ภาคผนวก ฉ

เอกสารศึกษาเพิ่มเติม
ประกอบบทเรียนวิทยาศาสตร์ท้องถิ่น

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในดินสอพอง
ระดับอุดมศึกษา

อาจารย์เจนจิรา เดชรักษา

ภูมิปัญญาการผลิตดินสอพอง

จากการบอกเล่าของคุณยายฮวย แซ่ซื้อ (พุ่มขจร) ท่านได้สัมผัสกับดินสอพองตั้งแต่เล็ก ปัจจุบันอายุ 78 ปี ครอบครัวท่านทำดินสอพองที่บ้านท่ากระยาง บอกว่า ชาวบ้านจะทำดินสอพองในบริเวณใกล้บ้าน เพียงขุดดินลงไปประมาณไม่เกิน 2 เมตร ก็จะเป็นดินขาว ตักดินขึ้นมาละลายน้ำ ซาวให้เนื้อดินแยกออกจากกรวดทรายแล้วกรองผ่านผ้าขาวบางใส่ในบ่อเยื่อปล่อยให้ดิน ตกตะกอนจนได้ที่ ตักโคลนดินขึ้นมาเทในแบบพิมพ์ซึ่งมีรูปร่างต่าง ๆ เช่น ดินขนมปัง ดินงู ดินดอกมะลิ กรรมวิธีการผลิตดินสอพองจะสืบทอดกันมาจากบรรพบุรุษรุ่นต่อรุ่นจนปัจจุบัน โดยวิธีการผลิต ไม่แตกต่างจากในอดีตมากนัก เมื่อมีการขุดดินที่บ้านท่ากระยางนานมากขึ้น กระทบต่อสิ่งก่อสร้างบ้านเรือนที่อาศัย การผลิตจึงลดลงและได้ย้ายการผลิตไปที่ชุมชนดินสอพอง โดยวัตถุดิบหรือดินมาร์ลที่ใช้ส่วนใหญ่ซื้อมาจากตำบลกกโก และตำบลท่าแค อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี

ขั้นตอนการผลิตดินสอพองในปัจจุบัน

1. การทำบ่อ 2 ชนิด

1.1 <u>บ่อกาก</u> สำหรับเป็นที่ละลายดินขาวที่อยู่ในดินมาร์ล บ่อกากมักมีขนาดใหญ่ ปากบ่ออยู่ระดับเดียวกับพื้นดิน

1.2 <u>บ่อกรองหรือบ่อเนื้อ</u> สำหรับให้ดินตกตะกอน อาจจะเป็นบ่อดินหรือบ่อปูนที่มีปากบ่อเสมอกับพื้นดินหรือสูงกว่า

2. การกองดินมาร์ลไว้บริเวณบ่อ

3. วิธีการผลิตดินสอพอง

ขั้นตอนที่ 1 การละลายดินมาร์ลในบ่อ โดยตักดินมาร์ลใส่บ่อกาก ปล่อยน้ำลงไปผสมทำให้ดินละลายออกมา จากกรวดทราย โดยลงไปเดินย่ำในบ่อ หรือใช้เครื่องฉีดน้ำที่กองดินมาร์ลให้ดินละลายลงในบ่อ เมื่อดินละลายออกมาได้ข้นพอสมควรแล้วก็ตักหรือใช้เครื่องดูดน้ำดินในบ่อกากเทผ่านตะแกรงลงไปในบ่อกรอง หรือบ่อเนื้อเพื่อแยกเอาหิน กรวด ทราย และใบไม้ ใบหญ้าออกจากเนื้อดิน

ขั้นตอนที่ 2 การตกตะกอนดินสอพอง ทิ้งให้ดินขาวตกตะกอนก้นบ่อ แล้วตักหรือดูดน้ำใสตอนบนออกใส่บ่อกากจนเหลือแต่แป้งดินขาวข้นเหมือนดินโคลน เรียกว่า โคลนดินสอพอง โคลนดินสอพองที่ได้จากการตกตะกอนครั้งแรกยังมีปริมาณน้อยเกินไป ชาวบ้านจึงมักจะทำกระบวนการในขั้นแรกและขั้นที่สองหลายครั้ง ในเวลาประมาณ 3-4 วัน เพื่อให้ได้โคลนดินเกือบเต็มบ่อ

ขั้นตอนที่ 3 การตากแห้งดินสอพอง ตักโคลนดินสอพองหยอดลงในแม่พิมพ์ที่วางบนผ้าใบ ซึ่งปูไว้บนพื้นดิน ผ้าและพื้นดินจะช่วยดูดซับน้ำจากโคลนดินสอพอง ปล่อยทิ้งไว้ให้แดดเผาจนดินสอพองเกาะเป็นก้อนแข็งพอที่จะหยิบได้ ซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 3 - 5 ชั่วโมง จึงนำแผ่นดินสอพองไปวางเรียงบนแคร่ที่มีลักษณะลาดเอียงไม้ไผ่ตากแดดผึ่งลมต่อไปจนแห้งสนิทซึ่งอาจต้องใช้เวลา 3–7 วัน ขึ้นอยู่กับลักษณะอากาศ เมื่อแผ่นดินสอพองแห้งดีแล้วจึงนำดินสอพองไปบรรจุถุง หรือเก็บเพื่อจำหน่าย หรืออาจจะเอาไปโม่เป็นผงก่อนนำไปขาย

