำหนดให้กระสุนกระทบเป้าได้ 90 เปอร์เซนต์ของจำนวนเป้าทั้งหมด (คือ 1 ล้านเป้า) ดังนั้นจึงเหลือเป้าที่รอดจากการถูกยิง 100,000 เป้าแล้วต่อมาก็สาดกระสุนยิงอีก 1 นาที ในลักษณะเดียวกันด้วยปืนกระบอกเดียวกันจะพบว่าเป้าที่เหลือจากนาทีแรกคือ 100,000 เป้า ถูกยิงไปอีก 90 เปอร์เซนต์เช่นเดียวกันคือถูกยิงไป 90,000 เป้า และเหลือรอดจากการถูกยิง 10,000 เป้า เมื่อทำการยิงต่อไปอีก 1 นาทีต่อมาเป้าที่เหลือจากนาทีที่สอง 10,000 เป้าก็ถูกยิงไป 9,000 เป้าและเหลือรอดจากการถูกยิง 1,000 เป้า ลักษณะเช่นนี้จะเกิดขึ้นซ้ำ ๆ กันเป็นแบบฉบับจนกระทั่งไม่มีเป้าเหลืออยู่เลย ดังแสดงไว้ในตาราง

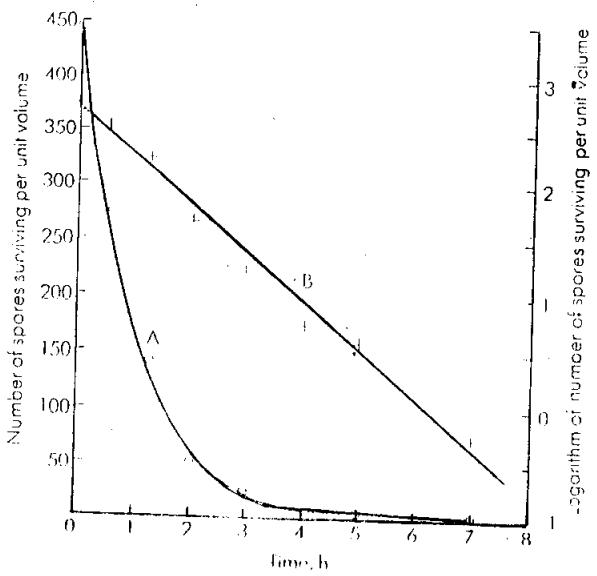
ที่ 21-1 ซึ่งจะสังเกตุเห็นว่าการฆ่าทำลายแบคทีเรีย 9 เซลล์สุดท้ายยากพอ ๆ กันกับการฆ่าทำลายแบคทีเรียจำนวน 900,000 เซลล์แรก คือต้องใช้เวลา 1 นาทีเท่ากัน ดังนั้นจึงไม่อาจมั่นใจได้เลยว่าแบคทีเรียเซลล์สุดท้ายจะถูกฆ่าตายไปแล้ว แต่อาจทำให้มั่นใจยิ่งขึ้นได้ โดยทำให้เซลล์ซึ่งเป็น เป้านั้นถูกยิงเป็นเวลานานพอเมื่อเพิ่มโอกาสให้เซลล์สุดท้ายถูกยิง ฉะนั้นจึงกล่าวสรุปได้ว่า อัตราการตายของประชากรแบคทีเรียภายใต้สภาวะคงที่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์ต่อหนึ่งหน่วยเวลาก็คงที่ด้วย

ตารางที่ 21-1 A Theoretical Case of the Order of Death of Bacteria When Exposed to a Lethal Agent

Time	Survivors	Deaths per Unit Time	Total Deaths
0	1,000,000	0	0
1	100,000	900,000 = 90%	900,000
2	10,000	90,000 = 90%	990,000
3	1,000	9,000 = 90%	999,000
4	100	900 = 90%	999,900
5	10	90 = 90%	999,990
6	1	9 = 90%	999,999

SOURCE: O. Rahn, *Physiology of Bacteria*, McGraw-Hill, New York, 1932.

รูปที่ 21-1 แสดงถึงแบบฉบับการตายของประชากรสปอร์ *Bacillus anthracis* เมื่อแช่ไว้ในสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซนต์ จำนวนสปอร์ซึ่งรอดตายได้แสดงไว้เป็นจุดที่เวลาต่าง ๆ เส้นกราฟ A เป็นเส้นกราฟแสดงจำนวนจริงของสปอร์ที่เวลาต่าง ๆ (arithmetic plot) จะเห็นว่าเป็นเส้นโค้ง ส่วนเส้นกราฟ B เป็นเส้นกราฟแสดงจำนวนซึ่ง ติดค่าล๊อกที่เวลาต่าง (logarithmic plot) จะเป็นเส้นตรง เส้นกราฟทั้งสองแสดงให้เห็นถึงการตายหรือการลดจำนวนประชากรในช่วงเวลาต่าง ๆ แต่เส้นกราฟแบบแสดงจำนวนซึ่งติดค่าล๊อกยังยังช่วยทำให้ทราบว่าอัตราการตาย (deaht rate) นั้นคงที่ เนื่องจากความลาดเอียงของเส้นกราฟถูกถือว่าเป็นอัตราการตายและความลาดเอียงของกราฟเส้นตรงนั้นคงที่



รูปที่ 21-1 The death curve of *Bacillus anthracis* spores exposed to 5% phenol. Curve A: Number of survivors expressed arithmetically per unit volume plotted against time. Curve B: Logarithm of number of surviving bacteria plotted against time.

ผลลัพธ์ซึ่งแสดงในรูปที่ 21-1 เกิดขึ้นได้เฉพาะเมื่อสภาวะทุกอย่างถูกทำให้คงที่หรือสม่ำเสมอกันโดยตลอด รวมทั้งอายุ และสถานะภาพทางสรีระวิทยาของจุลินทรีย์ทุกตัวทั้งประชากร ถ้าเซลล์ในประชากรจุลินทรีย์มีอายุแตกต่างกันหรือมีสถานะภาพทางสรีระวิทยาของการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ก็จะแสดงความแตกต่างในแง่ของความคงทนต่อปัจจัยที่ใช้ในการฆ่าทำลายหรือยับยั้ง ดังนั้นเส้นกราฟแสดงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดตายแบบติดค่าล็อกจึงอาจไม่ลาดลงมาในลักษณะเป็นเส้นตรงตามทฤษฎีก็ได้ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์และความสม่ำเสมอของเซลล์ในประชากรมีผลกระทบต่อความลาดเอียงและรูปแบบของเส้นกราฟ

โอกาสที่เป้าจะถูกกระทบยังเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อจำนวนกระสุนที่ใช้ยิง ซึ่งก็คือความเข้มข้นของสารเคมีหรือความเข้มของปัจจัยทางกายภาพที่ใช้ต่อต้านจุลินทรีย์ ดังนั้นภายในช่วงระยะเวลาที่กำหนดให้ถ้ายิงด้วยกระสุนจำนวนมากขึ้นเป้าจะถูกยิงมากขึ้น ถ้าเป้านั้นคือเซลล์แบคทีเรียและกระสุนคือรังสี x-rays หรือแสงอุลตร้าไวโอเลต เซลล์จะถูกฆ่าทำลายเร็วขึ้นถ้าเพิ่มความเข้มของรังสี ถ้ากระสุนคือโมเลกุลของสารเคมีเซลล์ก็จะถูกฆ่าทำลายเร็วขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมี (แต่ก็อยู่ในขอบเขตจำกัดหนึ่งเท่านั้น)

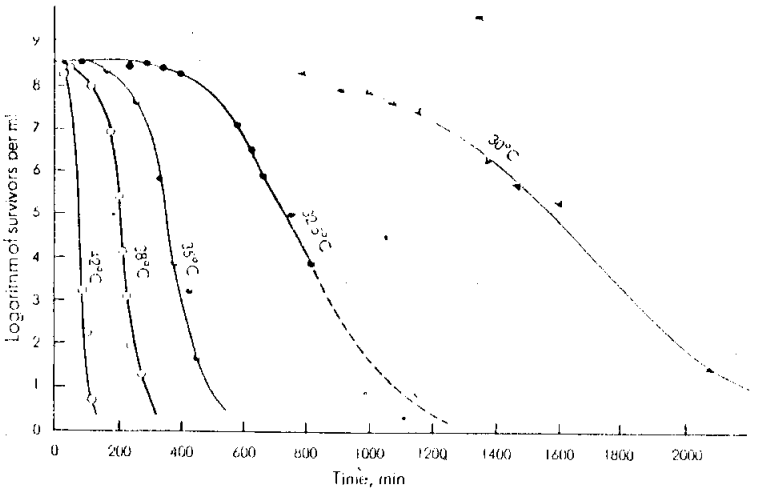
ถ้าใช้เวลาในการยิงกระสุนนานขึ้นเป้าก็จะถูกยิงมากขึ้น และถ้ามีเป้าจำนวนมากขึ้นก็ต้องใช้เวลายิงนานจึงจะถูกเป้าทั้งหมด ซึ่งก็หมายความว่าการทำลายประชากรเซลล์ต้องใช้เวลา และถ้ามีเซลล์ในประชากรมากก็ต้องใช้เวลานานจึงจะแน่ใจว่าฆ่าทำลายเซลล์แบคทีเรียได้ทั้งหมด

1.2 สภาวะซึ่งมีอิทธิพลในการต่อต้านจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ไม่ใช่เป้าทางกายภาพอย่างง่าย ลักษณะทางชีววิทยาหลายอย่างมีอิทธิพลต่ออัตราความเร็วในการฆ่าทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยปัจจัยต่าง ๆ การยับยั้งหรือทำลายประชากรจุลินทรีย์ด้วยปัจจัยทางกายภาพหรือสารเคมีใดก็ตามจำเป็นต้องคำนึงถึงปัญหาอื่นอีกหลายอย่าง เนื่องจากไม่อาจกำหนดได้ว่าปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งจะมีผลในการควบคุมจุลินทรีย์ในทุกสถานที่และโอกาส ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องประเมินสำหรับแต่ละสถานการณ์แยกจากกันเพื่อเลือกขบวนการซึ่งการทดลองและประสบการณ์ชี้แสดงให้เห็นว่า ได้ผลลัพทธ์ตามที่ต้องการ ลักษณะทางชีววิทยาบางอย่างของเซลล์และสภาวะทางสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งมีอิทธิพลต่อความสามารถของปัจจัยทั้งทางเคมีและทางกายภาพที่ใช้ในการต่อต้านจุลินทรีย์จะได้กล่าวถึงในหัวข้อต่อไปนี้

