

การพัฒนาเทคนิคการเตรียมสารอิมัลชันไข่แดง เพื่อใช้ทดสอบการสร้างเอนไซม์ เลคซิทีเนสของเชื้อ *Bacillus cereus* สำหรับปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยาอาหาร Development of the Egg Yolk Emulsion Preparing Technique for the Detection of Lecithinase Production of *Bacillus cereus* in the Food Microbiology

เสาวคนธ์ ต่วนเทศ^{1*} และ พัฒนา เหมะรุรินทร์¹
Sowvakon Tuanted^{1*} and Phatthana Hemathulin¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการเตรียมสารอิมัลชันไข่แดง เพื่อใช้ทดสอบการสร้างเอนไซม์เลคซิทีเนสของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารสำหรับปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยาอาหาร การทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการที่ใช้ในการแยกไข่แดง 3 วิธี ได้แก่ 1) เจาะเปลือกไข่ให้เป็นรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร และดึงไข่ขาวออกจนกว่าจะหมด จากนั้นแกะเปลือกไข่ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตรเพื่อนำไข่แดงออกมา; 2) การแยกไข่แดงโดยแยกเปลือกไข่ออกเป็น 2 ส่วนแล้วทิ้งไปมา และ 3) การแยกไข่แดงโดยใช้ช้อนสแตนเลสปลอดเชื้อ โดยประเมินสภาวะปลอดเชื้อของอิมัลชันไข่แดงที่เตรียมได้พบว่า มีเพียงอิมัลชันจากไข่แดงที่แยกตามวิธีที่ 1 ที่ไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เมื่อทดสอบคุณภาพของสารอิมัลชันปลอดเชื้อที่เตรียมได้ โดยนำสารอิมัลชันไข่แดงมาใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Egg Yolk Polymyxinagar (MYP agar) เพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์เลคซิทีเนสโดยแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 1527 เปรียบเทียบกับอิมัลชันไข่แดงสำเร็จรูปทางการค้าที่เป็นชุดควบคุมตามวิธีตรวจสอบของ ISO 11133-2:2014 จากผลการทดสอบด้วยวิธี Qualitative streaking method พบว่า มีค่าคะแนนการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสมสารอิมัลชันไข่แดงที่เตรียมได้เท่ากับ 2 คะแนน และผลทดสอบด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method พบว่า มีค่า Productivity ratio (P_R) และค่า Selective ratio (S_F) = 0.72 และ 0 ตามลำดับ ($p < 0.05$) แสดงว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่มีส่วนผสมของสารอิมัลชันไข่แดงที่เตรียมได้ มีคุณภาพเทียบเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารอิมัลชันไข่แดงแบบสำเร็จรูป ทั้งด้านคุณภาพและปริมาณตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014 เมื่อนำสารอิมัลชันจากไข่แดงที่เตรียมด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใช้ทดแทนอิมัลชันไข่แดงสำเร็จรูปทางการค้าทำให้ลดงบประมาณได้ 13,596.00 บาทต่อภาคการศึกษา ทำให้มีงบประมาณในการซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วชนิดอื่นที่จำเป็นได้เพียงพอและส่งผลกระทบต่อระดับความพึงพอใจของนิสิตด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้วให้เพิ่มขึ้นจากระดับปานกลาง (3.44) เป็นระดับดี (4.30) ($p < 0.05$) อีกทั้งยังสามารถถ่ายทอดเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้แก่นิสิตและนักวิทยาศาสตร์นำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

คำสำคัญ: สารอิมัลชันไข่แดง เอนไซม์เลคซิทีเนส ปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหาร บาซิลลัส ซีเรียส

Abstract

The objective of this research was to develop egg yolk emulsion preparation technique for lecithinase production test in food pathogenic bacteria. The effectiveness of three egg yolk preparation methods was compared. Egg yolk was separated from albumin by

¹ คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร 47000

¹ Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon, 47000

*Corresponding author: e-mail: sowvakon_foodtech@hotmail.com

Received: 6 July 2019, Revised: 19 July 2019, Accepted: 26 July 2019, Published: 23 August 2019

