หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกรด้วยน้ำมันมะพร้าว

Inhibition of *Staphylococcus aureus* on pork surface with coconut oil

จัดทำโดย

นาย ณัฐเวทย์ ทัลวัลลิ์

นางสาว สุภาวดี บุญนวล

นางสาวกนกวรรณ หิตานุหิตคุณ

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ผศ.ดร. ประภาพร ชาไหล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21066

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกรด้วยน้ำมันมะพร้าว

Inhibition of *Staphylococcus aureus* on pork surface with coconut oil

T096902

ณัฐวุฒย์ ทัลวัลลิ์
สุภาวดี บุญนวล
คนกวรรณ หิตานุหิตคุณ

ปพ.
กน363ก
ว5ค6
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96903
วัน,เดือน,ปี.....5 JUN 2006

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ณัฐเวทย์ ทัลวัลลิ์ , สุภาวดี บุณนวล และกนกวรรณ หิตานุหิตคุณ : การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกรด้วยน้ำมันมะพร้าว

Inhibition of *Staphylococcus aureus* on pork surface with coconut oil

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ,30หน้า

บทคัดย่อ

เนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดสดทั่วไป มักมาจากแหล่งผลิต คือโรงฆ่าและชำแหละสุกรที่ไม่ได้มาตรฐาน รวมทั้งการขนส่งที่ไม่สามารถป้องกันการปนเปื้อนได้ และไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ นอกจากนี้ในการวางจำหน่ายในตลาดสดก็ไม่ถูกสุขลักษณะ เนื่องจากมีการวางเนื้อสุกรบนเขียงที่เปิดโล่ง และไม่สะอาด ไม่มีการเก็บเนื้อสุกรไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญที่มักปนเปื้อนได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. เป็นต้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาแนวทางในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสามารถเก็บรักษาเนื้อสุกรสดไว้ได้นานในขณะวางจำหน่าย

เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวประกอบด้วย กรดไขมันอิ่มตัวบางชนิดที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิด เช่น กรดคาปริก (Capric acid), กรดลอริก (Lauric acid) ดังนั้นการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาผลของน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกร โดยนำเนื้อสุกรสดที่วางจำหน่ายในตลาดสด มาจุ่มลงในสารละลายเชื้อ *S. aureus* เพื่อให้เนื้อสุกรมีเชื้อ *S. aureus* เริ่มต้นประมาณ 10^5 cfu/g แล้วทาด้วยน้ำมันมะพร้าวชนิด virgin oil วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ทาน้ำมันมะพร้าว พบว่าเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรภายหลังการทาด้วยน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนลดลง 1.69 log cfu/g และภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เนื้อสุกรสดที่ทาน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนเชื้อ น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม 0.661 log cfu/g ส่วนจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่า ตัวอย่างเนื้อสุกรที่ทาน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม 0.276 log cfu/g และภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อน้อยกว่า 0.386 log cfu/g

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร .....

คณะอุตสาหกรรมเกษตร .....

ปีการศึกษา 2548 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

24 ธ.ค. 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การนำเสนอสัมมนาในหัวข้อเรื่อง การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวเนื้อสุกรด้วยน้ำมันมะพร้าว (Inhibition of *Staphylococcus aureus* on pork surface with coconut oil) นี้ได้สำเร็จลงด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษ โดยให้คำปรึกษาและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างมาก รวมทั้งแก้ไขรายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณอาจารย์ อดิศร เสวตวิวัฒน์ ผู้ซึ่งให้คำแนะนำและแก้ไขปัญหาพิเศษ ช่วยให้ปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง สำหรับความช่วยเหลือและน้ำใจของทุกท่าน รวมทั้งเพื่อนที่รักทุกคนในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ณัฐเวทย์ ทัลวัลลิ์
สุภาวดี บุญนวล
ณกวรรณ หิตตานุหิตคุณ
21 มีนาคม 2549

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่	**หน้า**
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทรรศน์	2
3. ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์ในการทดลอง	11
3.2 การเก็บตัวอย่าง	11
3.3 วิธีการทดลอง	11
4. ผลการทดลองและวิจารณ์	15
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	22
ประวัติผู้เขียน	24