สิ่งแวดล้อม : คุณสมบัติทางเคมีหรือกายภาพของตัวกลางหรือสารที่จุลินทรีย์อาศัยอยู่เป็นสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลอย่างลึกซึ้งต่ออัตราความเร็วและความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ตัวอย่างเช่นประสิทธิภาพของความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์จะสูงขึ้นเป็นอย่างมากในสารซึ่งมีสภาพเป็นกรดมากกว่าในสารซึ่งมีสภาพเป็นด่าง ความคงตัวของสารในแง่ความข้นเหนียวหรือเหลวจะมีผลกระทบเป็นอย่างมากต่อการแทรกซึมของปัจจัยที่ใช้ในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์เช่น คาร์โบไฮเดรตที่มีความเข้มข้นสูงโดยทั่วไปจะช่วยเพิ่มความคงทนต่อความร้อนของจุลินทรีย์ การมีสารอินทรีย์ส่วนเกินอาจลดประสิทธิภาพของปัจจัยที่ใช้ในการต่อต้านจุลินทรีย์เป็นอย่างมาก โดยยับยั้งปฏิกิริยาหรือป้องกันอันตรายให้แก่จุลินทรีย์

การเพิ่มอุณหภูมิ เมื่อใช้ปัจจัยอื่นในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ เช่น สารเคมีจะช่วยเร่งความเร็วในการทำลายจุลินทรีย์ ปรากฏการณ์นี้ได้แสดงไว้ในรูปที่ 21-2



รูปที่ 21-2 Increasing temperature also decreases bacterial survival when the concentration of the disinfectant remains constant. In this experiment *Escherichia coli* was exposed to phenol at a concentration of 4.62 g/liter at temperatures between 30 and 42°C. The number of survivors, expressed logarithmically, is plotted against time. (*From R. C. Jordan and S. E. Jacobs, J Hyg,* **44**:*210, 1945. Courtesy of Cambridge University Press.*)

ชนิดของจุลินทรีย์ : สายพันธุ์ของจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันในแง่ของการตกอยู่ภายใต้อำนาจของปัจจัยทางเคมีและทางกายภาพ เซลล์ร่างกายของสายพันธุ์ที่มีการสร้างสปอร์จะตกอยู่ภายใต้อำนาจของปัจจัยทางเคมี และทางกายภาพมากกว่าสปอร์ สปอร์ของแบคทีเรียมีความทนทานมากโดยแท้จริงแล้วสปอร์ของแบคทีเรียมีความทนทานที่สุดในบรรดาสิ่งมีชีวิตทั้งหลายในแง่ของการทนอยู่รอดภายใต้สภาวะทางเคมีและกายภาพที่เป็นภัย

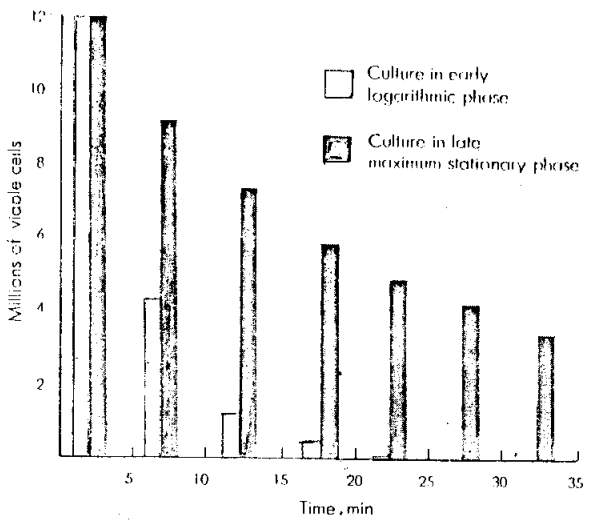
ตารางที่ 21-2 แสดงเปรียบเทียบให้เห็นความคงทนของสปอร์แบคทีเรียกับจุลินทรีย์อื่น

ตารางที่ 21-2 Resistances of Bacterial and Mold Spores and of Viruses, Relative to the Resistance of *Escherichia coli* as Unity

Sterilizing Agent	*Escherichia coli*	Bacterial Spores	Mold Spores	Viruses and Bacteriophages
Phenol	1	100,000,000	1–2	30
Formaldehyde	1	250		2
Dry heat	1	1,000	2–10	± 1
Moist heat	1	3,000,000	2–10	1–5
Ultraviolet	1	2–5	5–100	5–10

SOURCE: O. Rahn, *Bacteriol Rev*, 9:1, 1945.

สถานะทางสรีระวิทยาของเซลล์ : สถานะทางสรีระวิทยาของเซลล์อาจมีอิทธิพลต่อการตกอยู่ภายใต้อำนาจของปัจจัยที่ใช้ต่อต้านจุลินทรีย์ เซลล์หนุ่มสาวที่มีขบวนการเมแทบอลิซึมอย่างว่องไวมีแนวโน้มที่จะถูกทำลายได้ง่ายกว่าเซลล์แก่ที่อยู่ในระยะพักตัวในกรณีที่ปัจจัยนั้นก่อให้เกิดความเสียดายโดยรบกวนขบวนการเมแทบอลิซึม ส่วนเซลล์ที่ไม่มีการเจริญเติบโตจะไม่ได้รับผลกระทบ รูปที่ 21-3 แสดงเปรียบเทียบให้เห็นถึงการตกอยู่ภายใต้อำนาจของปัจจัยซึ่งทำให้ตายโดยเซลล์แก่และเซลล์หนุ่มสาว



รูปที่ 21-3 Comparative susceptibility of young and old cells to a lethal agent. The young cells are all killed within 25 min, but a considerable part of the more resistant, older cells still survives. (*Courtesy of Martin Frobisher et al., Fundamentals of Microbiology, Saunders, Philadelphia, 1974.*)

1.3 กลวิธีการกระทำของปัจจัยซึ่งใช้ต่อต้านจุลินทรีย์

สารเคมีและขบวนการหลายอย่างที่ใช้เป็นเครื่องมือต่อต้านจุลินทรีย์จะแสดงการกระทำอย่างกระจ่างแจ้งโดยวิถีทางใดวิถีทางหนึ่งในหลายวิถีทาง ด้วยเหตุผลทั้งในเชิงปฏิบัติและด้านวิชาการจึงมีความจำเป็นต้องรู้ว่าจุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือถูกฆ่าทำลายได้อย่างไร ความรู้เกี่ยวกับกลวิธีการกระทำของปัจจัยหนึ่งโดยเฉพาะอาจช่วยให้สามารถทำนายถึงสภาวะที่มีผลทำให้ปัจจัยนั้นมีการทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปัจจัยนั้นสามารถต่อต้านได้อย่างดีที่สุด การวิจัยส่วนมากมักกระทำเพื่อตรวจสอบหาตำแหน่งปฏิกิริยาเฉพาะ (specific site of action) ของปัจจัยต่าง ๆ การตรวจสอบเช่นนี้สลับซับซ้อนมาก เนื่องจากเซลล์เมื่อกระทบกับปัจจัยซึ่งทำให้ตายจะสังเกตุเห็นการเปลี่ยนแปลงได้หลายอย่าง ผลกระทบตามทฤษฎีโดมิโนจะเกิดขึ้นเมื่อขบวนการทำให้ตายหรือขบวนการยับยั้งเริ่มปรากฏขึ้น ปัญหาที่แท้จริงก็คือการกำหนดตำแหน่งหลักของความเสียหายที่มีผลในการยับยั้งหรือทำให้เซลล์ตาย

โดยทั่วไปอาจเพ่งเล็งไปที่ตำแหน่งปฏิกิริยาซึ่งอาจเป็นไปได้ของปัจจัยต่อต้านจุลินทรีย์โดยคำนึงถึงลักษณะเฉพาะต่าง ๆ ของเซลล์จุลินทรีย์ เซลล์ปกติที่มีชีวิตอยู่จะประกอบด้วยเอนไซม์ซึ่งใช้ในขบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ จำนวนมาก เยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic membrane) ซึ่งช่วยรักษาสิ่งต่าง ๆ ภายในเซลล์ให้อยู่ครบถ้วนสมบูรณ์ที่คุณสมบัติเป็นเยื่อซึ่งเลือกและควบคุมการผ่านเข้าออกของสารระหว่างเซลล์กับสิ่งแวดล้อมภายนอก และยังเป็นส่วนซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์หลายอย่าง ผนังเซลล์ซึ่งช่วยปกคลุมป้องกันเซลล์ยังมีส่วนร่วมในขบวนการทางสรีระวิทยาบางอย่าง ความเสียหายที่ตำแหน่งใดในส่วนต่าง ๆ เหล่านี้ของเซลล์อาจชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างต่อมาแล้วนำไปสู่การตายของเซลล์ จำเป็นต้องนึกไว้ในใจอยู่เสมอว่ามีตำแหน่งที่เซลล์อาจได้รับความเสียหายอยู่หลายตำแหน่งและความเสียหายนั้นอาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยกลุ่มหนึ่งหรือหลายกลุ่ม

ลักษณะการยับยั้งหรือฆ่าทำลายจุลินทรีย์ของปัจจัยต่าง ๆ อาจถูกจำแนกเป็นการกระทำดังต่อไปนี้คือ

1. ทำให้ผนังเซลล์ได้รับความเสียหายหรือยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์
2. เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในการซึมซับของเยื่อหุ้มเซลล์
3. เปลี่ยนแปลงสถานภาพทางเคมีหรือทางกายภาพของโปรตีนและกรดนูคลีอิก
4. ยับยั้งการกระทำของเอนไซม์

5. ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนหรือกรดนูคลีอิก

ตัวอย่างของกลวิธีการกระทำเหล่านี้จะได้บรรยายและกล่าวถึงโดยละเอียดเกี่ยวกับปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ในบทนี้และเกี่ยวกับปัจจัยทางเคมีต่าง ๆ ในบทที่ 22 และ 23

2. ปัจจัยทางกายภาพ

ปัจจัยทางกายภาพหรือขบวนการหลักที่ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ คือ อุณหภูมิ (ทั้งสูงและต่ำ) ความแห้ง (desiccation) แรงดันออสโมซิส รังสี และการกรอง