1) making 1.5 cm. diameter hole on the egg shell to get rid of albumin. Then peel the egg shell to a diameter of 3.0 cm to bring the yolk out, 2) Pry the shell apart and pour the yolk into one half of the shell, and 3) using sterilized stainless spoon. Sterilization of egg yolk emulsion quality assessment of egg yolk emulsion was determined using ISO 11133-2:2014. The result showed that only egg yolk prepared by the first method was still sterile. The prepared egg yolk emulsion was used for Mannitol Egg Yolk Polymyxinagar (MYP agar) preparation for the detection of lecithinase production in *Bacillus cereus* TISTR 1527 compared to commercial egg yolk emulsion. The results from qualitative streaking method showed that bacteria growth score of *Bacillus cereus* TISTR 1527 on MYP agar was 2. Quantitative plating method was also reported. Productivity ratio (P_R) and Selective ratio (S_F) were 0.72 and 0, respectively. This study concluded that MYP agar medium with prepared egg yolk emulsion has the same quality as commercial medium in both quality and quantity according to ISO 11133-2:2014. The developed emulsion from egg yolk could be used instead of commercial egg yolk emulsion and save 13,596.00 bath per semester. Therefore, other scientific equipment could be acquired by this amount of budget. when the students evaluated the satisfaction from of the scientific equipment in the microbiology laboratory. Studentssatisfaction level increased from moderate level (3.44) to good level (4.12). Moreover, students and other researchers could use this technique to apply for other works.

Keywords: egg yolk emulsion, lecithinase, food microbiology laboratory, *Bacillus cereus*

บทนำ

ด้วยคณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร ได้เปิดการเรียนการสอนในรายวิชาจุลชีววิทยาอาหาร ภาคปฏิบัติการ จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหารภาคปฏิบัติการ และเทคนิคการวิจัย ในบทปฏิบัติการเรื่อง การวิเคราะห์เชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* นั้นจำเป็นต้องใช้ Egg yolk emulsion ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์เลคิทิเนสซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายรายวิชา พบว่า การจัดซื้อ Egg yolk emulsion นั้นใช้งบประมาณคิดเป็น 30.91% ของงบประมาณทั้งหมดของรายวิชาจุลชีววิทยาอาหาร และจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหารภาคปฏิบัติการ จากผลการสำรวจความพึงพอใจการใช้ห้องปฏิบัติการ ด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ในปีการศึกษา 2554-2556 พบว่า มีระดับคะแนนความพึงพอใจเฉลี่ยอยู่ในระดับปานกลางและในทุก ๆ ปีจะมีข้อเสนอแนะว่า อุปกรณ์เครื่องแก้วไม่เพียงพอ ทำให้เกิดแนวคิดที่จะช่วยลดงบประมาณดังกล่าว และนำงบประมาณที่ประหยัดได้มาจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วให้เพียงพอต่อความต้องการของนิสิต

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน ซึ่งสร้างสปอร์และเคลื่อนที่ได้ ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ พบบ่อยในดิน และพืช (Granum, 2001) เป็นเชื้อก่อโรคในอาหารที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ พวกที่สร้างสารพิษจำพวก emetic toxin ซึ่งเชื่อจะสร้างสารพิษขึ้นในอาหาร ทำให้ผู้ที่บริโภคอาหารเข้าไปเกิดการอาเจียน และพวกที่สร้างสารพิษจำพวก enterotoxin โดยผู้บริโภคมะบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของเชื้อเข้าไป และเพิ่มจำนวนในลำไส้ของผู้บริโภคทำให้เกิดอาการถ่ายเหลว (Khaleque and Bari, 2016)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Egg Yolk Polymyxinagar เป็นอาหารที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Bacillus cereus* ซึ่งเตรียมได้โดยต้องผสม 0.1% Polymyxin B solution และ 50% Egg yolk emulsion ในอัตราส่วนที่กำหนด (Tallent et al., 2012) ซึ่ง Egg yolk emulsion เป็นส่วนประกอบที่ใช้เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการศึกษาการสร้างเอนไซม์เลคิทิเนสของเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อ

โรคในอาหาร วิธีการเตรียมสาร Egg yolk emulsion ตามวิธีการขององค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ทำได้โดยล้างทำความสะอาดไข่สด 2 ครั้ง จากนั้นแช่ไข่ใน 70% ethanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แยกไข่แดงด้วยวิธีปลอดเชื้อใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ ทำการเติม 0.85% ของสารละลายเกลือในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากันจะได้เป็น 50% Egg yolk emulsion (U.S. Food and Drug Administration, 2001) ซึ่งเทคนิคการแยกไข่แดงแบบปลอดเชื้อตามวิธีขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ไม่ได้ระบุขั้นตอนอย่างละเอียด ซึ่งต้องคิดค้นและอาศัยความชำนาญของผู้ปฏิบัติงานในการแยกไข่แดง ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหาร และปฏิบัติการจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหารจะต้องใช้ส่วนผสมจาก Egg yolk emulsion จำนวน 1,000 มิลลิลิตรต่อภาคการศึกษา เมื่อสั่งซื้อแบบสำเร็จรูปจากต่างประเทศจะทำให้เกิดการสิ้นเปลืองงบประมาณเป็นจำนวนเงินถึงภาคการศึกษาละ 13,910.00 บาท

งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion ใช้เอง โดยเน้นการเตรียมปริมาณมากโดยไม่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ รวมถึงศึกษาคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งด้านคุณภาพและปริมาณตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014 เมื่อทดสอบปริมาณได้แล้ว จะทำการบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาใหม่โดยจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วให้เพียงพอต่อความต้องการของนิสิต จากนั้นศึกษาระดับคะแนนความพึงพอใจการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้ว และนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาได้ทำการถ่ายทอดองค์ความรู้การนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาเทคนิคในการเตรียม Egg yolk emulsion โดยไม่เกิดการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ
2. เพื่อทดสอบการปราศจากเชื้อของ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเอง และคัดเลือกวิธีที่ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการมาศึกษาคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. เพื่อศึกษาคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองทั้งด้านคุณภาพและปริมาณตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014
4. เพื่อเปรียบเทียบงบประมาณ Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปและแบบที่เตรียมเองและบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาให้เกิดประโยชน์สูงสุด
5. เพื่อศึกษาระดับคะแนนความพึงพอใจการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้วก่อนและหลังการบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชา
6. เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยสู่การนำไปใช้ประโยชน์

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การพัฒนาเทคนิคการแยกไข่แดง

ทำการทดลองแยกไข่แดงด้วยวิธีการต่าง ๆ 3 วิธีโดยทุก ๆ วิธีทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

วิธีที่ 1 แช่ไข่ไก่ทั้งฟองใน 70% Ethyl alcohol เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นใช้ Forcep ปลอดเชื้อเจาะเปลือกไข่ให้เป็นรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร และ ดึงไข่ขาวออกจนกว่าจะหมด จากนั้นแกะเปลือกไข่ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร นำไข่แดงที่แยกได้มาผสมกับ 0.85% Sodium Chloride ในอัตราส่วน 1:1 จะได้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากวิธีที่ 1

วิธีที่ 2 แช่ไข่ไก่ทั้งฟองใน 70% Ethyl alcohol เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นแกะเปลือกไข่แยกออกเป็น 2 ส่วน แล้วล้างไปมาจนกระทั่งไข่ขาวหลุดออกจากไข่แดง นำไข่แดงที่แยกได้มาผสมกับ 0.85% Sodium Chloride ในอัตราส่วน 1:1 จะได้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากวิธีที่ 2

วิธีที่ 3 แช่ไข่ไก่ทั้งฟองใน 70% Ethyl alcohol เป็นเวลา 60 นาที แยกเปลือกไข่ออกเป็น 2 ส่วน แล้วนำทั้งไข่ขาวและไข่แดงลงในบีกเกอร์ปลอดเชื้อ จากนั้นใช้ egg separator จุ่ม 95% Ethyl alcohol แล้วลวนไฟเพื่อเป็นการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ และใช้ egg separator ซ้อนเอาแต่ไข่แดงใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ จากนั้นนำไข่แดงที่แยกได้มาผสมกับ 0.85% Sodium Chloride ในอัตราส่วน 1:1 จะได้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากวิธีที่ 3

2. การทดสอบการปราศจากเชื้อ (Sterility) ของ Egg yolk emulsion ที่แยกได้จากวิธีต่าง ๆ

นำ Egg yolk emulsion จากข้อที่ 1 มาทดสอบการปราศจากเชื้อ โดยการนำ Egg yolk emulsion จากทั้ง 3 วิธีมาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP Agar และ 0.1% Polymyxin B solution จากนั้นเทใส่จานอาหารปลอดเชื้อ วิธีละ 20 จาน บ่มจานอาหารที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณอัตราการปนเปื้อน และคัดเลือกวิธีการแยกไข่แดงที่ไม่มี การปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ มาทำการทดลองขั้นต่อไป โดยมี Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปจากต่างประเทศเป็นชุดควบคุม

3. การทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014

นำ Egg yolk emulsion ที่คัดเลือกจากข้อที่ 2 มาทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธี ISO 11133-2:2014 (International Standardisation Organization, 2014) ทั้งด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method และด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Qualitative streaking method และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มโดยใช้สถิติ t-test