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดง สารพิษที่สร้างโดยเชื้อ *S. aureus*	5
2.2 แสดง จุลินทรีย์ที่ถูกทำลายโดยกรดลอริก และMonolaurin	9
2.3 แสดง แบคทีเรียที่ถูกทำลายโดย MCFA และ Monoglycerides	10
3.1 แสดง Table McFarland Nephelometer Standards	12
4.1 แสดง ผลการเปรียบเทียบการลดลง-เพิ่มขึ้นของเชื้อ*S.aureus* บนตัวอย่างเนื้อสุกร	15
4.2 แสดง ผลการเปรียบเทียบการลดลง-เพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ทั่วไปบนตัวอย่างเนื้อสุกร	18
4.3 แสดง ผลต่างของจำนวนจุลินทรีย์บนตัวอย่างเนื้อสุกระที่ทาและไม่ทา น้ำมันมะพร้าวภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง	19

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างกรดลอลิก	7
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างกรดคาปริก	7
ภาพที่ 3.1 แสดงวิธีการทดลอง	14
ภาพที่ 3.2 แสดงตัวอย่างการเกิดเชื้อจุลินทรีย์	14
ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* บนตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าวภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง	16
ภาพที่ 4.2 แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ของกลุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird – Parker medium egg yolk ระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ 10^{-2}	17
ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด บนตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าวภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง	19

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

เนื้อสุกรเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญที่คนส่วนใหญ่นิยมบริโภค แต่ในขณะเดียวกันก็เป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย (perishable foods) เนื่องจากประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ น้ำ วิตามิน และมีความชื้นในปริมาณที่สูง จึงทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้ดี ในปัจจุบันได้มีการนำสารเคมีต่างๆมาใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีในเนื้อสุกรเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะสารเคมีจำพวก โซเดียมไนเตรท (sodium nitrate) ซึ่งเป็นสารที่ใช้ตรึงสีแดงของเนื้อสุกรโดยทางอ้อม และใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย หากเราบริโภคสารตกค้างนี้เข้าไปจะทำให้เกิดอาการกล้ามเนื้อกระตุก เป็นตะคริว คลื่นไส้ อาเจียน มีอาการทางประสาท มีผลกระทบต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ได้รับ หากมีการสะสมในร่างกายอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ เพื่อตระหนักถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค ในการศึกษานี้จึงได้มีการนำน้ำมันมะพร้าว ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่ใช้ในการบริโภคมาใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แทนสารเคมี เนื่องจากในน้ำมันมะพร้าวมี กรดลอริก (C_{12})และกรดคาพริก (C_{10}) ที่สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนผิวสุกร
2. เพื่อศึกษาการนำน้ำมันมะพร้าวมาใช้ในการยืดอายุและความปลอดภัยของการวางจำหน่ายเนื้อสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

Staphylococcus aureus

ลักษณะทั่วไปของ *Staphylococcus aureus*

- เซลล์ส่วนมากมีรูปร่างกลม (cocci) และรูปไข่ (ovoid or spherical) แต่อาจมีรูปร่างไม่แน่นอน ในกรณีที่แยกได้จากสัตว์จะพบมีรูปร่างแบน (flattened) และเรียวยาว (elongate)
- การเรียงตัวจะต่อกันเป็นสาย อาจจะสั้นหรือยาวขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ ชนิดของอาหารที่ใช้ในการเจริญโดยเฉพาะในอาหารเหลว หรือเชื้อที่นำมาจาก body fluid และหนองฝีของร่างกาย ในบางสภาวะอาจพบว่าเรียงกันอยู่เป็นคู่ๆ
- ติดสีแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้าง spore และรงควัตถุ (Pigment) ยกเว้นใน Lancefield group B และ group C มีรงควัตถุสีแดงอิฐ (Brick-red) หรือเหลือง
- การทดสอบ catalase ให้ผลบวก
- เป็น aerobic หรือ facultative anaerobic และจะเจริญได้ดีในบรรยากาศของคาร์บอนไดออกไซด์ 10 % และไนโตรเจน 90 %
- ขนาดของโคโลนีบนอาหารแข็งมีขนาดเล็กเท่าปลายเข็มหมุด ลักษณะของโคโลนีโค้งนูน (Convex) ขอบเรียบ (Entire) และแสงผ่านได้บ้าง (Translucent)
- เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิกว้างระหว่าง 10-45 องศาเซลเซียส แต่พวกที่ทำให้เกิดโรคในคนและสัตว์จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- ใช้น้ำตาลได้หลายชนิด แต่ให้กรดอย่างเดียว ไม่ให้ก๊าซ (Homofermentative)
- ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์

เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย 20 ชนิด พบว่าเกี่ยวข้องกับมนุษย์ 12 ชนิด (ดังตารางที่ 1) แต่ไม่ได้ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทั้งหมด ที่เหลืออีก 8 ชนิด พบว่าอยู่ร่วมกับสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ โดยปกติ *Staphylococcus* มักเป็น normal flora อยู่ที่ผิวของสัตว์ทั้งชั้นต่ำและชั้นสูง แต่จุลินทรีย์เหล่านี้มักฉวยโอกาสทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในสภาวะที่ Host อ่อนแอ

โดยทั่วไป *Staphylococci* ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น สามารถทนทานต่อความร้อนสูงถึง 60 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 30 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น (4 องศาเซลเซียส) ได้เป็นเวลาหลายเดือน นอกจากนี้ยังทนต่อฟีนอล และเมอคูริคคลอไรด์มากกว่าแบคทีเรียอื่นๆ เชื้อมีชีวิตรอดอยู่ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสูง 6.5% ได้ นอกจากนั้น *Staphylococcus* บางสายพันธุ์สามารถสร้างเอนไซม์ Penicillinase (beta lactamase) ซึ่งทำให้ดื้อต่อยาเพนิซิลลินได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus สามารถหมักย่อยน้ำตาลได้หลายชนิด เกิดเป็นกรดแลคติคแต่ไม่เกิดก๊าซ เชื้อที่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอลแล้วเกิดกรด ได้แก่ *S. aureus* ส่วนเชื้อที่ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาล ได้แก่ *S. epidermidis* และ *S. saprophyticus*

Staphylococcus มักพบบริเวณผิวหนังและเยื่อบุเมือก หรือบริเวณลำคอส่วน oropharynx และ nasopharynx เชื้อสแตฟฟิโลคอคคัสที่พบว่าสามารถก่อโรคในคน ได้แก่ *S. aureus* , *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*

S. aureus เป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ coagulase มีความสำคัญทางการแพทย์มาก สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุกๆ บริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนังสามารถทำให้ติดเชื้ออย่างอ่อนจนถึงขั้นรุนแรง รวมทั้งการเกิดหนองและการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง เป็นต้น การติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Staphylococci จะเรียกว่า "scalded-skin syndrome" นอกจากนี้ *S. aureus* อาจพบจากการติดเชื้อไวรัส เช่น ไจรัสไข้หวัดใหญ่ และสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในคนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) จาก *S. aureus* มักพบอยู่เสมอ และอาจก่อให้เกิดอาการของโรคต่างๆ มากมาย เช่น ลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ และเป็นหนอง เป็นต้น *S. aureus* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งเป็นผลจากการสร้าง Enterotoxin ได้ นอกจาก *S. aureus* ที่ให้เอนไซม์ coagulase แล้ว ยังมี *S. intermedius* และ *S. hyicus* ที่สร้างเอนไซม์ coagulase ด้วยเหมือนกัน แต่ยังไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคในคน

การทำให้เกิดโรค

Staphylococcus ทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุก แพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกายและมีความสามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (ตารางที่ 2.2) ได้แก่

1. Hemolysins (Staphylolysins) เป็นสารประกอบที่เชื้อปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน

Alpha hemolysin เป็นโปรตีน น้ำหนักโมเลกุล 3×10^4 มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่ายและทำลายเกล็ดเลือด (platelets) ได้ เมื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังกระต่าย ทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรงและทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเน่าตาย หากฉีดเข้ากระแสเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้

Beta hemolysin สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงแกะ แต่ไม่ทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย จะเห็นคุณสมบัตินี้เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อบน Blood agar

Delta hemolysin เป็นพวก phospholipase มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาวและต่อเนื้อเยื่ออื่นๆ หลายชนิด

Gamma hemolysin มีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่ค่อยมีความสำคัญในการทำให้เกิดโรค Epsilon hemolysin พบใน *S. epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Leukocidin (Panton-Valentine leukocidin) ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิด ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ถูกทำลายด้วยความร้อนง่ายกว่า Exotoxin ส่วนบทบาทในการทำให้เกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด

3. Enterotoxins *S. aureus* บางสายพันธุ์ สามารถสร้าง enterotoxin ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เชื้อสร้างสารดังกล่าวได้เป็นอย่างดี เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งแข็งกึ่งเหลว ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงประมาณ 30% enterotoxin เป็นโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 3.5 X 10^4 กิโลดาลตัน ทนต่อความร้อน 100 องศาเซลเซียส ได้นานประมาณ 30 นาที ทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร สารนี้เป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษในคน

4. Coagulase เชื้อสแตฟฟิโลคอคคัส ที่ทำให้เกิดโรคในคนส่วนมากสร้างเอนไซม์ coagulase ซึ่งทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ มี 2 ชนิด คือ

4.1 bound coagulase (clumping factor) เชื่อว่า เป็น receptor ที่จะทำปฏิกิริยากับ fibrinogen ในพลาสมา ทำให้เลือดแข็งตัว

4.2 free coagulase เอนไซม์นี้จะทำให้พลาสมาแข็งตัว ทำให้ร่างกายของ host ไม่สามารถกำจัดโดยเม็ดเลือดขาวได้ โดยที่เอนไซม์จะไปจับกับ coagulase reacting factor (CRF) ในพลาสมา ทำให้โปรทรอมบิน (prothrombin) เปลี่ยนไปเป็นทรอมบิน (thrombin) และไฟบริโนเจน (fibrinogen) เปลี่ยนไปเป็นไฟบริน (fibrin) ทำให้เลือดแข็งตัว ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถจับทำลายเชื้อได้

5. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการบุกรุกเนื้อเยื่อได้ดี (spreading factor) เนื่องจากเอนไซม์นี้จะไปทำลาย hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารเชื่อมเซลล์ให้ติดต่อกันเป็นเนื้อเยื่อ

6. Exfoliatin (Epidermolysin) เป็นสารพิษที่พบมาไม่นานนี้ ส่วนใหญ่สร้างโดย S. aureus phage type 2 สารพิษดังกล่าวทำให้เกิดอาการหลุดลอกของหนังกำพร้าทั่วร่างกาย (scalded skin syndrome) โรคนี้มักพบในเด็ก สำหรับผู้ใหญ่ที่มีภูมิต้านทานต่ำก็เป็นได้เหมือนกัน

7. Penicillinase (Beta-lactamase) เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่มเพนนิซิลลิน โดยที่เอนไซม์นี้จะทำลาย beta-lactam ring

นอกจากนี้ สแตฟฟิโลคอคคัสยังสามารถสร้างเอนไซม์พวก lipase , proteinase และ Dnase ทำให้การแพร่กระจายของโรคได้มากขึ้นอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารพิษที่สร้างโดยเชื้อ *S. aureus*

สารพิษ	ฤทธิ์
Staphylolysins	
Alphatoxin (hemolysin)*	Hemolytic ; increases permeability of Cell membrane ; dermonecrotic in rabbits low activity in humans
Beta hemolysin	More potent than alpha hemolysin,but found primarity in animal strains
Gamma hemolysin*	Hemolytic, leukotoxic
Delta hemolysin	Lyses leukocytes
Epsilon hemolysin	Present in *S. epidermidis*
Leukocidin	Lyses leukocytes
Enterotoxins	Directly act on intestinal wall, causing severe nausea and vomiting
Exfoliative toxins (exfoliatin)	Disrupts desmosomes that bind cells in the granular layer of epidermis,causes skin peeling
Coagulase	Clots plasma
Hyaluronidase	Depolymerizes groundsubstance of tissues ("spreading factor")
Staphylokinase	Dissolves fibrin clots
Bacteriocin (staphylococcin)	Inhibits or kills other closely related gram positive cocci

* Greater than 95 percent of S. aureus form one ofthese toxins. 82 percent foam both,

(จาก จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์, เภสัชจุลวิทยา 2531 : 166)

การแพร่กระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

คน นับเป็นแหล่งใหญ่ของเชื้อนี้ พบมากที่สุดที่จมูก ตามผิวหนังส่วนต่างๆ รอยแผล ลำคอ นัยน์ตา และระบบขับถ่าย ดังนั้นเชื้ออาจแพร่กระจายไปสู่เสื้อผ้า อากาศและฝุ่นละออง รวมถึงปะปนลงไปในอาหารด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคนที่มีเชื้อนี้อยู่ในจมูก แขน และที่มือที่มีบาดแผลเรื้อรังมีโอกาสที่จะแพร่เชื้อลงสู่อาหารได้