2.1 อุณหภูมิสูง

จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิซึ่งกว้างมาก จากอุณหภูมิที่ต่ำมากซึ่งเป็นลักษณะของพวก psychrophile จนถึงพวกที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิซึ่งสูงมากซึ่งเป็นลักษณะของพวก, thermophile จุลินทรีย์ทุกหมู่เหล่านี้มีอุณหภูมิเหมาะสม อุณหภูมิต่ำสุดและอุณหภูมิสูงสุดที่อาจเจริญเติบโตได้ อุณหภูมิซึ่งสูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์อาจเจริญเติบโตได้โดยทั่วไปจะฆ่าทำลายจุลินทรีย์ ส่วนอุณหภูมิซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิต่ำสุดที่จุลินทรีย์อาจเจริญเติบโตได้โดยปกติจะทำให้จุลินทรีย์หยุดนิ่ง (ยับยั้งเมแทบอลิซึม) และอาจหมายถึงการเก็บรักษาชีวิตของจุลินทรีย์

ปริมาณน้ำที่ปรากฏอยู่ในสิ่งแวดล้อมไม่ว่าอุณหภูมิใดมีผลกระทบเป็นอย่างมากต่อความอยู่รอดของจุลินทรีย์ อุณหภูมิสูงร่วมกับความชื้นสูงเป็นวิธีการหนึ่งซึ่งมีประสิทธิภาพมากในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องแยกระหว่างความร้อนชื้น (moist heat) กับความร้อนแห้ง (dry heat) ในวิธีการควบคุมจุลินทรีย์ ความร้อนชื้นฆ่าทำลายจุลินทรีย์โดยทำให้โปรตีนแข็งจับตัวเป็นก้อน และฆ่าทำลายจุลินทรีย์ได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากกว่าความร้อนแห้งซึ่งทำลายจุลินทรีย์โดยวิธีการอ็อกซิไดซ์ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ ตัวอย่างเช่น สปอร์ของ *Clostridium botulinum* จะถูกฆ่าทำลายใน 4 ถึง 20 นาที โดยความร้อนชื้นที่ 120° ซ. แต่ต้องใช้เวลาถึง 2 ชั่วโมงด้วยความร้อนแห้งที่อุณหภูมิเดียวกัน สปอร์ของ *Bacillus anthracis* ถูกฆ่าทำลายใน 2 ถึง 15 นาที โดยความร้อนชื้นที่ 100° ซ. แต่ต้องใช้เวลา 1 ถึง 2 ชั่วโมงด้วยความร้อนแห้งที่ 150°ซ. จึงจะได้ผลอย่างเดียวกัน (ตารางที่ 21-3 และ 21-4)

เซลล์ร่างกายมีความอ่อนไหวต่อความร้อนมากกว่าสปอร์ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ร่างกายมีค่าความไวของน้ำ (water activity) อยู่ในระดับสูงกว่า เซลล์ของแบคทีเรียส่วนใหญ่ถูก

ฆ่าทำลายใน 5 ถึง 10 นาที ที่ 60̊ ถึง 70̊ ซ ด้วยความร้อนชื้น เซลล์ร่างกายของยีสต์และฟังไจอื่นปกติจะถูกฆ่าทำลายใน 5 ถึง 10 นาทีด้วยความร้อนชื้นที่ 50̊ ถึง 60̊ ซ. และสปอร์ของจุลินทรีย์เหล่านี้จะถูกทำลายในเวลาเดียวกันที่อุณหภูมิ 70̊ ถึง 80̊ ซ แต่สปอร์ของแบคทีเรียทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่า ดังแสดงในตารางที่ 21-3 และ 21-4 การตกอยู่ภายใต้อำนาจความร้อนสำหรับไวรัสโดยทั่วไปก็คล้ายกับเซลล์ร่างกายของพวก mesophilic bacteria

ตารางที่ 21-3 Some Quoted Destruction Times of Bacterial Spores by Moist Heat

	Destruction times, min							
Organism	At 100°C	At 105°C	At 110°C	At 115°C	At 120°C	At 125°C	At 130°C	At 134°C
Bacillus anthracis	2–15	5–10						
B. subtilis	Many hours			40				
A putrefactive anaerobe	780	170	41	15	5.6			
Clostridium tetani	5–90	5–25						
Cl. welchii	5–45	5–27	10–15	4	1			
Cl. botulinum	300–530	40–120	32–90	10–40	4–20			
Soil bacteria	Many hours	420	120	15	6–30	4		1.5–10
Thermophilic bacteria		400	100–300	40–110	11–35	3.9–8.0	3.5	1
Cl. sporogenes	150	45	12					

SOURCE: G. Sykes, *Distinfection and Sterilization*, 2d ed., Lippincott, Philadelphia, 1965.

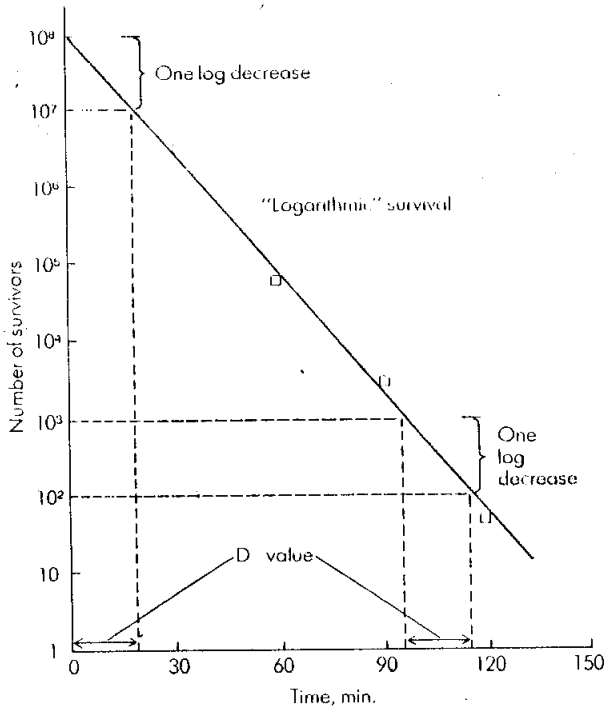
ตารางที่ 21-4 Some Quoted Killing Times of Bacterial Spores by Dry Heat

	Destruction times, min						
Organism	At 120°C	At 130°C	At 140°C	At 150°C	At 160°C	At 170°C	At 180°C
Bacillus anthracis			Up to 180	60–120	9–90		3
Clostridium botulinum	120	60	15–60	25	20–25	10–15	5–10
Cl. welchii	50	15–35	5				
Cl. tetani		20–40	5–15	30	12	5	1
Soil spores				180	30–90	15–60	15

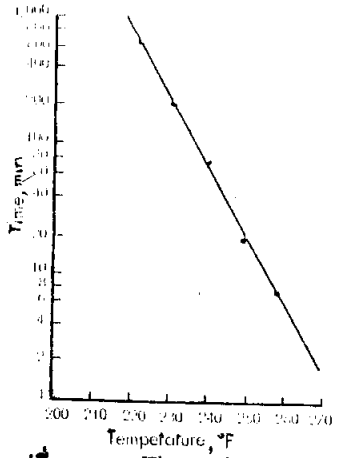
SOURCE: G. Sykes, *Disinfection and Sterilization*, 2d ed., Lippincott, Philadelphia, 1965.

2.1.1 Thermal Death Time and Decimal Reduction Time

Thermal death time หมายถึง ระยะเวลาซึ่งสั้นที่สุดที่ใช้ในการฆ่าทำลายแบคทีเรียหรือสปอร์แขวนลอยในของเหลวที่อุณหภูมิกำหนดให้ภายใต้สภาวะเฉพาะต่าง ๆ หน่วยการวัดอย่างอื่นของการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนคือ Decimal reduction time หมายถึงระยะเวลาเป็นนาทีที่ใช้ลดประชากรจุลินทรีย์ได้ถึง 90 เปอร์เซนต์ หรืออาจกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ ระยะเวลาเป็นนาทีที่เส้นกราฟ thermal-death-time curve ผ่านไปหนึ่งช่วง log cycle (รูปที่ 21-4) รูปที่ 21-5 แสดงถึง thermal-death-time curve ของสปอร์แบคทีเรียสายพันธุ์ซึ่งทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารกระป๋องแบบที่เรียกว่า "แบนเปรี้ยว" (flat sour spoilage)



รูปที่ 21-4 Graph illustrating the concept of decimal reduction time (D value), the time in minutes to reduce the microbial population by 90 percent. Stated differently, it is the time in minutes for the thermal-death-time curve to pass through one log cycle. The D value is independent of time when the response is logarithmic, that is, when the same length of time is required to accomplish any given log decrease in number of survivors. For example, the D value in this illustration is approximately 20 min., the time required to reduce the survivors from 10^8 to 10^7 or from 10^7 to 10^6, and so on.



รูปที่ 21-5 Thermal-death-time curve for spores of a type of bacterium encountered in food spoilage. (*Courtesy of W. C. Frazier, Food Microbiology, Mc-Graw-Hill, New York, 1958.*)

จากข้อกำหนดโดยพจน์เหล่านี้จึงประจักษ์ชัดว่าการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนนั้นอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับเวลา สำหรับ thermal death time อุณหภูมิถูกกำหนดให้คงที่แล้วเปลี่ยนแปลงเวลา ส่วน decimal reduction time เป็นการปรับปรุงเปลี่ยนแปลง thermal death time โดยวัดอัตราความเร็วในการฆ่าทำลายประชากรจุลินทรีย์จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองเพื่อตรวจสอบหาค่าเหล่านี้จะต้องมีการควบคุมภาวะต่าง ๆ อย่างเข้มงวดโดยเฉพาะธรรมชาติของสื่อกลางที่จุลินทรีย์อาศัยอยู่ พีเอช และจำนวนจุลินทรีย์ เนื่องจากทุกปัจจัยเหล่านี้มีผลกระทบต่อการตกอยู่ภายใต้อำนาจความร้อนสำหรับจุลินทรีย์

ค่าตัวเลข thermal-death-time และ decimal-reduction-time มีความสำคัญเป็นอย่างมากในการประยุกต์ทางจุลชีววิทยาหลายอย่าง เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋องมีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้อย่างกว้างขวางเพื่อกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ในอาหารเพื่อการถนอมรักษาอาหารโดยบรรจุกระป๋องอย่างเหมาะสม