รูปทรงของดินสอพองขึ้นอยู่กับแม่พิมพ์ ซึ่งส่วนใหญ่ทำเป็นแผ่นกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 – 7 นิ้ว หรือทำเป็นเม็ดเรียบ หรือมีลวดลาย แล้วแต่ความต้องการใช้งาน

15:32

จุลินทรีย์ในดิน

ดินสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ดินแร่ธาตุ (Mineral soil) และดินอินทรีย์ (Organic soil) ขึ้นกับแหล่งกำเนิดของดินว่ามาจากหิน สารอนินทรีย์ต่างๆ หรือมาจากการทับถมของสารอินทรีย์ โดยส่วนใหญ่ของดินเป็นดินแร่ธาตุ ดินเกิดจากกระบวนการทางกายภาพ เคมีและชีววิทยาของหินที่สาหร่าย ไลเคนส์หรือมอสในสภาพเซลล์พักสามารถอยู่บนหินที่แห้งได้ เมื่อมีความชื้นก็เจริญ พวกที่สามารถสังเคราะห์แสงได้สร้างสารอินทรีย์ ซึ่งไปส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มเฮเทโรโทรฟ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหายใจของเฮเทโรโทรฟถูกเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอนิก ซึ่งเป็นสารสำคัญในการละลายหิน โดยเฉพาะหินปูน นอกจากนี้แล้วส่วนใหญ่พวกเฮเทโรโทรฟปล่อยกรดอินทรีย์ไปเพิ่มการละลายของหินให้มีอนุภาคเล็กลง รวมถึงกระบวนการทางกายภาพอื่นๆ นำไปสู่การแตกของหิน บริเวณรอยแตกของหินทำให้พืชชั้นสูงสามารถเจริญได้ ต่อมาพืชตายและทับถมอยู่บริเวณนั้นทำให้ดินเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ และน้ำเป็นตัวชะล้างสารเคมีเหล่านี้ลงสู่ที่ลึกลงไปเป็นการเพิ่มความสมบูรณ์ให้กับดินที่อยู่ลึก จึงส่งเสริมให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ สัตว์บางชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณนี้ทำให้เกิดการผสมของดิน และอากาศถ่ายเทดีขึ้น การเคลื่อนไหวของสารสู่ด้านล่างส่งผลให้เกิดชั้นและประเภทดินได้ การเปลี่ยนแปลงต่างๆเป็นการเปลี่ยนแปลงอย่างค่อยเป็นค่อยไปใช้เวลาหลายร้อยปี (ดวงพร, 2545 : หน้า 10)

ดินเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆได้ดี จุลินทรีย์เหล่านั้นได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา โปรตัวซัว สาหร่ายและไวรัส ซึ่งมักอาศัยตามผิวหน้าของดิน โดยทั่วไปชนิดของจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของดิน แร่ธาตุ และอินทรียสารในดิน ความชื้น ความลึก อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง การถ่ายเทอากาศ เป็นต้น โดยเฉพาะอินทรียสารในดินมีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์เป็นอย่างยิ่ง เพราะเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับจุลินทรีย์ต่างๆที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต่อไป ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์จะพบจุลินทรีย์ในดินมากถึงพันล้านเซลล์ต่อดินหนึ่งกรัม จุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายพวกสารอินทรีย์หรืออาหารในดินให้กลายเป็นสารอนินทรีย์ เช่น น้ำ แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ ไนเตรต ฟอสเฟต และแคลเซียม ซึ่งจะเป็นอาหารให้แก่พืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่จำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโตต่อไป (สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 34)

จุลินทรีย์ที่พบในดิน ได้แก่

แบคทีเรีย (Bacteria)

เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในดินทั้งชนิดและจำนวน ในดินสวนทั่วๆไป 1 กรัม จะมีแบคทีเรียประมาณล้านเซลล์ซึ่งประกอบด้วย 400 สกุลและ 1,000 ชนิด มีทั้งพวกที่เป็นออโตโทรฟและเฮเทโรโทรฟ แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์แบบโปรคาริโอต เจริญได้ดีในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย มีทั้งพวกที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ แบคทีเรียในดินจะพบอิสระได้น้อยมาก เพราะ

เซลล์จะยึดเกาะกับอนุภาคของดินหรือฮิวมัสไว้ แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างเมือกเข้ามาช่วยยึดเกาะ แบคทีเรียที่พบในดินส่วนใหญ่ ได้แก่ สกุล *Agrobacterium, Bacillus, Clostridium, Flavobacterium, Pseudomonas* และ *Xantromonas*

แบคทีเรียในดินมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของวัฏจักรสารต่างๆ ในดินเพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินที่จะเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งแบคทีเรียบางกลุ่มสามารถเปลี่ยนแก๊สไนโตนเจนให้เป็นสารไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน เช่น *Azotobacter, Clostridium, Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* (นงลักษณ์ และปรีชา, 2547 : หน้า 536 ; สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 56)

แอกทิโนมัยซีต (Actinomyctes)

แบคทีเรียกลุ่มแอกทิโนมัยซีตเป็นแบคทีเรียแต่มักจะถูกแยกออกมาศึกษาจากแบคทีเรียทั่วไป เนื่องจากมีลักษณะพิเศษ คือ มีโคโลนีขนาดค่อนข้างใหญ่และมีลักษณะผิวที่หยาบ รูปร่างเป็นฟิลาเมนท์ที่ต่อเป็นเส้นยาว ซึ่งลักษณะคล้ายเชื้อราแต่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าเชื้อรา แอกทิโนมัยซีตจะพบในดินประมาณ 10-13 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียในดิน กลุ่มที่พบมากที่สุด คือ *Streptomyces* และ *Nocardia*

แบคทีเรียกลุ่มแอกทิโนมัยซีตค่อนข้างทนต่อความแห้งแล้ง ดังนั้นจึงสามารถรอดชีวิตได้ในสภาวะที่แห้งแล้งมาก เช่น ดินในทะเลทราย นอกจากนั้นยังชอบเจริญในสภาวะที่เป็นด่างหรือเป็นกลาง แต่ไม่ทนสภาวะที่เป็นกรด แอกทิโนมัยซีตได้รับควาสนใจมากขึ้น เมื่อมีการค้นพบว่าบางสกุล เช่น *Streptomyces* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ (สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 63)

เชื้อรา (Fungi)

เชื้อราที่พบในดินมีปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียและแอกทิโนมัยซีต พบมากบริเวณหน้าดินประมาณ 10 เซนติเมตรและพบได้น้อยมากที่ดินลึกมากกว่า 30 เซนติเมตร พบในดินที่มีอากาศถ่ายเทและดินที่เป็นกรด เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เป็นแบบยูคาริโอต ย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดี ในดินอาจพบอยู่ในรูปสปอร์หรือมัยซิเลียม เมื่อไม่มีสารอาหารที่เหมาะสมเชื้อราจะอยู่ในสภาพพักหรือสปอร์และไม่มีกิจกรรมการเจริญ เชื้อราช่วยปรับปรุงโครงสร้างดินโดยการที่เส้นใยมัยซิเลียมจะสานเป็นตาข่ายยึดอนุภาคดินไว้เป็นกลุ่มก้อนทำให้ไม่ละลายน้ำไปเรียกว่า ครัมเบิลสตรัคเจอร์ (crumble structure) เชื้อราที่พบมากได้แก่ *Mucor, Aspergillus, Alternaeria, Fusarium, Candida, Rhodotorula* และ *Zygosaccharomyces* เป็นต้น (นงลักษณ์ และปรีชา, 2547 : หน้า 538 ; สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 68)

โพรโทซัว (Protozoa)

โพรโทซัวเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินอย่างอิสระ มีขนาดเล็ก และมีความหลากหลายของชนิดน้อยกว่าโพรโทซัวที่พบในน้ำ โดยจะอยู่ในสภาวะซิสต์ถ้ามีสภาวะที่ไม่เหมาะสม โพรโทซัวจะกินสารอินทรีย์ที่ละลายได้และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอื่น เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ หรือโพรโทซัวชนิดอื่น โพรโทซัวเร่งวัฏจักรของอาหาร และการเคลื่อนที่ของมันในโมเลกุลของน้ำในดินช่วยให้แบคทีเรียรับสารอาหารและออกซิเจนดีขึ้น (ดวงพร, 2545 : หน้า 20 ; สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 70)

สาหร่าย (Algae)

เป็นเซลล์แบบยูคาริโอต มีคลอโรฟิลล์จึงสังเคราะห์แสงได้ สาหร่ายที่พบส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียว เช่น *Chlamydomonas, Chlorococcum* และไดอะตอม ส่วนใหญ่สาหร่ายจะสามารถพบได้ในพื้นดินหรือใต้ดินแค่ลึกลงไปเป็นมิลลิเมตร อาจพบจำนวน 10^6 เซลล์ของสาหร่ายต่อดิน 1 กรัม สาหร่ายพบว่าเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ที่ผิวดินแต่เป็นเชื้อพลัดถิ่นในดินที่ลึกลงไปและจะถูกจับกินโดยสิ่งมีชีวิตอื่นๆ สาหร่ายในดินส่วนใหญ่มีขนาดเล็กและเป็นเซลล์เดียว ตัวอย่างที่สำคัญ คือ *Anabaena*, *Colothrix, Chroococcus, Cylindrospermum, Lyngbya, Nostoc, Oscillatoria, Scytonema* และ *Tolypothrix* (นงลักษณ์และปรีชา, 2547 : หน้า 537 ; สุบัณฑิต, 2549 : หน้า 69)

คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของดินสอพองตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ในอดีตคนไทยมีการผลิตดินสอพองเพื่อใช้ในตำรับความงามต่างๆ มากมาย เช่น ใช้ดินสอพองผสมกับน้ำอบไทยหรือน้ำปรุง ประพรมผิวหน้าและผิวกาย เพื่อความสดชื่นหอมเย็นชื่นใจ ใช้ผัดหน้า ผสมกับขมิ้นและมะขามเปียกขัดหน้าขัดผิว เพื่อช่วยให้ผิวพรรณสดใส หรือใช้ดินสอพองผสมขมิ้น ลิ้นทะเล และพิมเสน ใช้ลอกฝ้า เป็นต้น นอกจากดินสอพองจะถูกนำมาใช้เพื่อความสวยงามด้านผิวพรรณเป็นหลักแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ด้านการรักษาโรคทางผิวหนัง เช่น การนำดินสอพองมาผสมกับมะนาว ช่วยขจัดสิวเสี้ยน ลดอาการปวดบวมจากการอักเสบเขียวช้ำ หรือการนำมาผสมกับใบทองพันชั่ง ก็มีสรรพคุณในการรักษากลากเกลื้อนได้ ดังนั้นการผลิตดินสอพองเพื่อใช้ประโยชน์ด้านเครื่องสำอางจำเป็นต้องมีคุณภาพตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทแป้งฝุ่นโรยตัว เพื่อให้ดินสอพองมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับดินสอพองอีกทางหนึ่งด้วย

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทแป้งฝุ่นโรยตัว ต้องมีคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามมาตรฐานที่กำหนด คือ มีคุณสมบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2536) ดังนี้

1.1 แบคทีเรีย ยีสต์และราทั้งหมด (total colony count) น้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อกรัม

1.2 ปรีซัมป์ตีฟ โคลิฟอร์ม (presumptive coliform) น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม

1.3 ฟีคัล โคไล (faecal coli) ไม่พบ

1.4 สตาฟิโลคอกคัส ออเรอุส (*Staphylococcus aureus*) ไม่พบ

1.5 ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) ไม่พบ

1.6 ซาลโมเนลลา (*Salmonella* sp.) ไม่พบ

1.7 โคลสตริดิอุม (*Clostridium* sp.) ไม่พบ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2549)

คุณสมบัติของดินสอพองแปรรูปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

ดินสอพองแปรรูป หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากดินสอพอง ผสมน้ำ กรองเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อละเอียด นำไปฆ่าเชื้อ อาจมีส่วนผสมของผงพืชสมุนไพรที่บดละเอียดแล้ว เช่น ขมิ้นชัน ไพล แต่งกลิ่น ทำให้แห้งอยู่ในรูปก้อนหรือผง

ดินสอพอง หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำดินมาร์ลหรือปูนมาร์ล (marl) ร่อน ผสมน้ำแล้วกรองให้สะอาด

คุณลักษณะที่ต้องการ

ลักษณะทั่วไป

ต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอม กรณีเป็นก้อน ต้องมีรูปทรงเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกัน กรณีเป็นผงต้องแห้ง

กลิ่น

ต้องมีกลิ่นที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหืน กลิ่นบูด

ส่วนประกอบ

1. ต้องไม่มีสารหรือวัตถุที่ห้ามใช้ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง : ข้อกำหนดทั่วไป มาตรฐานเลขที่ มอก.152

2. สารที่กำหนดปริมาณการใช้ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่ กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง : ข้อกำหนดทั่วไป มาตรฐานเลขที่ มอก.152

3. สีที่ใช้ ต้องเป็นไปตามที่กำหนดในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง : ข้อกำหนดทั่วไปมาตรฐานเลขที่ มอก.152

สารปนเปื้อน

1. ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
2. สารหนู (คำนวณเป็น As_2O_3) ต้องไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
3. ปรอท ต้องไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ความเป็นกรด-ด่าง ต้องอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 8.0

จุลินทรีย์

จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ดินสอพองแปรรูป, 2549)

จุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคที่พบในดินสอพอง

ดินสอพองเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายอย่าง เช่น การทำแป้งน้ำ ยาสีฟัน สีทาบ้าน ใช้สำหรับตกแต่งเครื่องเฟอร์นิเจอร์ต่างๆ นอกจากนี้ในปัจจุบันนิยมนำดินสอพองมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเป็นเครื่องสำอางและใช้ในเทศกาลวันสงกรานต์ หากกระบวนการผลิตดินสอพองซึ่งเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนไม่ถูกสุขลักษณะเพียงพอ อาจมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ในปี 2544 กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ประสานงานกับเภสัชสาธารณสุขจังหวัดลพบุรี เก็บตัวอย่างดินสอพองจำนวน 10 ตัวอย่างจากแหล่งผลิต ไปทำการวิเคราะห์ตัวอย่างด้านจุลชีววิทยา พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดินสอพองตั้งแต่ 39,000-1,200,000 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 12 (พ.ศ. 2536) และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนดินสอพอง กำหนดให้มีจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัม พบจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะในการผลิต (coliform bacteria) มีปริมาณตั้งแต่ 3 ถึง 240 MPN ต่อกรัม (มาตรฐานเครื่องสำอางกำหนดว่าต้องน้อยกว่า 10 MPN ต่อกรัม) นอกจากนี้พบจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคได้แก่ เอชเชอริเชีย โคไล, ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา, ซาลโมเนลลา, สตาฟิโลคอกคุส และโคลสตริดิอุม ซึ่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 12 (พ.ศ. 2536) กำหนดว่าต้องไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่ ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา, ซาลโมเนลลา, สตาฟิโลคอกคุส และโคลสตริดิอุม หากจุลินทรีย์เหล่านี้เข้าเข้าสู่ร่างกายทางตา สิว บาดแผลอื่นๆ และกระแสโลหิต อาจมีผลให้เกิดการอักเสบรุนแรงและหากจุลินทรีย์เข้าร่างกายอาจทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ (ดินสอพอง, 2549)

จุลินทรีย์ก่อโรคที่สามารถพบได้ในดินสอพอง ได้แก่

ซาลโมเนลลา *(Salmonella)*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน สายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว (peritrichous flagella) ยกเว้น *S. pullorum* และ *S. gallinarum* เชื้อนี้ไม่มีแคปซูลและสปอร์ เจริญได้ดีในที่มีหรือไม่มีออกซิเจน สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรด บางทีได้ก๊าซด้วย แต่ไม่สามารถเฟอร์เมนน้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือก๊าซจากการเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรต เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามิน หรือกรดอะมิโน ยกเว้นเชื้อไทฟอยด์บางชนิดต้องการปริปโทเฟน

ซาลโมเนลลา ทำให้เกิดโรคติดเชื้อ 3 ชนิด คือ

1. ไข้เอนเทอริก : ไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ (Enteric fevers : typhoid and paratyphoid)

เป็นโรคติดเชื้อซาลโมเนลลาที่สำคัญที่สุด ไข้ไทฟอยด์มีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella typhi* ส่วนพาราไทฟอยด์มีสาเหตุจากเชื้อ *S. paratyphi* A, B และ C อาการของโรคคล้ายกัน แต่ไข้พาราไทฟอยด์หรือไข้รากสาดเทียมมีความรุนแรงน้อยกว่า และมีอาการอ่อนกว่าไข้ไทฟอยด์ คือพาราไทฟอยด์มีระยะฟักตัว 1-10 วัน มีอาการโลหิตเป็นพิษเนื่องจากเชื้อเข้ากระแสเลือด (bactermia) เกิดขึ้นในตอนแรก มักมีไข้อยู่ 1-3 สัปดาห์ ไม่ค่อยมีผื่น ส่วนไข้ไทฟอยด์มีระยะฟักตัวของโรค 10-14 วัน มีไข้สูงตลอด ปวดศีรษะ ท้องผูก อ่อนเพลียในสัปดาห์ที่ 3 หรือ 4 ตับและม้ามโต เม็ดเลือดขาวลดน้อยลง อุจจาระมีเลือดปนออกมาด้วย

2. ลำไส้อักเสบ (enterocolitis, gastroenteritis)

เกิดจากเชื้อซาลโมเนลลาหลายซีโรทัยป์ด้วยกัน บางชนิดทำให้เกิดโรคในสัตว์เลือดอุ่นรวมทั้งคน เชื้อสำคัญที่ทำให้เกิดโรค คือ *S. enteritidis* และ *S. typhimurium*

ระยะฟักตัวของโรค กินเวลา 12-24 ชั่วโมง หรือมีอาการหลังจากกินอาหารที่มีเชื้อปะปน 8-48 ชั่วโมง อาการของโรค คือ ปวดศีรษะรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วงรุนแรง ปวดท้อง มีไข้ต่ำ มักเป็นอยู่ 2-5 วัน ไม่ค่อยเกิดอาการแบคทีรีเมียเหมือนไข้ไทฟอยด์ เชื้อจะเจริญอยู่ในลำไส้เท่านั้น เมื่อเชื้อบุกรุกเข้าผนังลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ อาจจะปล่อยเอนเทอโรทอกซินออกมาทำให้ถ่ายอุจจาระเหลวมีมูกเลือด เม็ดเลือดขาวปนออกมา ไม่พบเชื้อในเลือด แต่จะพบในอุจจาระ

3. โลหิตเป็นพิษ (Septicemia)