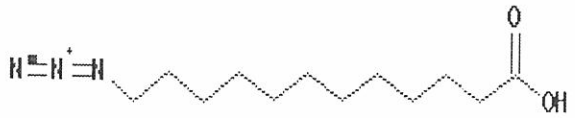
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดสดทั่วไป มักมาจากแหล่งผลิต คือโรงฆ่าและชำแหละสุกรที่ไม่ได้มาตรฐาน มีการฆ่าและชำแหละบนพื้น รวมทั้งการขนส่งที่ไม่สามารถป้องกันการปนเปื้อนได้ เนื่องจากเป็นการขนส่งซากด้วยรถขนส่งขนาดเล็กที่เปิดโล่ง และไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ นอกจากนี้ในการวางจำหน่ายในตลาดสด ก็ไม่ถูกสุขลักษณะ เนื่องจากมีการวางเนื้อสุกรบนเขียงที่เปิดโล่ง และไม่สะอาด ไม่มีการเก็บเนื้อสุกรไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะสม ทำให้เกิดความเน่าเสียของเนื้อได้ง่าย และเกิดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคสูง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. เป็นต้น (Sheridan *et al.*, 1996)

น้ำมันมะพร้าวนั้นมีโครงสร้างเป็น medium chain fatty acid (C_8-C_{12})โดยทั่วไปแล้วน้ำมันมะพร้าวและไขมันสัตว์ทั้งหมด มีกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณที่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะจัดอยู่ในประเภทกรดไขมันอิ่มตัว และเป็นแหล่งที่ให้พลังงานแก่ร่างกายเช่นเดียวกัน แต่กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด จะมีความแตกต่างทางเคมี โดยพิจารณาที่ความยาวของ Carbon Chain และแนวโน้มของการเกิดภาวะคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง (hyper-cholesterolsemia) ของกรดไขมันแต่ละชนิด น้ำมันมะพร้าวจัดว่ามีกรดไขมันที่มีคาร์บอน 12 อะตอม หรือน้อยกว่า ซึ่งจัดเป็นประเภทสายโซ่ขนาดกลาง น้ำมันมะพร้าวมี Medium Chain Fatty Acids (MCFAS) 63.5% ซึ่ง MCFAS นี้จะมีเฉพาะในน้ำมันมะพร้าว และน้ำมันเนื้อในกะลาปาล์ม ที่ใช้ในการประกอบอาหาร ในทางตรงกันข้าม กรดไขมันอิ่มตัวที่มีอยู่ในน้ำมันพืชชนิดอื่นและไขมันสัตว์ จะมี Carbon Chain ยาว มีจำนวน Carbon มากกว่า 12 อะตอม ถูกจัดอยู่ในประเภท Long Chain Fatty Acids ในน้ำมันมะพร้าวนั้นประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวหลายชนิด เช่น กรดคาปริก (Capric acid), กรดลอริก (Lauric acid) และอื่นๆ ส่วนกรดไขมันที่พบมาก คือ กรดลอริก ($C_{12}H_{23}N_3O_2$) จะพบประมาณ 50%ของปริมาณไขมันในน้ำมันมะพร้าว ในกรดลอริกนั้น จะประกอบด้วยสาร monolaurin ซึ่งสาร monolaurin มีคุณสมบัติเป็น antibacterial, antiviral และ antiprotozoa ซึ่งเป็นสมบัติที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ได้ (Kabara, 1984) โดยสาร monolaurin นั้นจะยับยั้งจุลินทรีย์หรือแบคทีเรีย ประเภทที่มีไขมันหุ้ม (lipid coated) เช่น *Staphylococcus aureus* หรือ *Listeria* spp. เชื้อไวรัส เช่น HIV, *Visna virus* (Hierholzer and Kabara, 1982) โดยสาร monolaurin นั้นจะทำให้ไขมันที่ล้อมรอบเซลล์ของจุลินทรีย์นั้น สลายตัวทำให้จุลินทรีย์นั้น อ่อนแอลง และจะตายไปเอง หรือถ้าสาร monolaurin เข้าสู่ร่างกาย หลังจากที่สลายไขมันรอบๆเซลล์แล้ว ภูมิคุ้มกันของร่างกาย จะเป็นตัวทำลายจุลินทรีย์เหล่านี้เอง โดยปกติแล้ว สาร monolaurin จะทำงานได้ดีเมื่อทำงาน ร่วมกับสาร monocaprin ที่อยู่ใน กรดคาปริก ซึ่ง สาร monocaprin นั้นมีคุณสมบัติที่เหมือนกันกับ monocaprin แต่จะมีฤทธิ์ที่น้อยกว่าสาร monolaurin นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งโดยสาร monolaurin ได้อีกเช่น *Escherichia coli* , *Salmonella* (Isaacs *et al.*, 1991) เรายังสามารถพบกรดลอริกได้ในน้ำมันปาล์ม ซึ่งจะพบในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันที่ ปริมาณของกรดคาปริก ซึ่งน้ำมันมะพร้าวจะมีปริมาณที่มากกว่า ทำให้ความสามารถ ของน้ำมันมะพร้าว สองชนิดนี้แตกต่างกัน