นอกจากสองพจน์ดังกล่าวมาแล้วแต่ก่อนยังใช้คำว่า thermal-death-point ซึ่งหมายถึงอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถฆ่าทำลายแบคทีเรียหรือสปอร์แขวนลอยในของเหลวได้ภายในเวลา 10 นาที แต่ปัจจุบันคำนี้ไม่ได้เป็นที่นิยมใช้แล้ว

2.1.2 การใช้อุณหภูมิสูงเพื่อฆ่าทำลายจุลินทรีย์

การฆ่าทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนนั้นความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาได้รับผลกระทบเป็นอย่างมากจากสภาวะต่าง ๆ ซึ่งต้องนำมาพิจารณาเพื่อกำหนดระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการลดประชากรจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่ต้องการ วิธีการใช้ความร้อนอย่างเหมาะสมอาจถูกแบ่งออกได้เป็นสองกรณี คือ ความร้อนชื้นและความร้อนแห้ง

2.1.2.1 ความร้อนชื้น [Moist heat)

การใช้ความร้อนชื้นเพื่อยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในที่นี้จะได้กล่าวถึงวิธีการใช้เพื่อให้ได้ผลสำเร็จตามความมุ่งหมาย

ไอน้ำภายใต้ความดัน (steam under pressure) : ความร้อนในรูปของไอน้ำอิ่มตัวภายใต้ความดันเป็นปัจจัยซึ่งเหมาะสมที่สุดและไว้ใจได้ในขบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ (sterilization) ไอน้ำภายใต้ความดันทำให้ได้อุณหภูมิสูงเกินกว่าการต้มอย่างธรรมดา ดังแสดงในตารางที่ 21-5 ไอน้ำภายใต้ความดันมีคุณสมบัติที่ดีคือแทรกซึมและให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว มีความชื้นสูงซึ่งช่วยในการทำให้โปรตีนแข็งจับตัวเป็นก้อน เครื่องมือซึ่งทำให้เกิดไอน้ำภายใต้ความดันอย่างควบคุมได้ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการถูกเรียกว่า autoclave (ดูรูปที่ 21-6) ประกอบด้วยช่องไอน้ำที่มีเปลือกสองชั้น (double jackted steam chamber) พร้อมด้วยอุปกรณ์ทำให้มีไอน้ำอิ่มตัวบรรจุเข้าไปในช่อง และรักษาอุณหภูมิและความดันให้เป็นไปตามกำหนดและระยะเวลา การใช้ autoclave มีความจำเป็นเป็นอย่างมากที่จะต้องทำให้อากาศภายในช่องถูกแทนที่ด้วยไอน้ำอิ่มตัวอย่างสมบูรณ์ ถ้ามีอากาศปะปนอยู่ด้วยจะทำให้อุณหภูมิที่ได้รับลดลงเป็นอย่างมากทั้ง ๆ ที่มีความดันเท่ากันกับเมื่อใช้ไอน้ำอิ่มตัวอย่างแท้จริง ความดันในกรณีนี้ไม่มีผลในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์เพียงแต่ความร้อนของไอน้ำเท่านั้นที่มีผลในการฆ่าทำลาย

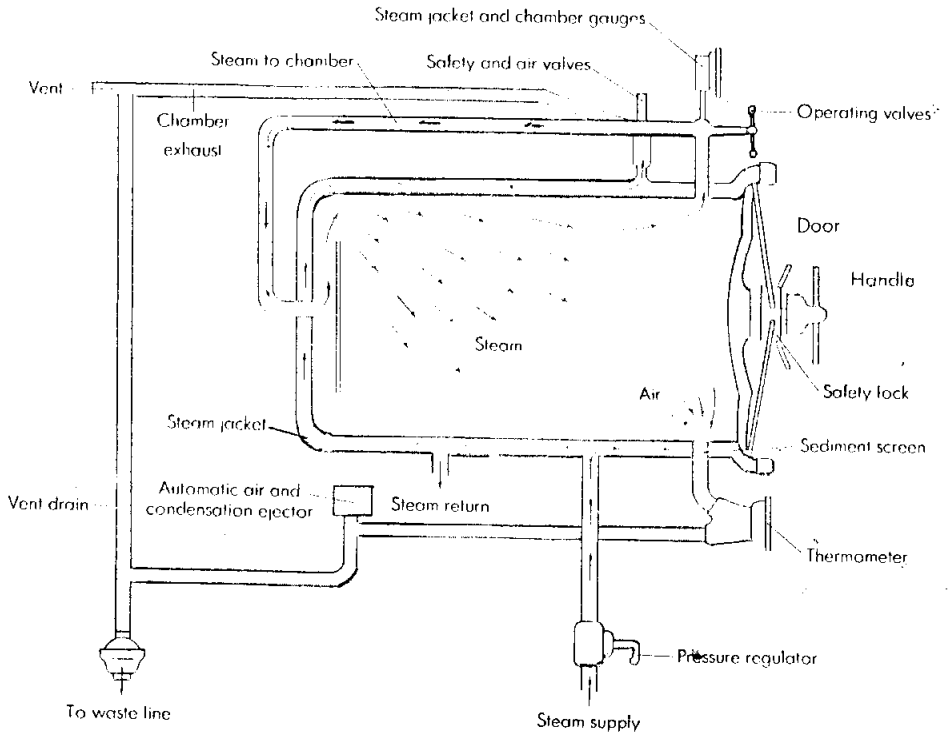
ตารางที่ 21-5 Temperature of Steam under Pressure

Steam Pressure, lb/in²	Temperature, °C
0	100,0
5	109.0
10	115.0
15	121.5
20	126.5

SOURCE: J. J. Perkins, *Principles and Methods of Sterilization*, Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1956.

Autoclave เป็นอุปกรณ์ที่จำเป็นต่อห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทุกแห่ง อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ สารละลาย เชื้อที่จะต้องทิ้งและวัตถุปนเปื้อนต่าง ๆ มักถูกทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องมือนี้ โดยทั่วไป (แต่ไม่เสมอไป) autoclave มักถูกใช้งานที่ความดันประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (ที่ 121° ซ) แต่ระยะเวลาที่ใช้เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อ (sterile) นั้นขึ้นอยู่กับลักษณะหรือธรรมชาติของวัตถุที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อได้แก่ ประเภทของภาชนะบรรจุและปริมาตรของวัตถุ ตัวอย่างเช่น หลอดทดสอบ 1,000 หลอดแต่ละหลอดบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเหลว 10 ม.ล. อาจถูกทำให้ปราศจากเชื้อได้ภายในเวลา 10 ถึง 15 นาที ที่ 121° ซ แต่ถ้าเป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียวกันจำนวน 10 ลิตร ถูกบรรจุรวมอยู่ในภาชนะเดียวกัน จะต้องใช้เวลาถึง 1 ชั่วโมงหรือมากกว่าที่อุณหภูมิเดียวกันกับครั้งแรก เพื่อทำให้แน่ใจว่าปราศจากเชื้อ

รูปที่ 21-6 Pressure steam sterilizer (autoclave), cross-sectional view illustrating operational parts and path of steam flow. (*Courtesy of Wilmont Castle Company.*)



Fractional sterilization : อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ สารละลายเคมีและสารทางชีววิทยาบางอย่างไม่สามารถใช้ความร้อนสูงเกินกว่า 100° ซ. โดยไม่ทำให้เกิดความเสียหาย อย่างไรก็ตาม สารเหล่านี้สามารถทนต่ออุณหภูมิของไอน้ำเดือดธรรมดา (100°ซ) ได้ ดังนั้นจึงสามารถทำให้ปราศจากเชื้อได้โดยวิธีการ Fractional sterilization (tyndallization) วิธีการนี้ประกอบด้วยการให้ความร้อนแก่สารที่ 100° ซ เป็นเวลาสามวันติดต่อกันโดยสลับกับการบ่ม (incubate) ในระหว่างวัน ที่อุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สปอร์ซึ่งทนทานต่อความร้อนจะงอกออกมาเป็นเซลล์ร่างกายในระหว่างการบ่ม แต่ต่อมาเมื่อสัมผัสกับความร้อนเซลล์ร่างกายก็จะถูกทำลาย ถ้ามีสปอร์อยู่และไม่งอกออกมาเป็นเซลล์ร่างกายในระหว่างการบ่มสารนั้นก็จะไม่อาจถูกทำให้ปราศจากเชื้อได้โดยวิธีการนี้ เครื่องมือที่ใช้ในขบวนการนี้มีชื่อเรียกว่า Steam Arnold ซึ่งก็คือหม้อนึ่งไอน้ำอย่างธรรมดานั่นเอง หรืออาจใช้ autoclave นึ่งแทนได้ โดยปล่อยให้ไอน้ำออกมาอย่างอิสระไม่ต้องเก็บกักอัดเอาไว้ ในการปฏิบัติโดยทั่วไปจะทำการนึ่งด้วยไอน้ำ 100° ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สลับกับการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อย่างละสามครั้ง

การต้ม (Boiling with water) : วัตถุหรือสารซึ่งได้รับการปนเปื้อนไม่อาจถูกทำให้ปราศจากเชื้อได้โดยการต้มกับน้ำให้เดือด เป็นความจริงที่ว่าเซลล์ร่างกายของจุลินทรีย์อาจถูกทำลายให้หมดไปได้ภายในเวลาไม่กี่นาทีเมื่อได้สัมผัสกับน้ำเดือด แต่สปอร์ของแบคทีเรียบางอย่างอาจทนอยู่ได้ในสภาวะเช่นนี้เป็นเวลาหลายชั่วโมง การแช่เครื่องมือลงในน้ำเดือดด้วยระยะเวลาอันสั้นก็คล้ายกับเป็นการ disinfection คือเป็นการทำลายร่างกายของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคไม่ถือว่าเป็นการ sterilization ซึ่งเป็นการทำให้ปราศจากเชื้อ การต้มกับน้ำให้เดือดไม่อาจใช้หรือไม่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อ

Pasteurization : น้ำนม ครีม และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอร์บางอย่าง เช่น เบียร์หรือไวน์ อาจถูกนำมาควบคุมคุณภาพโดยใช้ความร้อนด้วยวิธีการที่เรียกว่า pasteurization เพื่อฆ่าทำลายจุลินทรีย์พวกใดพวกหนึ่งโดยเฉพาะ แต่ไม่ทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดหรือทั้งหมด อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการกำจัด น้ำนมพลาสเจอไรซ์ไม่ใช่น้ำนมที่ปราศจากเชื้อ การพาสเจอไรซ์น้ำนมมีจุดประสงค์เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคโดยไม่ทำให้น้ำนมเสื่อมคุณภาพ จุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดโรคและทนทานต่อความร้อนได้ดีที่สุดซึ่งพบในน้ำนมคือ *Mycobacterium tuberculosis* ทำให้เกิดโรควัณโรค ปกติเชื้อวัณโรคถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60° ซ ภายในเวลา 15 นาที ดังนั้นเพื่อความมั่นใจว่าจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค

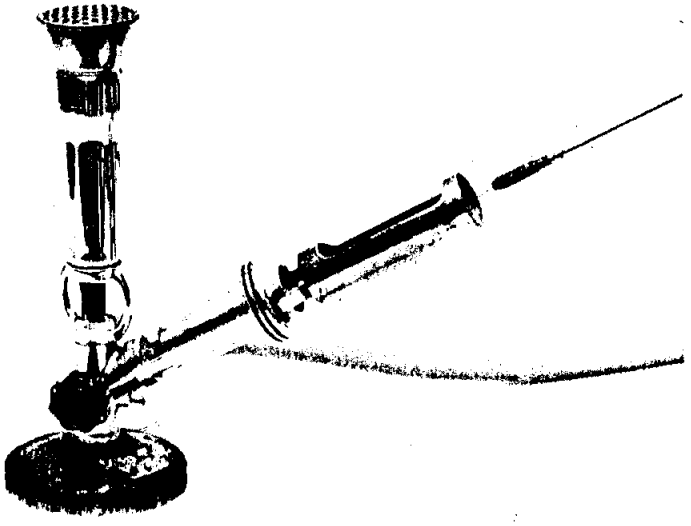
ในน้ำนมจะถูกฆ่าทำลายจนหมดโดยการพาสเจอไรซ์จึงนำน้ำนมมาอุ่นที่อุณหภูมิ 62 ซ เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันที น้ำนมพาสเจอไรซ์จำเป็นต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากยังมีจุลินทรีย์อื่นหลงเหลืออยู่

2.1.2.2 ความร้อนแห้ง (Dry-Heat)

Hot-Air Sterilization : การทำให้ปราศจากเชื้อโดยอากาศร้อนเหมาะที่จะใช้กับภาชนะเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ไปเปตต์รวมทั้งน้ำมันและสิ่งของซึ่งมีลักษณะเป็นผง เครื่องมือที่ใช้สำหรับขบวนการนี้คือ เตาอบไฟฟ้าหรือแก๊สหรือเตาอบอาหารในครัว สำหรับเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการจะใช้เวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 160 ซ ก็เพียงพอที่จะทำให้ปราศจากเชื้อ

การเผาให้เป็นเถ้าถ่าน (Incineration) : การทำลายจุลินทรีย์โดยการเผามักได้รับการปฏิบัติเป็นประจำในห้องปฏิบัติการ เช่น เมื่อนำเอาลวดถ่ายเชื้อจ่อเข้าไปในเปลวไฟ สิ่งซึ่งต้องระวังในการเผาลวดถ่ายเชื้อคือการกระเด็นของเชื้อเมื่อถูกความร้อน ดังนั้นจึงควรมีการป้องกันโดยใช้หลอดป้องเปลวไฟ ซึ่งมีช่องให้เส้นลวดแยงลงไปได้ดังรูปที่ 21-7

การเผาให้เป็นเถ้าถ่านถูกใช้เพื่อทำลายซากศพ สัตว์ทดลองที่ติดโรค และวัตถุซึ่งติดเชื้อเพื่อกำจัดทิ้ง สิ่งซึ่งต้องระวังก็คือต้องแน่ใจว่าควันที่ออกมาจะไม่นำพาเอาวัตถุซึ่งมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตติดอยู่ออกไปในบรรยากาศ



รูปที่ 21-7 When a transfer needle is placed in a flame, spattering may occur with resultant spread of living organisms. To prevent this, one can use a Bunsen burner which is modified so that the transfer needle is exposed to a flame within a tubular space, as shown here.

2.2 อุณหภูมิต่ำ

อุณหภูมิซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะทำให้อัตราความเร็วในการเมแทบอลิซึมลดลง และถ้าอุณหภูมิต่ำมากพอการเจริญเติบโตและการเมแทบอลิซึมก็หยุดลง อุณหภูมิต่ำมีประโยชน์ต่อการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถอยู่รอดได้ในสภาพซึ่งเย็นจัด เชื้อบนผิวรุ้นลาดเอียงของแบคทีเรีย ยีนส์ และราบางชนิดมักถูกเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลานานที่อุณหภูมิในตู้เย็นคือ ๔ ถึง ๗ ซ แบคทีเรียและไวรัสหลายชนิดอาจถูกเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็ง (deep freeze unit) ที่อุณหภูมิ -๒๐ ถึง -๗๐ซ. ไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -๑๙๖ ซ ถูกใช้เพื่อเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์และไวรัสหลายชนิดรวมทั้งเซลล์เนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมสำหรับการศึกษาวิชาไวรัสสัตว์และการวิจัยหลายอย่าง ทุกระดับอุณหภูมิเหล่านี้เมื่อเริ่มต้นในการทำให้เย็นจนแข็งประชากรจุลินทรีย์ส่วนหนึ่งจะถูกฆ่าทำลาย แต่ส่วนที่เหลือจะยังคงมีชีวิตอยู่ต่อไปอีกเป็นเวลานาน

จากข้อเท็จจริงดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำไม่อาจนำมาใช้ในขบวนการทำให้ปราศจากเชื้อ (sterilization) หรือฆ่าเชื้อ (disinfection) ได้ จุลินทรีย์ซึ่งถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำจนกลายเป็นน้ำแข็งหรือเกือบเป็นน้ำแข็งอาจถือได้ว่าเป็นจุลินทรีย์พักตัว เนื่องจากตรวจสอบไม่พบกิจกรรมทางเมแทบอลิซึม สภาวะหยุดนิ่งเช่นนี้เป็นพื้นฐานแห่งความสำเร็จในการใช้อุณหภูมิต่ำเพื่อการถนอมรักษาอาหาร ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าอุณหภูมิสูงเป็นสิ่งฆ่าทำลายจุลินทรีย์ (microbicidal) ส่วนอุณหภูมิต่ำ (จนเป็นน้ำแข็งหรือต่ำกว่า) เป็นสิ่งป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์เจริญเติบโต (microbistatic)

2.3 ความแห้ง (Desiccation)

ความแห้งของเซลล์เป็นสาเหตุหนึ่งทำให้กิจกรรมทางเมแทบอลิซึมหยุดลงแล้วตามด้วยการลดลงของประชากรซึ่งมีชีวิต โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงระยะเวลาสำหรับจุลินทรีย์ที่จะมีชีวิตรอดอยู่ต่อไปได้ภายหลังจากการทำให้แห้งขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

1. ชนิดของจุลินทรีย์
2. สิ่งซึ่งต้องการทำให้แห้งโดยมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่ด้วย
3. ความสำเร็จของขบวนการทำให้แห้ง
4. สภาวะทางกายภาพที่จุลินทรีย์แห้งได้สัมผัส เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น

สายพันธุ์ต่าง ๆ ของค๊อคไซแกรมลบ เช่น gonococci และ meningococci มีความอ่อนไหวต่อความแห้งมาก สายพันธุ์เหล่านี้อาจตายภายในไม่กี่ชั่วโมงหลังจากทำให้แห้ง Streptococci มีความทนทานมากกว่า บางชนิดก็ทนอยู่ได้หลายสัปดาห์หลังจากถูกทำให้แห้ง Tubercle bacillus *(Mycobacterium tuberculosis)* ซึ่งแห้งอยู่ในเสมหะจะยังคงมีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นเวลานาน สปอร์ของจุลินทรีย์เป็นที่รู้กันดีว่ามีชีวิตรอดอยู่ได้ในสภาพแห้งโดยไม่มีข้อจำกัด

สำหรับขบวนการ lyophilization จุลินทรีย์จะถูกทำให้แห้งผากในขณะเย็นจัดแล้วปิดผนึกไว้ในสูญญากาศ สภาวะเช่นนี้เชื้อแห้ง (lyophilized culture) ของจุลินทรีย์ยังคงมีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นเวลาหลายปี

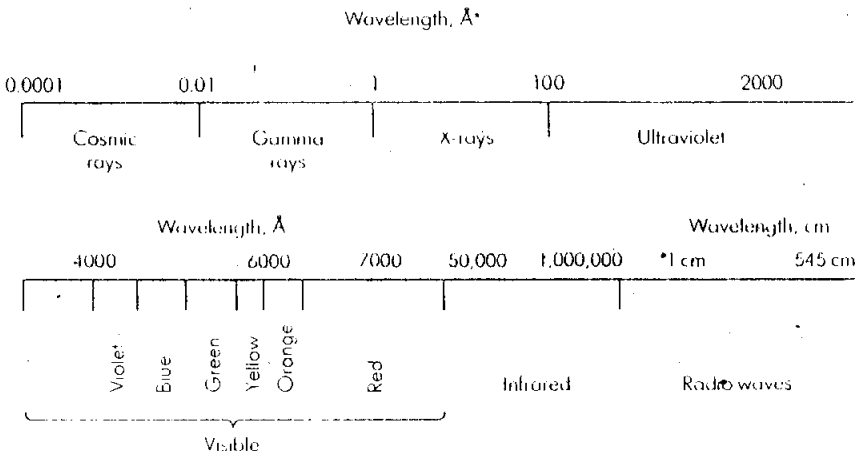
2.4 แรงดันออสโมซิส (Osmotic Pressure)