การติดเชื้อซาลโมเนลลาในกระแสเลือดมักเกิดจาก *S. choleraesuis* เป็นส่วนใหญ่ แต่ก็อาจเกิดจากเชื้อซีโรทัยป์ใดก็ได้ เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายจะไปเจริญเติบในกระแสเลือด เพิ่มจำนวนขึ้นจึงทำให้คนไข้มีไข้สูง หนาวสั่น เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลด การแยกเชื้อจะพบเชื้อในกระแสเลือดเท่านั้น มักไม่พบเชื้อในอุจจาระ (นงลักษณ์, 2547 : หน้า 91)

โคลสตริดิอุม *(Clostridium)*

โคลสตริดิอุมเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อนที่สร้างสปอร์ได้ สปอร์อยู่ข้างในเซลล์มักพองออกมีรูปร่างป้อมแบบรูปไข่ เชื้อส่วนใหญ่เป็นพวกไม่ต้องการออกซิเจนเลย (obligate anaerobes) มีบ้างที่เป็นพวกทนออกซิเจนได้ (aerotolerant) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว (peritrichous flagella) ยกเว้น *Clostridium perfringens* ที่ไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่แล้วสปอร์จะไม่งอกถ้าขาดสภาพที่เหมาะสมคือ สภาพที่ไม่มีออกซิเจน สปอร์ทนความร้อนได้ดีสามารถทนอุณหภูมิถึง 120 องศาเซลเซียสได้นานถึง 10-15 นาที พบทั่วไปในตะกอนดินน้ำจืด น้ำทะเล และทางเดินอาหารของคนและสัตว์

การเลี้ยงโคลสตริดิอุมทำได้ง่ายในสภาพไร้ออกซิเจน วิธีการแยกเชื้อแอนแอโรบ (anaerobes) ที่ใช้มากที่สุด คือ การเลี้ยงเชื้อใน blood agar และ egg yolk agar ในสภาพไม่มีอากาศเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง โคโลนีจาก blood agar สามารถนำมาตรวจดูฮีโมไลซีส โครงสร้างโคโลนีและการเคลื่อนที่แบบลุกลาม (swarming) ได้ เชื้อที่เจริญใน egg yolk agar สามารถตรวจหาการทำงานของเอนไซม์เลซิทิเนส (lecithinase) และ ลิเพส (lipase) ได้ การทำงานของเลซิทิเนสดูจากความขุ่น และการตกตะกอนขาวในวุ้น ส่วนการทำงานของลิเพสดูจากความเป็นเงาที่ผิวหน้าเชื้อ

Cl. botulinum Cl. perfringens และ *Cl. tetani* มีเอกโซทอกซินที่ร้ายแรงสามารถทำให้เกิดโรคที่รุนแรงได้ คือ โรคอาหารเป็นพิษโบทูลิซึม (botulism) ก๊าซแกงกรีน (gas gangrene) หรือโรคเนื้อตายเน่า (myonecrosis) และบาดทะยัก ตามลำดับ (ดวงพร, 2537 : หน้า 96 ; นงลักษณ์, 2547 : หน้า 208)

ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา *(Pseudomonas aeruginosa)*

เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลา ติดสีแกรมลบ ผนังเซลล์ประกอบด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (lippolysaccharide, LPS) มีโครงสร้างคล้ายของแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทรีเอซี (Enterobacteriaceae) แต่มีสารเคมีบางหมู่ต่างกัน ส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ไซด์เชน (polysaccharide side chain) ที่ยื่นออกจากเมมเบรนชั้นนอก (LPS) เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับความจำเพาะทางซีโรโลยีและความไวต่อแบคทีริโอซินหรือไพโอซิน (bacteriocin หรือ pyocin) และแบคทริโอเฟจ ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา ยังมีชั้นเมือก (slime layer) ที่ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์และมีพิไลอยู่ที่ผิวเซลล์ด้วย

โรคติดเชื้อจาก ซูโดโมนาส แอรูจิโนซา

1. การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) และเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis)
2. การติดเชื้อที่ปอด (pulmonary infections)
3. การติดเชื้อที่หู (ear infections)
4. การติดเชื้อที่แผลไฟไหม้
5. การติดเชื้อที่อวัยวะอื่น

เช่นทางเดินอาหาร ทางเดินปัสสาวะ ตา ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบกล้ามเนื้อและกระดูก (นงลักษณ์, 2547 : หน้า 150)

เอสเชอริเชีย โคไล *(Escherichia coli)*

เอสเชอริเชีย โคไล เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้ สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential

media) เช่น MacConkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แล็กโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิส เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

เอสเชอริเชีย โคไล สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคดังนี้ คือ ท่องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinaey tract infections) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis) (นงลักษณ์, 2547 : หน้า 108)

สตาฟิโลคอกคุส ออเรอุส *(Staphylococcus aureus)*

เป็นแบคทีเรียรูปทรงกลม แกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เมื่อขยี้เชื้อจากหนอง เซลล์อาจอยู่เดี่ยว ๆ เป็นคู่ ๆ เป็นกลุ่ม หรือเป็นสายสั้น ๆ ถ้าเขี่ยจากอาหารแข็ง เซลล์มีลักษณะเป็นกลุ่ม แต่จากอาหารเหลวจะเห็นเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ มีบางสายพันธุ์สร้างแคปซูลหรือเมือก (slime) ช่วยให้เชื้อเพิ่มความรุนแรงในการก่อโรค เชื้ออายุน้อยติดสีแกรมบวกเมื่ออายุมากขึ้นติดสีแกรมลบ