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของ Lauric acid ($C_{12}H_{23}N_3O_2$) หรือ Dodecanoic acid

ที่มา:

http://apps1.niaid.nih.gov/struct_search/class/class_many.asp?class=FATTY%20ACIDS

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ Capric acid ($C_{10}H_{20}O_2$ หรือ Decanoic acid

ที่มา :

http://apps1.niaid.nih.gov/struct_search/an/AN_many.asp?txtANChemAlt=C10&ANChemAltCrit=ext

การต่อต้านเชื้อโรคของน้ำมันมะพร้าว

น้ำมันมะพร้าวมีคุณสมบัติ ดังนี้

- น้ำมันมะพร้าวเป็นสารต่อต้านเชื้อโรค ทั้งที่เป็นแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส
- ทำหน้าที่เป็นยาปฏิชีวนะ และสามารถทำลายเชื้อที่ดื้อยา หรือที่ยาปฏิชีวนะทั่วไปไม่สามารถทำลายได้
- น้ำมันมะพร้าวสามารถละลายไขมันของจุลินทรีย์ที่มีเกราะหุ้ม เช่น HIV, Corana virus, Bird flu
- เพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย
- ช่วยลดการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส
- ช่วยร่างกายมนุษย์ในการต่อสู้กับเชื้อโรค ที่สารปฏิชีวนะไม่สามารถทำอะไรได้ เช่น HIV, *Helicobacter pylori* เป็นต้น

ทำไม virgin coconut oil จึงเปรียบ เสมือนเป็น "nutraceutical" และ functional food ทั้งนี้เนื่องจากจะให้พลังงานอย่างทันทีทันใดกับร่างกายแล้ว น้ำมันมะพร้าวยังเป็นสมุนไพรอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพราะ MCFA (C_8-C_{12}) ในน้ำมันมะพร้าว เหมือนกับ FA ในน้ำนมมารดาที่ให้ภูมิคุ้มกันต่อโรคแก่ทารก และมีบทบาทเช่นเดียวกัน

จากงานวิจัยของ Kabara (1984) ผู้บุกเบิกงานวิจัยเกี่ยวกับบทบาทของกรดลอริกในการฆ่าเชื้อโรค พบว่า