3.1 การทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method

เป็นการทดสอบ Productivity และ Selectivity ของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งแบบ Selective medium โดยใช้เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย (Target culture) และใช้เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย (Non-target culture) ทำการเจือจางเชื้อทั้ง 2 ชนิดให้มีความเจือจางในระดับตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-7} จากนั้นเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร MYP agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ (Test Medium) และ Trypticase soy agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออ้างอิง (Reference Medium) ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 และ *Escherichia coli* TISTR 074 บน อาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar และ Trypticase soy agar จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า Productivity ratio (P_p) และ Selective ratio (S_F) ทำการคำนวณและการแปลผลตามวิธีของ ISO 11133-2:2014

3.2 การทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Qualitative streaking method

ทำการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย และใช้เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมายด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำมาขีดลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP Agar ที่ผสม Egg yolk emulsion ที่ทำเองโดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion สำเร็จรูปเป็นชุดควบคุม จากนั้นทำการแปลผลตามวิธีของ ISO 11133-2:2014

4. การเปรียบเทียบงบประมาณการจัดซื้อ Egg yolk emulsion และบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ทำการเปรียบเทียบงบประมาณระหว่างการสั่งซื้อ Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปและแบบที่เตรียมเองต่อปีการศึกษา จากนั้นนำงบประมาณที่ลดลงได้จากการเตรียม Egg yolk emulsion ใช้เองมาทำการบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาใหม่ โดยนำมาจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วให้มีจำนวนมากขึ้นตามความต้องการของนิสิต

5. การศึกษาระดับคะแนนความพึงพอใจการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้ว

ทำการเปรียบเทียบผลคะแนนความพึงพอใจในการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้วก่อนและหลังการนำ Egg yolk emulsion มาใช้ และบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาใหม่จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาคือ นิสิตลงทะเบียนในรายวิชาจุลชีววิทยาอาหาร และจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหารภาคปฏิบัติการในแต่ละปีการศึกษาทุกคน และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มโดยใช้สถิติ t-test

6. ถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยสู่การนำไปใช้ประโยชน์

เมื่อทำการวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว นำเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion ที่เกิดการปนเปื้อนน้อยที่สุด มาถ่ายทอดให้แก่บัณฑิตและบุคลากรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ผลการวิจัย

1. ผลของการพัฒนาเทคนิคการแยกไข่แดง

ทำการแยกไข่แดงทั้ง 3 วิธีตามวิธีการวิจัยข้อที่ 1 และนำ Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากการแยกไข่แดงทั้ง 3 วิธีเตรียมไว้ใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2. ผลการทดสอบการปราศจากเชื้อ (Sterility) ของ Egg yolk emulsion ที่แยกได้จากวิธีต่าง ๆ

ผลจากการนำ Egg yolk emulsion จากข้อที่ 1 มาทดสอบการปราศจากเชื้อ โดยการนำ Egg yolk emulsion จากทั้ง 3 วิธีมาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP Agar และ 0.1% Polymyxin B solution จากนั้นเทใส่จานอาหารปลอดเชื้อ วิธีละ 20 จาน บ่มจานอาหารที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม โดยใช้สถิติ t-test (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 อัตราการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการใน Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากการแยกไข่แดงทั้ง 3 วิธี

วิธีการแยกไข่แดง	ค่าเฉลี่ยจำนวนจานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ (จาน)(Mean± S.D.)	ค่าเฉลี่ยร้อยละของการปนเปื้อน (Mean± S.D.)
วิธีที่ 1	0±0.00	0±0.00
วิธีที่ 2	20±0.00	100±0.00
วิธีที่ 3	20±0.00	100±0.00
ชุดควบคุม	0±0.00	0±0.00

จากผลการทดลองพบว่า วิธีการที่ 1 เป็นวิธีการที่นำพบการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ โดยมีอัตราการปนเปื้อน 0% ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการใช้ Egg yolk emulsion สำเร็จรูปจากต่างประเทศที่เป็นชุดควบคุม ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) นำเทคนิคการเตรียมวิธีที่ 1 มาทำการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีการตรวจสอบใน ISO 11133-2:2014

3. ผลการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014

เมื่อนำ Egg yolk emulsion ที่คัดเลือกจากข้อที่ 2 มาทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธี ISO 11133-2:2014 (International Standardisation Organization, 2014) ทั้งด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method และด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Quantitative streaking method และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มโดยใช้สถิติ t-test ผลการทดลองเป็นดังนี้