สตาฟิโลคอกคุส ออเรอุส เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ในสภาพที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อย (microaerophilic) เจริญเร็วที่สุดที่ 37 องศาเซลเซียส แต่สร้างรงควัตถุดีที่สุดที่อุณหภูมิห้อง (20-25 องศาเซลเซียส) โคโลนีบนอาหารแข็งมีลักษณะกลม เรียบ ขุ่น นูนเล็กน้อยเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-4 มิลลิเมตร มีสีเหลืองทอง

การทำให้เกิดโรคเนื่องจาก สตาฟิโลคอกคุส ออเรอุส

การติดเชื้อ สตาฟิโลคอกคุส ออเรอุส ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมัน บริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้วรวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน ซึ่งภายในบริเวณฝีนี้จะไม่มีเลือดมาเลี้ยง (นงลักษณ์, 2547 : หน้า 31)

การนับจุลินทรีย์จากจานเพาะเลี้ยงโดยวิธีสแตนดาร์ด เพลท เคาท์ (Standard plate count)

สแตนดาร์ด เพลท เคาท์ (Standard plate count) เป็นวิธีการที่ใช้แพร่หลายกันสำหรับนับจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดที่เจริญบนอาหารวุ้นในสภาวะที่มีอากาศ เพราะจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้วุ้นเป็นอาหารได้ การผสมวุ้นกับอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์และเทลงในจานเพาะเลี้ยง จากนั้นนำตัวอย่างที่ต้องการตรวจนับเจือจางให้อยู่ในช่วงที่นับได้ แล้วเกลี่ยบนผิววุ้น เรียกว่า Spread plate (Surface spread method) หรือให้ตัวอย่างผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อในจานเพาะเลี้ยง เรียกว่า Pour plate method อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ จุ

ลินทรีย์ที่ใช้ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยง เช่น ถ้าต้องการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีชีวิตและเจริญในสภาวะที่มีอากาศใช้นิวเทรี้ยนอะการ์หรือเพลทเค้าท์อะการ์ (nutrient agar หรือ plate count agar) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าต้องการเพาะเลี้ยงยีสต์และราโดยเฉพาะใช้มอลท์เอ็กแทร็กอะการ์หรือโพเทโทเดกซ์โทรสอะการ์ (malt extract agar หรือ potato dextrose agar) ที่ปรับความเป็นกรดประมาณ 3.7-4.7 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ (ดวงพร, 2545 : หน้า 76 ; สุมณฑา, 2545 : หน้า 350)

วิธีมาตรฐานในการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยจานเพาะเลี้ยง จำนวนจุลินทรีย์ที่จะเพาะขึ้นมาจะต้องมีจำนวนพอเหมาะ เพราะถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดโคโลนีหนาแน่นมากจนนับไม่ได้ หรือถ้ามีน้อยเกินไปค่าความคลาดเคลื่อนก็สูงมากขึ้น จำนวนโคโลนีที่พอเหมาะควรอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี ดังนั้นในการนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อ ผู้ปฏิบัติควรคาดคะเนจำนวนจุลินทรีย์จากแหล่งตัวอย่างเก็บ ถ้าคาดว่าตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยไม่จำเป็นต้องทำการเจือจาง หากคาดว่ามีจุลินทรีย์มากจำเป็นต้องเจือจางตัวอย่างก่อนใส่ในอาหารเพาะเลี้ยง

เทคนิคการเจือจาง (dilution) จุลินทรีย์หรือตัวอย่างลงด้วยน้ำกลั่น หรือน้ำเกลือ 0.85% (normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและทราบปริมาตรที่แน่นอน การทำให้เชื้อเจือจางก็เพื่อให้มีการเจริญของโคโลนีเดี่ยวๆของจุลินทรีย์จำนวนที่เหมาะสม โดยปกติจะทำให้ความเจือจางเพิ่มขึ้นครั้งละ 10 เท่าเป็นลำดับ (ten fold serial dilution) เช่น 1:10 1:100 1:1,000 เป็นต้น เพื่อให้ง่ายต่อการปฏิบัติ และการคำนวณจำนวนโคโลนีต่อหน่วยนับ (กรัม หรือ มล.) (ภาควิชาจุลชีววิทยา, 2536 : หน้า 93) เมื่อนำตัวอย่างใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงออกมานับจำนวนโคโลนีโดยเลือกนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเลี้ยงที่อยู่ในระหว่าง 30-300 โคโลนี นำจำนวนโคโลนีที่นับได้คูณด้วยเศษส่วนกลับของอัตราความเจือจางหรือแฟคเตอร์ในการเจือจาง (dilution factor) ของจานที่นับโคโลนีรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมหรือต่อมิลลิลิตร (Colonies Forming Units : CFU หรือ CFU/g หรือ /ml) (ธาดา, 2534 : หน้า 102)