เมื่อสารละลายสองชนิดซึ่งมีตัวถูกละลายเข้มข้นแตกต่างกันถูกกั้นแบ่งด้วยเยื่อกึ่งซึม (semipermeable membrane) ก็จะเกิดการไหลของน้ำผ่านเยื่อดังกล่าวไปยังสารละลายที่เข้มข้นมากกว่า โดยมีแนวโน้มที่จะทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายทั้งสองข้างมีค่าเท่ากัน ตัวถูกละลายในเซลล์จุลินทรีย์มีความเข้มข้นประมาณ 0.95 เปอร์เซนต์ • ถ้าเซลล์แช่อยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงกว่าน้ำจะไหลออกจากเซลล์ ขบวนการนี้ถูกเรียกว่า plasmolysis ส่วนขบวนการที่กลับกันคือน้ำไหลเข้าไปในเซลล์เนื่องจากนอกเซลล์มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายน้อยกว่าจะถูกเรียกว่า plasmoptysis ความดันที่เกิดขึ้นภายในเซลล์อันเนื่องจากมีน้ำเข้าไปถูกเรียกว่าแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) ปรากฏการณ์เหล่านี้สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนจากเซลล์สัตว์เนื่องจากไม่มีผนังเซลล์แข็งช่วยป้องกันการเสียรูป plasmolysis มีผลทำให้เซลล์แห้งและลำดับต่อมาขบวนการเมแทบอลิซึมบางส่วนหรือทั้งหมดก็ถูกยับยั้ง ผลในการต่อต้านจุลินทรีย์จึงคล้ายกับการทำให้แห้ง เนื่องจากผนังเซลล์ของจุลินทรีย์นั้นแข็งมาก (ยกเว้นโปรโตซัว) โครงสร้างผนังเซลล์จึงช่วยให้เซลล์ไม่แสดงการเสียรูปทรงเมื่อเกิดปรากฏการณ์ plasmolysis หรือ plasmoptysis อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์โดยเฉพาะการหดเหี่ยวของ protoplast จากผนังเซลล์อาจสังเกตุเห็นได้ในระหว่างการ plasmolysis

2.5 รังสี (Radiation)

พลังงานรูปแบบต่าง ๆ ที่สามารถถ่ายทอดผ่านความว่างเปล่า เช่น อวกาศหรือสูญญากาศได้โดยไม่ต้องมีสื่อนำพาไปจะถูกเรียกว่า รังสี (radiation) ประเภทของรังสีที่มีความสำคัญสำหรับวิชานี้ คือ รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ได้แก่ แสง และ x-rays เป็นต้น รังสีแม่เหล็กไฟฟ้ามีลักษณะสองประการคือ เป็นคลื่นต่อเนื่องและเป็นอนุภาคไม่ต่อเนื่อง อนุภาค

ก็คือ หีบห่อพลังงานหรือ quanta of energy บางครั้งก็เรียกว่า photon ซึ่งมีการสั่นสะเทือนด้วยความถี่ต่าง ๆ กัน รังสีที่ความถี่หนึ่งอาจแสดงออกโดยความยาว ช่วงคลื่น (λ) ของมันโดยมีหน่วยวัดเป็นอังสตรอม ซึ่ง 10,000 Å = 1 μm และพลังงานของรังสีถูกวัดเป็นอีเล็กตรอนโวลต์ (ev) ซึ่งกำหนดโดย 12,350/ λ แถบต่าง ๆ ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าถูกจำแนกโดยความยาวช่วงคลื่นดังแสดงในรูปที่ 21-8



รูปที่ 21-8 Spectrum of radiant energy. (1 Å = 0.1 nm.)

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าอาจกระทำต่อสสารได้สองวิถีทาง ในกรณีของรังสีแกมม่าและรังสีเอ๊กซ์มีพลังงานมากกว่า 10 ev จะถูกเรียกว่า ionizing radiation เนื่องจากมีพลังงานมากพอที่จะผลักดันอีเล็กตรอนให้หลุดออกจากโมเลกุลและไอออนไนซ์โมเลกุล ดังนั้นเมื่อรังสีเหล่านี้พุ่งผ่านเซลล์ก็จะทำให้เกิด hydrogen radical อิสระ hydroxyl radical อิสระ และ peroxide บางอย่าง สามารถทำให้เกิดความเสียหายขึ้นภายในเซลล์ เนื่องจากความเสียหายเกิดขึ้นกับสารหลายอย่าง ดังนั้น ionizing radiation จึงมีผลต่อเซลล์อย่างไม่เฉพาะเจาะจง ส่วนรังสีที่มีพลังงานน้อยกว่าโดยเฉพาะแสงอุลตร้าไวโอเลตจะไม่ทำให้เกิดการไอออนไนซ์แต่จะถูกดูดซับโดยสารประกอบต่าง ๆ เนื่องจากแสงอุลตร้าไวโอเลตกระตุ้นอีเล็กตรอนทำให้อีเล็กตรอนมีระดับพลังงานสูงขึ้น ดังนั้นจึงทำให้คุณสมบัติทางเคมีของสารเปลี่ยนไปสามารถทำปฏิกิริยาเคมีได้หลายอย่าง โดยไม่อาจเกิดขึ้นได้กับโมเลกุลที่ไม่ถูกกระตุ้น

นอกจากรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าจุลินทรีย์อาจถูกกระทำโดยคลื่นเสียงและอนุภาคที่แตกย่อยออกจากอะตอม เช่น อนุภาคที่ปล่อยออกจากการสลายตัวของสารกัมมันตภาพรังสี ยุคปรมณูทำให้มนุษย์ระมัดระวังศักยภาพการทำลายของรังสี ได้มีการลงทุนวิจัยอย่างมหาศาลเพื่อตรวจสอบขนาดต่ำสุดของรังสีที่มีผลต่อเซลล์ รังสีทำให้เซลล์เสียหายอย่างไร และความเสียหายนั้นอาจถูกป้องกันได้อย่างไร จุลินทรีย์ถูกใช้เป็นส่วนสำคัญสำหรับการวิจัยนี้ด้วยเหตุผลเดียวกันกับที่จุลินทรีย์ได้ถูกใช้เพื่อการวิจัยทางชีววิทยาพื้นฐานอย่างอื่น คือ เจริญเติบโตได้ง่ายและรวดเร็วทำให้ระยะเวลาในการทดลองสั้นลง

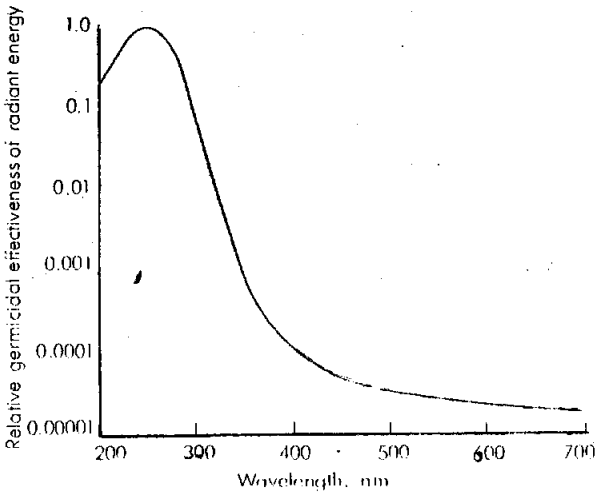
นอกเหนือจากการวิจัยพื้นฐานทางจุลชีววิทยาเกี่ยวกับรังสีแล้ว ยังได้มีการปรับปรุงการใช้รังสี ionizing radiation ในการสเตอริไลซ์วัตถุทางชีววิทยาต่าง ๆ วิธีการนี้ถูกเรียกว่า cold sterilization เนื่องจาก ionizing radiation ทำให้เกิดความร้อนขึ้นในวัตถุที่ถูกฉายรังสีน้อยมาก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะสเตอริไลซ์วัตถุที่อ่อนไหวต่อความร้อนและเทคนิคนี้ได้ถูกปรับปรุงมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา

2.5.1 แสงอุลตร้าไวโอเลต

ส่วนของแสงอุลตร้าไวโอเลตในแถบคลื่นตามรูปที่ 21-8 ประกอบด้วยทุกรังสีจาก 150 ถึง 3900 Å ความยาวช่วงคลื่นประมาณ 2650 Å มีประสิทธิภาพในการฆ่าทำลายแบคทีเรียมากที่สุด (รูปที่ 22-9) แสงอาทิตย์มีแสงอุลตร้าไวโอเลตปนอยู่ด้วยบางส่วน ช่วงคลื่นซึ่งสั้นมากของแสงอุลตร้าไวโอเลตในแสงอาทิตย์จะถูกกรองเอาไว้โดยบรรยากาศของโลก (เนื่องจากโอโซน เมฆ และควัน) แต่แสงอุลตร้าไวโอเลตที่ส่องผ่านมาถึงผิวโลกจะถูกจำกัดอยู่ในช่วงคลื่นประมาณ 2670 ถึง 3900 Å ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าแสงอาทิตย์ภายใต้สภาวะบางอย่างมีคุณสมบัติในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ แต่ก็อยู่ในขอบเขตจำกัด

หลอดไฟหลายชนิดสามารถเปล่งแสงอุลตร้าไวโอเลตได้ด้วยความเข้มสูงในช่วง 2600 ถึง 2700 Å จึงสามารถฆ่าทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หลอดไฟฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเปล่งแสงอุลตร้าไวโอเลตได้ถูกใช้อย่างกว้างขวางในการลดประชากรจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น ใช้ในห้องผ่าตัดของโรงพยาบาล ในห้องบรรจุปลอดเชื้อ ในอุตสาหกรรมยารักษาโรคเมื่อผลผลิตปราศจากเชื้อถูกแบ่งบรรจุในหลอดเล็ก ๆ และในอุตสาหกรรมอาหารและนมเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่พื้นผิว

สิ่งซึ่งต้องคำนึงถึงในการใช้แสงอุลตร้าไวโอเลตทำลายจุลินทรีย์ก็คือ แสงอุลตร้าไวโอเลตมีความสามารถทะลุทลวงวัตถุน้อยมาก แม้แต่กระจกแก้วบาง ๆ ก็สามารถกรองแสงอุลตร้าไวโอเลต



รูปที่ 21-9 Relative germicidal effectiveness of radiant energy between 2000 and 7000 Å. (*Courtesy of General Electric Company, Lamp Division, Publication LD-11.*)

ออกได้หลายเปอร์เซนต์ ดังนั้นแสงอุลตร้าไวโอเลตจึงฆ่าทำลายจุลินทรีย์เฉพาะที่ผิวของวัตถุเท่านั้น

กลวิธีกระทำ : แสงอุลตร้าไวโอเลตถูกดูดซับด้วยสิ่งต่าง ๆ หลายอย่างของเซลล์ แต่ถูกดูดซับมากที่สุดโดยกรดนูคลีอิก และกรดนูคลีอิกก็เสียหายมากที่สุดเช่นกัน การดูดซับและการเกิดปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นกับ pyrimidene ที่อยู่ติดกันสองโมเลกุลทำให้เกิดมีบอนด์เชื่อมต่อกัน ตราบใดที่ dimer นี้ยังไม่ถูกกำจัดโดยเอนไซม์ภายในเซลล์ก็จะเกิดการผ่าเหล่าและการจำลองเส้น DNA อาจถูกยับยั้ง