3.1 ผลการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method

ทำการทดสอบค่า Productivity ratio (P_R) และค่า Selective ratio (S_F) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยค่า Productivity ratio (P_R) โดยใช้เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย (Target culture) และใช้เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย (Non-target culture) ผลการทดลองดังตารางที่ 2 และตารางที่ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่า Productivity ratio (P_R) ของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 และ *Escherichia coli*

TISTR 074 บนอาหาร MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion แบบที่เตรียมเองและแบบสำเร็จรูป

เชื้อจุลินทรีย์	Egg yolk emulsion	N_t (CFU/ml)	N_0 (CFU/ml)	Productivity ratio (P_R)(N_t/N_0)
<i>Bacillus cereus</i> TISTR 1527	แบบที่เตรียมเอง	1.8×10^7	2.5×10^7	0.72
	แบบสำเร็จรูป	2.0×10^7	2.5×10^7	0.80
<i>Escherichia coli</i> TISTR 074	แบบที่เตรียมเอง	10	2.6×10^7	0.0000038
	แบบสำเร็จรูป	13	2.6×10^7	0.0000050

N_t คือจำนวนเชื้อทั้งหมดบน test medium (MYP agar), N_0 คือจำนวนเชื้อทั้งหมดบน reference medium (Trypticase soy agar)

จากผลการทดลองดังตารางที่ 2 พบว่า ค่า Productivity ratio (P_R) ของ *Bacillus cereus* TISTR 1527 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเอง และแบบสำเร็จรูปมีค่า 0.72 และ 0.80 (ตามลำดับ) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ตามเกณฑ์มาตรฐานด้านปริมาณของ ISO 11133-2:2014 กำหนดไว้ว่าค่า Productivity ratio (P_R) ของ Target culture (*Bacillus cereus* TISTR 1527) ต้อง ≥ 0.1 จึงจะจัดว่าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีคุณภาพตามมาตรฐาน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า ค่า Productivity ratio (P_R) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองผ่านตามเกณฑ์ด้านปริมาณของ ISO 11133-2:2014

ตารางที่ 3 ค่า Selective ratio (S_F) ของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 และ *Escherichia coli* TISTR 074 บนอาหาร MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion แบบที่เตรียมเองและแบบสำเร็จรูป

เชื้อจุลินทรีย์	Egg yolk emulsion	D_0	D_5	Selective ratio (S_F)($D_0 - D_5$)
<i>Bacillus cereus</i> TISTR 1527	แบบที่เตรียมเอง	10^{-6}	10^{-6}	0
	แบบสำเร็จรูป	10^{-6}	10^{-6}	0
<i>Escherichia coli</i> TISTR 074	แบบที่เตรียมเอง	10^{-6}	10^{-1}	5
	แบบสำเร็จรูป	10^{-6}	10^{-1}	5

D_0 คือ dilution factor สูงสุดที่เชื้อเจริญได้ไม่น้อยกว่า 10 CFU/ml บน reference medium (Trypticase soy agar), D_5 คือ dilution factor สูงสุดที่เชื้อเจริญได้ไม่น้อยกว่า 10 CFU/ml บน test medium (MYP agar)

จากผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่า ค่า Selective ratio (S_F) ของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองและแบบสำเร็จรูปมีค่าเท่ากับ 0 และ 0 (ตามลำดับ) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และ Selective ratio (S_F) ของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองและแบบสำเร็จรูปมีค่าเท่ากับ 5 และ 5 (ตามลำดับ) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)ตามเกณฑ์มาตรฐานของ ISO 11133-2:2014 กำหนดไว้ว่า ค่า Selective ratio (S_F) Target culture ต้องมีค่า <2 จึงจะจัดว่าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีคุณภาพตามมาตรฐานจากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าค่า Selective ratio (S_F) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองผ่านตามเกณฑ์ด้านปริมาณของ ISO 11133-2:2014

3.2 ผลการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Quantitative streaking method

เมื่อนำเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมาย (Target culture) และเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย (Non-target culture) มาขีดลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion ที่เตรียมเอง พบว่าเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 มีการเจริญเต็มเส้น โคโลนีสีชมพู และมีตะกอนขุ่นล้อมรอบโคโลนี ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อบนอาหาร MYP agar ซึ่งได้ 2 คะแนนผ่านตามมาตรฐาน ISO 11133-2:2014ด้านคุณภาพ และให้ผลสอดคล้องกับค่าคะแนนการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion สำเร็จรูปซึ่งได้ 2 คะแนนเท่ากันส่วนเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 ไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งได้ 0 คะแนน