การนับจุลินทรีย์จากจานเพาะเลี้ยงโดยใช้ Pour plate method เป็นการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต โดยใช้เทคนิคการทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างเจือจางลงด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือ 0.85% จากนั้นจึงเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมละลายแล้วและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอย่างในแต่ละความเจือจาง เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว แล้วจึงนำเข้าบ่มเพาะเชื้อตามอุณหภูมิที่กำหนด เมื่อครบเวลานำจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีไปนับจำนวน คำนวณค่าเป็น CFU/g หรือ ml

การควบคุมจุลินทรีย์ในดินสอพอง

ดินสอพองที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่มักไม่ได้ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จึงอาจมีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ ทำให้เกิดอาการคันหรือผิวหนังอักเสบได้ วิธีการที่ทำให้ดินสอพองสะอาดขึ้นนั้นเรียกว่าการ **"สะตุ"** วิธีสะตุ ทำโดยนำดินสอพองใส่หม้อดิน ปิดฝาหม้อแล้วยกขึ้นตั้งไฟ ทิ้งไว้จนกว่า

ดินสอพองจะร้อนระอุเต็มที่แล้วจึงยกลง ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นก็นำมาใช้ได้ ดินสอพองสะตุนี้ถ้าเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดก็จะเก็บไว้ได้นาน โดยไม่ต้องมาเสียเวลาสะตุทุกครั้งที่ต้องการใช้ (สวยด้วยดินสอพอง, 2549) ดังนั้นวิธีการควบคุมจุลินทรีย์ในดินสอพองที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ดินสอพองจึงเป็นการใช้ความร้อนแห้ง

การใช้ความร้อนแห้ง เป็นวิธีทำลายจุลินทรีย์โดยทำให้เกิด Oxidative destruction ต่อโปรโตพลาสมของจุลินทรีย์ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย วิธีนี้ใช้ความร้อนสูงกว่าและเวลานานกว่าการฆ่าจุลินทรีย์โดยใช้ความร้อนชื้น มักใช้สำหรับฆ่าเชื้อในวัสดุที่เป็นโลหะ เครื่องแก้ว น้ำมัน และแป้ง (Black, 1999 : หน้า 328)

สุกัญญา (2547) ได้ทำการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการอบให้ความร้อนแก่ดินสอพองเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ปนเปื้อนในดินสอพอง โดยนำดินสอพองมาอบในตู้ลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 150 200 และ 250 องศาเซลเซียส การอบแต่ละอุณหภูมิใช้เวลา 30 60 90 120 และ 150 นาที และนำดินที่ผ่านการอบมาวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี Standard plate count พบว่า เมื่ออบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ยังคงมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนในดินสอพอง อบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาทีขึ้นไป ไม่พบจุลินทรีย์ในดินสอพอง และที่อุณหภูมิ 200 และ 250 องศาเซลเซียส ไม่พบจุลินทรีย์เช่นกัน จากนั้นนำผลการทดลองข้างต้นมาศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฆ่าจุลินทรีย์ในช่วง 100 ถึง 150 องศาเซลเซียส โดยอบเป็นเวลา 30 นาที พบว่าการอบที่ 120 องศาเซลเซียสยังคงพบจุลินทรีย์ปนเปื้อน และอุณหภูมิตั้งแต่ 130-150 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นหากต้องการฆ่าจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินสอพองสามารถทำได้โดยการให้ความร้อนแห้งจากการอบหรือสะตุที่อุณหภูมิประมาณ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร คันธโชติ. 2545. **นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์

ดินสอพอง. 2549. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_cosmetic/a_ch_3_0011c.asp?info_id=123)

ธาดา วิมลวัตรเวที. 2534. **คู่มือการสอนภาคปฏิบัติการ วิชา สข 214 วิชาจุลชีววิทยาในทางสาธารณสุข.** ภาควิชาสุขศึกษา คณะพลศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 141 หน้า

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค**. กรุงเทพฯ : Noble Print. 400 หน้า

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 หน้า

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2549. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/cosmetic/cosmetic/dat/law/MOPH_Notification_12.pdf

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ดินสอพองแปรรูป. 2549 [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps453_47.pdf

ภาควิชาจุลชีววิทยา. 2536. **จุลชีววิทยาปฏิบัติการ.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ : นวกนก. 327 หน้า

สวยด้วยดินสอพอง. 2549. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://www.geocities.com/dhealth061/beauty2.htm

สุกัญญา จำปาทิพย์. 2546. **การหาเงื่อนไขการอบฆ่าเชื้อในดินสอพอง.** ปัญหาพิเศษโปรแกรมวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2549. **จุลชีววิทยาทางดิน.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 470 หน้า

Black, J. G. 1999. **Microbiology principle and exploration**. 4th ed. New Jersey : Prentice hall.