Photoreactivation : เป็นปรากฏการณ์ฟื้นคืนชีพของจุลินทรีย์ภายหลังจากที่ถูกทำลายด้วยแสงอุลตร้าไวโอเลต เมื่อนำจุลินทรีย์เหล่านี้มาฉายด้วยแสงสว่างธรรมดาที่ตามองเห็นหรือเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง จุลินทรีย์บางเซลล์ที่ DNA ได้รับความเสียหายจากแสงอุลตร้าไวโอเลตไม่มากนักก็อาจซ่อมแซม DNA ส่วนที่ได้รับความเสียหายให้กลับคืนสู่สภาพปกติได้และสามารถเจริญเติบโตได้เช่นเซลล์ปกติ

Dark Reactivation : เป็นปรากฏการณ์ทำนองเดียวกันกับ photoreactivation แต่จุลินทรีย์บางชนิดบางเซลล์เมื่อถูกทำลายด้วยแสงอุลตร้าไวโอเลตแล้วอาจฟื้นคืนชีพได้เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในที่มืด

2.5.2 X-Rays (Roentgen Rays)

รังสีเอ๊กซ์เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตชั้นสูงถึงขนาดทำให้ตายได้ (ดูตารางที่ 21-6) แตกต่างจากแสงอุลตร้าไวโอเลต คือ รังสีเอ๊กซ์มีพลังงานและอำนาจทะลุทะลวงสูง อย่างไรก็ตามก็ยังไม่เหมาะที่จะนำเอามาใช้ในการควบคุมประชากรจุลินทรีย์เนื่องจาก (1) มี

ราคาแพงที่จะผลิตในปริมาณมาก (2) ยากที่จะใช้ให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากรังสีกระจายออกไปทุกทิศทางจากจุดกำเนิด อย่างไรก็ตามรังสีเอ๊กซ์ถูกใช้อย่างกว้างในการทดลองเพื่อทำให้เกิดจุลินทรีย์ผ่าเหล่า

ตารางที่ 21-6 Median Lethal Dose of X-Rays for Various Species of Organisms.

Organism		Median Lethal Dose, rd*
Viruses:	Tobacco mosaic	200,000
	Rabbit papilloma	100,000
Bacteria:	*Escherichia coli*	5,000
	Bacillus mesentericus	130,000
Algae:	*Mesotenium*	8,500
	Pandorina	4,000
Protozoa:	*Colpidium*	330,000
	Paramecium	300,000
Vertebrates:	Goldfish	750
	Mouse	450
	Rabbit	800
	Rat	600
	Monkey	450
	Humans (?)	400

* A rad (radiation absorbed dose), abbreviated rd, is the dose which delivers 100 ergs/g of irradiated material; it is equal to 6×10^{13} eV.

SOURCE: Modified from E. Paterson, in R. Paterson (ed.), *The Treatment of Malignant Disease by Radium and X Rays*, E. Arnold, London, 1948; *McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology*, vol. 11, p. 244, McGraw-Hill, New York, 1971.

2.5.3 Gamma Rays

รังสีแกมม่าเป็นรังสีที่มีพลังงานสูง ซึ่งเปล่งออกมาจากไอโซโธพกัมมันตภาพรังสีบางชนิดเช่น Co 60 ไอโซโธพกัมมันตภาพรังสีจำนวนมากถูกผลิตขึ้นเป็นผลพลอยได้จากการแตกตัวของอะตอม ไอโซโธพเหล่านี้มีศักย์ภาพเป็นแหล่งของรังสีแกมม่า รังสีแกมม่าก็คล้ายกับรังสีเอ๊กซ์แต่มีช่วงคลื่นสั้นกว่าและมีพลังงานสูงกว่า มีความสามารถทะลุทะลวงวัตถุสูงและทำอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ให้ถึงตายได้

เนื่องจากมีอำนาจในการทะลุทะลวงสูงและมีผลในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ รังสีแกมม่าจึงเป็นที่สนใจเพื่อนำมาใช้ในการสเตอริไลซ์วัตถุที่มีความหนาหรือมีปริมาตรมากในเชิงการค้า เช่น หีบห่ออาหาร และเครื่องมือแพทย์ อย่างไรก็ตาม ยังมีปัญหาทางเทคนิคในเชิงปฏิบัติหลายอย่างที่จะต้องแก้ไข เช่น การปรับปรุงแหล่งของรังสีเพื่อใช้ในงานขนาดใหญ่และการออกแบบเครื่องมือเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายในการใช้งาน

จากการศึกษาถึงผลกระทบต่อเซลล์ของ ionizing radiation พบว่าอนุภาพพลังงานรังสีตีกระทบโดยตรงต่อสารสำคัญบางอย่าง เช่น DNA ภายในเซลล์แบคทีเรียทำให้เกิดการไอออนไนเซชั่นมีผลทำให้เซลล์ตาย

2.5.4 Cathode Rays (Electron-Beam Radiation)

เมื่อคาโธด (cathode) และแอโนด (anode) ในหลอดสูญญากาศถูกทำให้มีความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงคาโธดจะเปล่งลำอีเล็กตรอนออกมาเรียกว่ารังสีคาโธด (cathode rays) เครื่องมือพิเศษได้ถูกออกแบบมาเพื่อทำให้สามารถผลิตลำอีเล็กตรอนออกมาด้วยความเข้มสูงมาก(หลายล้านโวลต์) และอีเล็กตรอนนีจะถูกเร่งให้มีความเร็วสูงมาก ลำอีเล็กตรอนเข้มและถูกเร่งนี้มีคุณสมบัติในการฆ่าทำลายจุลินทรีย์ และมีผลอย่างอื่นต่อวัตถุทางชีววิทยาและวัตถุอื่นที่ไม่เกี่ยวกับทางชีววิทยา

ตารางที่ 21-7 Lethal Doses of Different Radiations

	Lethal Doses, mrd			
Type of Organism	Cathode Rays from van de Graaff Accelerators*	From Capacitron Pulsed Beam†	Gamma Rays from ^{60}Co	X-rays from 3-MeV Source
Vegetative:				
Nonpathogenic	0.1–0.25			
Pathogenic	0.45–0.55	0.1–0.25	0.15–0.25	0.03–0.5
Bacterial spores	0.5–2.1	0.2–0.4	1.5‡	0.5–2.0
Molds	0.25–1.15	0.35–0.4	0.2–0.3	0.25–1.0
Yeasts	0.5–1.0		0.3	0.25–1.5

* Various authors.
† Huber and colleagues, quoted by Hannan, 1955.
‡ Approximate.
SOURCE: G. Sykes, "Methods and Equipment for Sterilization of Laboratory Apparatus and Media," in J. R. Norris and D. W. Ribbons (eds.), *Methods in Microbiology*, vol. 1, Academic, New York, 1969.

เครื่องเร่งอีเล็กตรอนซึ่งทำให้เกิดลำอีเล็กตรอนความเข้มสูงปัจจุบันได้ถูกนำมาใช้เพื่อการสเตอริไลซ์เครื่องมือผ่าตัด ยา และวัตถุอื่น ลักษณะอย่างหนึ่งที่สำคัญของขบวนการนี้ก็คือวัตถุอาจถูกสเตอริไลซ์ได้ภายหลังจากบรรจุหีบห่อแล้ว (เนื่องจากรังสีสามารถทะลุทะลวงผ่านหีบห่อได้) และสามารถกระทำได้ที่อุณหภูมิห้อง รังสีลำอีเล็กตรอนมีอำนาจทะลุทะลวงอยู่ในขอบเขตจำกัดแต่ถ้าอยู่ในขอบเขตที่รังสีผ่านเข้าไปได้การสเตอริไลซ์จะสมบูรณ์ด้วยการฉายรังสีภายในเวลาอันสั้น

การตกอยู่ภายใต้อำนาจของรังสีขนาดต่าง ๆ โดยจุลินทรีย์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 21-7

2.6 คลื่นเสียง (Sonic and Ultrasonic Waves)

คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงมากจะถูกเรียกว่า อูลตร้าโซนิคเวฟ (Ultrasonic wave) คลื่นเสียงมีผลทำให้โมเลกุลของสารสั่นสะเทือน ซึ่งถ้าสั่นสะเทือนด้วยความถี่สูงมากก็มีผลทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์แตกได้ อุปกรณ์ซึ่งใช้ในห้องปฏิบัติการมีชื่อเรียกว่า sonicator ถูกนำมาใช้เพื่อเตรียมน้ำหรือสิ่งสกัดจากเซลล์

2.7 กระแสไฟฟ้า (Electricity)

ได้มีผู้พยายามนำกระแสไฟฟ้ามาใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ โดยจุ่มขั้วไฟฟ้าลงในของเหลวที่มีจุลินทรีย์แขวนลอยอยู่ ปรากฏว่าปัจจัยที่มีผลทำให้จุลินทรีย์ตายก็คือความร้อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากกระแสไฟฟ้าไหลผ่าน

2.8 แรงตึงผิวและแรงตึงระหว่างผิว (Surface Tension and Interfacial Tension)