4. ผลการเปรียบเทียบงบประมาณการจัดซื้อ Egg yolk emulsion และบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

เมื่อทำการเปรียบเทียบงบประมาณระหว่างการสั่งซื้อ Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปและแบบที่เตรียมเอง หลังจากการพัฒนาเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion และนำมาใช้จริงในห้องปฏิบัติการแล้ว ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มโดยใช้สถิติ t-test ผลการทดลองดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบงบประมาณการจัดซื้อ Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปและแบบที่เตรียมเอง

รายละเอียด	งบประมาณEgg yolk emulsion แบบสำเร็จรูป	งบประมาณEgg yolk emulsion แบบที่เตรียมเอง
ต้นทุนต่อ 100 มิลลิลิตร	1,391.00 บาท	31.40 บาท
ต้นทุนต่อปริมาณการใช้ ต่อ 1 ภาคการศึกษา	13,910.00 บาท	314 บาท

ต้นทุนของ Egg yolk emulsionแบบที่เตรียมเอง 100 มิลลิลิตรเท่ากับ 31.40 บาท ซึ่งใช้ไข่ไก่ 4 ฟอง ๆ ละ 5 บาท เป็นจำนวนเงิน 20 บาท และ ค่าสาร Sodium Chloride เป็นจำนวนเงิน 11.40 บาท

จากการเปรียบเทียบงบประมาณการจัดซื้อ Egg yolk emulsion แบบสำเร็จรูปและแบบที่เตรียมเองพบว่า ในหนึ่งภาคการศึกษาจำเป็นต้องใช้ Egg yolk emulsion จำนวน 1,000 มิลลิลิตร จากตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าการเตรียม Egg yolk emulsion ใช้เองนั้นสามารถลดงบประมาณไปได้ 13,596.00 บาทต่อภาคการศึกษา (97.74%) หรือลดจาก 30.91% เหลือเพียง 0.70% ของงบประมาณทั้งหมดของรายวิชาซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากลดงบประมาณในการสั่งซื้อแล้วยังสามารถลดขั้นตอนในการทำงาน สามารถตัดขั้นตอนการจัดซื้อจัดจ้าง และงบประมาณในการไปรับของที่บริษัทขนส่งซึ่งห่างจากมหาวิทยาลัย 40 กิโลเมตร อีกทั้งการขนส่งนั้นจะต้องควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสในบางช่วงของการขนส่งอาจมีอุณหภูมิมากกว่า 4 องศาเซลเซียสทำให้คุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง การเตรียมส่วนประกอบ Egg yolk emulsion ใช้เอง ทำให้คงคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ส่งผลให้การปฏิบัติการของนิสิตมีประสิทธิภาพมากขึ้น จากนั้นนำงบประมาณที่ลดลงได้จากการเตรียม Egg yolk emulsion ใช้เองมาทำการบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชาใหม่ โดยนำมาจัดซื้ออุปกรณ์เครื่องแก้วให้มีจำนวนมากขึ้นตามความต้องการของนิสิต

5. ผลการศึกษาระดับคะแนนความพึงพอใจการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้ว

จากการสำรวจความพึงพอใจเฉลี่ยการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ด้านความเพียงพอของอุปกรณ์เครื่องแก้วก่อนและหลังการพัฒนาเทคนิคและการบริหารจัดการค่าใช้จ่ายรายวิชา โดยจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา คือ นิสิตลงทะเบียนในรายวิชาจุลชีววิทยาอาหาร และจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหาร ภาคปฏิบัติการในแต่ละปีการศึกษาทุกคน ซึ่งก่อนการพัฒนาเทคนิคมีจำนวนนิสิตที่ตอบแบบสอบถามในปีการศึกษา 2554, 2555 และ 2556 เท่ากับ 55 คน, 48 คน และ 45 คน (ตามลำดับ) และหลังการพัฒนาเทคนิคมีจำนวนนิสิตที่ตอบแบบสอบถามในปีการศึกษา 2557, 2558, 2559 และ 2560 เท่ากับ 56 คน, 62 คน, 49 คน และ 53 คน (ตามลำดับ) ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มโดยใช้สถิติ t-test ผลการทดลองดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลคะแนนความพึงพอใจเฉลี่ยการใช้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้านความพอเพียงของอุปกรณ์เครื่องแก้วก่อนและหลังการพัฒนาเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion

การพัฒนาเทคนิค	ปีการศึกษา	คะแนนความพึงพอใจ	S.D.	ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจ
ก่อนการพัฒนาเทคนิค	2554	3.45	0.15	3.44
	2555	3.42	0.33	
	2556	3.46	0.12	
หลังการพัฒนาเทคนิค	2557	4.01	0.22	4.30
	2558	4.22	0.18	
	2559	4.43	0.20	
	2560	4.52	0.13	

ก่อนการพัฒนาเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion ในปีการศึกษา 2554-2556 นั้นมีค่าเฉลี่ยความพึงพอใจที่ 3.44 และมีข้อเสนอนแนะว่า อุปกรณ์เครื่องแก้วไม่เพียงพอ ซึ่งเมื่อทำการพัฒนาเทคนิคการเตรียม Egg yolk emulsion และนำมาใช้ในการเตรียมปฏิบัติการทำให้สามารถลดงบประมาณได้ 13,596.00 บาทต่อภาคการศึกษา (97.74%) เมื่อทำการบริหารจัดการงบประมาณดังกล่าวไปซื้อเครื่องแก้วที่จำเป็นให้เพียงพอต่อความต้องการของนิสิตส่งผลให้ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจหลังการพัฒนาเทคนิคในปีการศึกษา 2557-2560 เพิ่มขึ้นเป็น 4.30 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

6. ถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยสู่การนำไปใช้ประโยชน์

เมื่อทำการวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว ได้ทำการจัดการองค์ความรู้โดยใช้กระบวนการจัดการองค์ความรู้ ซึ่งเป็นการนำความรู้ที่ฝังอยู่ในตัวบุคคล (Tacit Knowledge) ซึ่งองค์ความรู้นี้ได้มาจากการวิเคราะห์ความรู้ (Knowledge Identification) และการรวบรวมความรู้ (Knowledge Acquisition) มาเปลี่ยนให้เป็นความรู้ที่ชัดเจน (Explicit Knowledge) โดยการถ่ายทอดองค์ความรู้ทั้งทางตรง (Knowledge Sharing) ให้แก่นิสิตในรายวิชาจุลชีววิทยาผลิตภัณฑ์อาหารภาคปฏิบัติการ จุลชีววิทยาอาหารภาคปฏิบัติการ และนิสิตเทคนิคการวิจัย ซึ่งนิสิตได้นำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการเตรียม Egg yolk emulsion เพื่อใช้ในโครงการงานทางด้านการตรวจวิเคราะห์เชื้อก่อโรคในอาหาร และการทำงานวิจัยนอกจากนี้ยังถ่ายทอดให้แก่นักวิทยาศาสตร์ต่างคณะ นิสิตต่างวิทยาเขตได้นำองค์ความรู้ไปใช้ประโยชน์ในการเตรียมปฏิบัติการ และการทำงานวิจัย มีการจัดเก็บองค์ความรู้อย่างเป็นระบบ (Knowledge Storage) ในรูปแบบรายงานการวิจัย และวิดีโอซึ่งนิสิตและบุคลากรที่สนใจองค์ความรู้ดังกล่าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จากการเก็บสถิติตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 จนถึงปี พ.ศ. 2562 มีสถิติการถ่ายทอดองค์ความรู้จำนวน 112 ครั้ง และมีผู้ได้รับองค์ความรู้มากกว่า 700 คน

สรุปผลการวิจัย

เมื่อทำการพัฒนาเทคนิคการแยกไข่แดง และทดสอบการปราศจากเชื้อ (Sterility) แล้วพบว่าวิธีที่ 1 โดยใช้ Forcep ปลอดเชื้อเจาะเปลือกไข่ให้เป็นรู ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร และ ดึงไข่ขาวออกจนกว่าจะหมด จากนั้นแกะเปลือกไข่ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร นำไข่แดงที่แยกได้มาผสมกับ 0.85% Sodium Chloride ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวิธีการที่ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ โดยมีอัตราการปนเปื้อน 0% และเมื่อนำ Egg yolk emulsion มาทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธี ISO 11133-2:2014พบว่าผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method และด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Quantitative streaking method จากนั้นนำ Egg yolk emulsion มาเตรียมใช้เองในปฏิบัติการต่าง ๆ สามารถลดงบประมาณไปได้ 13,596.00 บาทต่อภาคการศึกษา (97.74%) หรือลดจาก 30.91% เหลือเพียง 0.70% ของงบประมาณทั้งหมดของรายวิชา นอกจากนี้ยังสามารถลดขั้นตอนการจัดซื้อจัดจ้าง การขนส่ง และทำให้คุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อดีขึ้น ส่งผลให้การทำปฏิบัติการของนิสิตมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เมื่อทำการบริหารจัดการงบประมาณที่ลดลงได้ดังกล่าวไปซื้อเครื่องแก้วที่จำเป็นให้เพียงพอต่อความต้องการของนิสิต ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยความพึงพอใจเพิ่มขึ้นจาก 3.44 เป็น 4.30 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อทำการวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว ได้ทำการจัดการองค์ความรู้โดยใช้กระบวนการจัดการองค์ความรู้ซึ่งได้ถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่นิสิตในรายวิชา นิสิตต่างวิทยาเขต บุคลากรต่างคณะได้นำองค์ความรู้ไปใช้ประโยชน์อีกด้วย

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการพัฒนาเทคนิคการแยกไข่แดง พบว่า วิธีที่ 1 ซึ่งใช้ Forcep ปลอดเชื้อเจาะเปลือกไข่ให้เป็นรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร และ ดึงไข่ขาวออกจนกว่าจะหมด จากนั้นแกะเปลือกไข่ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร นำไข่แดงที่แยกได้มาผสมกับ 0.85% Sodium Chloride ในอัตราส่วน 1:1 ทำให้ได้ Egg yolk emulsion ที่ไม่เกิดการปนเปื้อนเชื้อที่ไม่ต้องการ ซึ่งอาจเนื่องจากวิธีที่ 1 นั้นไข่แดงสัมผัสอากาศภายนอกน้อยกว่าวิธีที่ 2 และ 3 ทำให้ลดอัตราการปนเปื้อนได้

เมื่อนำ Egg yolk emulsion ที่เตรียมจากวิธีที่ 1 มาทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธี ISO 11133-2:2014 (International Standardisation Organization, 2014) พบว่าการทดสอบด้านปริมาณโดยใช้วิธี Quantitative Plating method มีค่า Productivity ratio (P_R) และค่า Selective ratio (S_F) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งใช้ Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองผ่านตามเกณฑ์ด้านปริมาณของ ISO 11133-2:2014 ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ของบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี ที่มีค่า Productivity ratio (P_R) = 0.5 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Merck, 2019) ส่วนการทดสอบด้านคุณภาพโดยใช้วิธี Quantitative streaking method พบว่า ค่าคะแนนการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 1527 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion แบบเตรียมเองได้ 2 คะแนนผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานด้านคุณภาพของ ISO 11133-2:2014 ส่วนเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 074 ไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ซึ่งได้ 0 คะแนน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบคุณภาพของบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี ซึ่งเชื้อ *Escherichia coli* ไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar ที่ผสม Egg yolk emulsion ได้ (Merck, 2019)

ข้อเสนอแนะในการทำงานวิจัยครั้งต่อไป ควรศึกษาอายุการเก็บรักษา และวิธีการยืดอายุการเก็บรักษา Egg yolk emulsion แบบเตรียมเอง นอกจากนี้ควรทดสอบคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (TSC Agar) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *Clostridium perfringens* ที่ผสม Egg yolk emulsion ที่เตรียมเองด้วยเทคนิคการแยกไข่แดงที่ได้พัฒนาขึ้นในครั้งนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากคณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร

เอกสารอ้างอิง

- Granum, P.E. 2001. *Bacillus cereus*. 377-381. In Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and T.J. Montville, eds. Food Microbiology: fundamentals and frontiers. ASM Press. Washington, D.C. 872p.
- International Standardisation Organization. 2014. 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. EN ISO 11133-2 :2014.
- Khaleque, A. and M.L. Bari. 2016. Facts on Foodborne Pathogens. 34-81. In Bari, M.L. and D.O. Ukuku, eds. Foodborne Pathogens and Food Safety. CRC Press. Boca Raton. 308p.
- Merck. 2019. MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin) Agar (Base), Technical data sheet. Available Source: <https://www.emdmillipore.com>. (Retrieved June, 2019).
- Tallent, S.M., Rhodemeil, J., Harmon, S.M. and R.W. Bennett. 2012. Bacteriological Analytical Manual Chapter 14 *Bacillus cereus*. Available Source: <https://www.fda.gov>. (Retrieved June 2019)