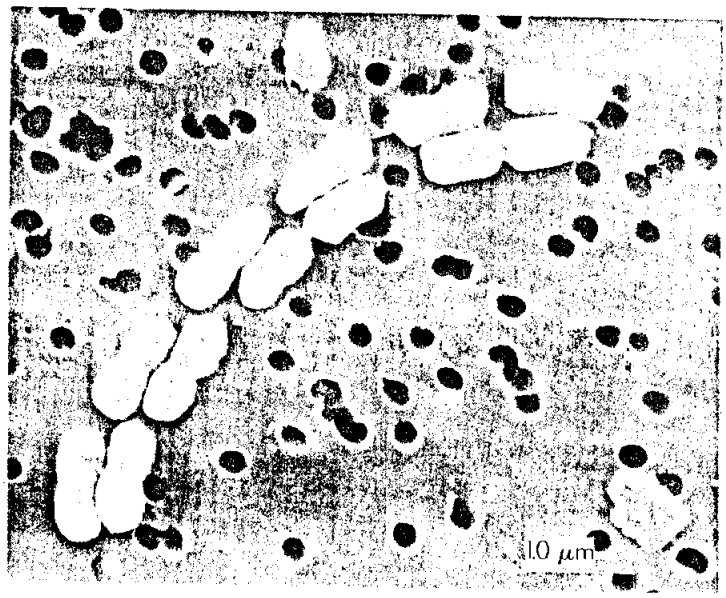
ผิวประชิดหรือขอบเขตระหว่างของเหลวกับแก๊สถูกจำแนกโดยความไม่สมดุลย์ของแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ผิวของของเหลวกับโมเลกุลที่อยู่ข้างใน โมเลกุลหนึ่งที่ผิวของพื้นผิวประชิดระหว่างของเหลวกับอากาศจะถูกดึงอย่างเหนียวแน่นเข้าสู่เนื้อในของเหลว ส่วนโมเลกุลอื่นที่อยู่ภายในเนื้อในของเหลวจะถูกดึงดูดอย่างสม่ำเสมอในทุกทิศทาง พฤติกรรมของแรงดึงโมเลกุลที่พื้นผิวประชิดระหว่างของเหลวกับอากาศนี้ถูกเรียกว่าแรงตึงผิว (surface tension) นอกจากนี้แรงที่ผิวยังเกิดขึ้นตรงผิวประชิดระหว่างของเหลวกับของเหลวที่ไม่ผสมรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันและที่ผิวประชิดระหว่างของแข็งกับของเหลว แรงเช่นนี้ถูกเรียกว่าแรงตึงระหว่างผิว (Interfacial Tension) การเปลี่ยนแปลงแรงตึงผิวอาจเปลี่ยนแปลงลักษณะการซึมซับของเยื่อหุ้มเซลล์ อันมีผลทำให้สิ่งที่อยู่ในเซลล์รั่วออกมาทำให้เซลล์ได้รับความเสียหาย เช่น สบู่ทำให้แรงตึงผิวของของเหลวลดลงเป็นต้น

2.9 การกรอง (Filtration)

หลายปีมาแล้วที่ได้มีการประดิษฐ์เครื่องกรองแบบต่าง ๆ เพื่อใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ออกจากของเหลวและก๊าซ เครื่องกรองเหล่านี้ถูกจัดทำขึ้นจากวัสดุต่าง ๆ กัน เช่น แผ่นแอสเบสตอสใน Seitz filter ดินเปลือกไดอะตอม (diatomaceous earth) ใน Berkefelf filter กระเบื้องพอลซีเลนใน Chamberland-Pasteur filter และแผ่นแก้วพรุน (sintered glass) ในเครื่องกรองแบบอื่น

เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของรูพรุนกรองแบคทีเรียอยู่ในช่วงประมาณตั้งแต่หนึ่งถึงหลายไมโครมิเตอร์ เครื่องกรองส่วนใหญ่ได้ถูกจัดเตรียมไว้หลายระดับหรือหลายเกรดขึ้นอยู่กับขนาดเฉลี่ยของรูพรุน อย่างไรก็ตาม ควรเข้าใจไว้ด้วยว่าเครื่องกรองเหล่านี้ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นเพียงแค่ตระแกรงทางกลเท่านั้น ความเป็นรูพรุนไม่ได้เป็นปัจจัยเดียวที่ป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ลอดผ่าน ยังมีปัจจัยอื่นอีกเช่น ประจุไฟฟ้าของรูพรุน ประจุไฟฟ้าที่ตัวจุลินทรีย์เองและธรรมชาติของของเหลวที่ถูกกรอง ปัจจัยเหล่านี้อิทธิพลต่อประสิทธิภาพของการกรอง

เมื่อไม่กี่ปีมานี้ได้มีเครื่องกรองแบบใหม่ที่เรียกว่า membrane หรือ molecular filter ซึ่งถูกปรับปรุงให้มีรูโตสม่ำเสมอกันและกำหนดขนาดของรูให้เป็นที่แน่นอนได้ เครื่องกรองแบบนี้ประกอบด้วยเซลลูโลสเอสเทอร์ซึ่งเฉื่อยชาทางชีววิทยา ถูกนำมาอัดเป็นแผ่นกลมมีความหนาประมาณ 150 ไมโครมิเตอร์และมีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากันหลายล้านรู ขนาดเส้นผ่า

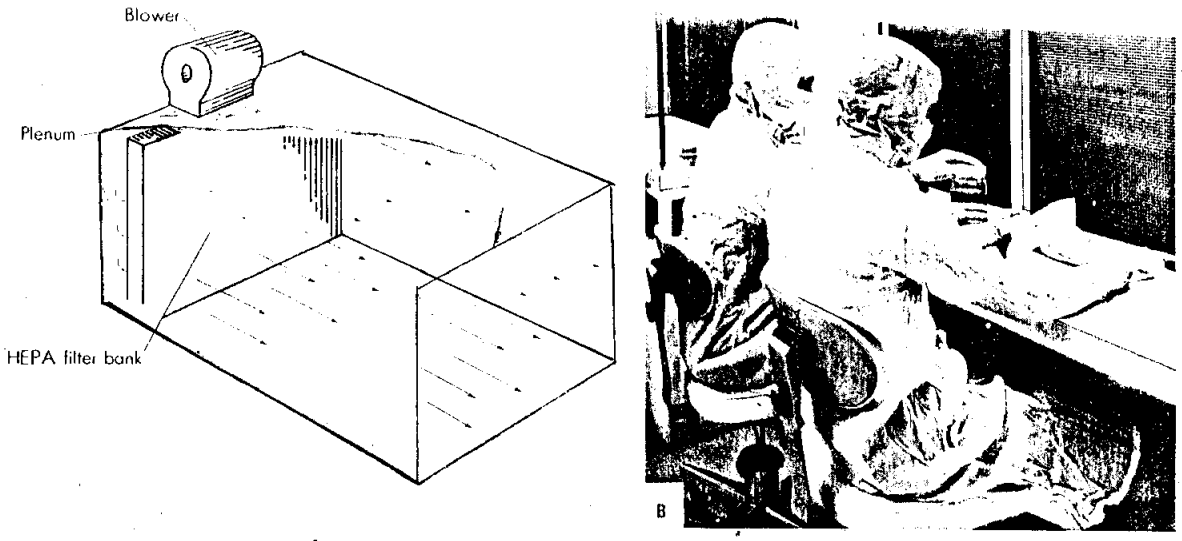


รูปที่ 21-10 Bacteria from a marine water sample are retained by this membrane filter. (*Courtesy of Pall Corporation.*)

ศูนย์กลางของรูอาจถูกทำให้มีขนาดได้ตั้งแต่ 0.01 ถึง 10 ไมโครมิเตอร์ Membrane filter ถูกใช้อย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการและในอุตสาหกรรมเพื่อการสเตอริไลซ์ของเหลว และได้ถูกประยุกต์ใช้ในวิธีการทางจุลชีววิทยาเพื่อการชันสูตรและนับจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำหรือในวัตถุอย่างอื่น

เพื่อบังคับให้ของเหลวไหลผ่านแผ่นกรองซึ่งมีรูพรุนเล็กมากจำเป็นต้องใช้ความดันซึ่งอาจใช้ความดันลบทำให้เกิดขึ้นในฟลาสค์กรองที่ใช้รองรับของเหลว โดยเครื่องดูดสูญญากาศหรือเครื่องดูดแบบใช้น้ำ หรือใช้ความดันบวกอัดให้ของเหลวที่อยู่เหนือแผ่นกรองไหลผ่านแผ่นกรอง สำหรับของเหลวที่กรองแล้วจำเป็นจะต้องป้องกันไม่ให้มีการปนเปื้อนโดยการสเตอริไลซ์เครื่องกรองเสียก่อนที่จะนำมาใช้

สำหรับเครื่องกรองอากาศแบบที่พิถีพิถัน (high-efficiency particulate air filter) หรือที่เรียกย่อว่า HEPA filter สามารถปล่อยอากาศที่สะอาดเข้าสู่ห้องหรือตู้ได้เป็นอย่างดี เครื่องกรองแบบนี้ถูกนำมาใช้ร่วมกับระบบการทำให้อากาศไหลผ่านไปทางเดียวกัน (laminar airflow) เพื่อใช้กำจัดจุลินทรีย์และฝุ่นละอองออกจากอากาศอย่างกว้างขวาง (รูปที่ 21-11)



รูปที่ 21-11 Laminar-airflow system. (A) Schematic drawing of horizontal laminar-flow tunnel. Arrows in tunnel denote parallel flow of air through a room. (*Redrawn from M. S. Favero, "Industrial Applications of Laminar Air-flow," in Developments in Industrial Microbiology, American Institute of Biological Sciences, Washington, 1970, vol. 11.*) (B) Laboratory personnel performing sterility test in laminar-airflow unit. (*Courtesy of B. Phillips, Becton, Dickinson & Company.*)

การใช้ปัจจัยทางกายภาพเพื่อควบคุมจุลินทรีย์ได้สรุปไว้เป็นตารางดังในตารางที่ 21-8

ตารางที่ 21-8 Application of Physical Agents for Controlling Microorganisms

Method	Recommended Uses	Limitations
Moist heat		
Autoclave	Sterilizing instruments, linens, utensils, and treatment trays, media and other liquids	Ineffective against organisms in materials impervious to steam; cannot be used for heat-sensitive articles
Free-flowing steam or boiling water	Destruction of nonsporeforming pathogens; sanitizes bedding, clothing, and dishes	Cannot be guaranteed to produce sterilization on one exposure
Dry heat		
Hot-air oven	Sterilizing materials impermeable to or damaged by moisture, e.g., oils, glass, sharp instruments, metals	Destructive to materials which cannot withstand high temperatures for long periods
Incineration	Disposal of contaminated objects that cannot be reused.	Size of incinerator must be adequate to burn largest load promptly and completely; potential of air pollution
Radiation		
Ultraviolet light	Control of airborne infection; disinfection of surfaces	Must be absorbed to be effective (does not pass through transparent glass or opaque objects); irritating to eyes and skin; low penetration
X-ray, gamma, and cathode radiation	Sterilization of heat-sensitive surgical materials and other medical devices	Expensive and requires special facilities for use
Filtration		
Membrane filters	Sterilization of heat-sensitive biological fluids	Fluid must be relatiely free of suspended particulate matter
Fiberglass filters (HEPA)	Air disinfection	Expensive
Physical cleaning		
Ultrasonics	Effective in decontaminating delicate cleaning instruments	Not effective alone, but as adjunct procedure enhances effectiveness of other methods
Washing	Hands, skin, objects	Sanitizes; reduces microbial flora