- กรดลอริก (C_{12}) ซึ่งมีอยู่ในปริมาณมากในน้ำมันมะพร้าว มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค และอยู่ตัวในการใช้เฉพาะที่ และเคลื่อนที่ตามระบบหมุนเวียน
- กรดลอริกมีสาร monoglyceride, monolaurin ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่ากรดลอริกเสียอีก
- แม้ว่ากรดคาปริก (C_{10}) และ monocaprin มีประสิทธิภาพต่อต้านเชื้อโรคต่ำกว่ากรดลอริก แต่อาจเสริมประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าว
- Monolaurin ที่ใช้เป็นอาหารเสริม สามารถใช้เป็นสารปฏิชีวนะและสารต้านไวรัส โดยเฉพาะต่อไวรัสที่มีไขมันเป็นเกราะหุ้ม
- Monolaurin ไม่ได้สร้างความต้านทานให้แก่เชื้อโรค แต่กลับไปลดความต้านทานของมันต่อสารปฏิชีวนะ
- เมื่อเราบริโภคน้ำมันมะพร้าว ร่างกายจะสร้าง Monolaurin เพื่อต่อสู้กับเชื้อโรค
- มีงานวิจัยแสดงว่าไขมันจากมะพร้าวที่มีอยู่ในอาหาร จะสร้างสภาพของไขมันในร่างกายที่ปกติ เพื่อช่วยป้องกันตับ ให้พ้นอันตรายจากฤทธิ์ของแอลกอฮอล์ และช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันเพื่อต่อต้านการอักเสบ
- กรดไขมันที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อโรค รวมทั้งอนุมูลของมัน ไม่เป็นพิษต่อร่างกายของมนุษย์ อีกทั้งยังผลิตได้ภายในร่างกายของมนุษย์เมื่อ ได้รับอาหารที่มี MCFA เช่นน้ำมันมะพร้าว
- คุณสมบัติทางยาของกรดลอริกและ monolaurin ได้รับการยืนยันจากนักวิจัยอื่น ๆ เป็นเวลากว่า ๔๐ ปีมาแล้ว และมีผลงานตีพิมพ์ไม่ต่ำกว่า ๒๐ เรื่อง และสิทธิบัตรจากอเมริกาจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 .2 จุลินทรีย์ที่ถูกทำลายโดยกรดลอริก และMonolaurin

LIPID COATED VIRUSES ไวรัสที่มีไขมันเป็นเกราะหุ้ม	
• *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*	• *Visna virus*
• *Measles virus*	• *Cytomegalovirus*
• *Herpes simplex virus*	• *Epstein-Barr virus*
• *Herpes viridae*	• *Influenza virus*
• *Sarcoma virus*	• *Leukemia virus*
• *Synctial virus*	• *Pneumonovirus*
• *Human lymphotropic virus (Type II)*	• *Hepatitis C virus*
• *Vesicular stomatitis virus*	

LIPID COATED BACTERIA แบคทีเรียที่มีไขมันเป็นเกราะหุ้ม	
• *Listeria monocytogenes*	• *Streptococcus agalactiae*
• *Helicobacter pylori*	• *Groups A,B,F & G streptococci*
• *Hemophilus influenza*	• *Gram-positive organisms*
• *Staphylococcus aureus*	• *Gram-negative organisms (if pre-treated with chelator)*

ที่มา : Fife (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แบคทีเรียที่ถูกทำลายโดย MCFA และ Monoglycerides

BACTERIUM	DISEASES CAUSED
• **Streptococcus**	- throat infections, pneumonia, sinusitis, ear ache, rheumatic fever, dental cavities
• *Staphylococcus*	- staph infection, food poisoning, urinary tract infections, toxic shock syndrome
• *Neisseria*	- meningitis, gonorrhea, pelvic inflammatory disease
• *Chlamydia*	- genital infections, lymphogranuloma venereum, conjunctivitis, parrot fever, pneumonia, periodontitis
• *Helicobacter pylori*	- stomach ulcers
• *Gram positive organisms*	- anthrax, gastroenteritis, botulism, tetanus

ที่มา : Fife, B. 2001 'The Healing Miracles of Coconut Oil' Piccadily Books, Ltd., Colorado Springs, CO 80936, U.S.A.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

1. เนื้อหมูจากตลาดสด (เนื้อส่วนสะโพก)
2. เนื้อหมูจากห้างสรรพสินค้า (เนื้อส่วนสะโพก)
3. น้ำมันมะพร้าวชนิด virgin oil

อาหารเลี้ยงเชื้อและreagent

1. Baird-Parker medium egg yolk (BP-medium)
2. Trypticase Soy Agar (TSA) สำหรับ *Staphylococcus aureus*
3. PCA
4. Butterfield's phosphate
5. Sodium chloride solution 0.85% น้ำยาเจือจาง
6. Mcfarland standard solution

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

1. เครื่องตีปั่น stomacher
2. เครื่องเขย่าหลอดทดสอบ (vortex mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

ขั้นตอนการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกร (Podolak *et al.*, 1996)

นำเนื้อหมูส่วนสะโพกมาตัดแต่งให้ได้ชิ้นเนื้อที่มีขนาดประมาณ 5 x 5 x 1 เซนติเมตร นำหนักประมาณ 40 กรัมต่อชิ้น นำมาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV และเปิด Laminar flow ในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 นาที โดยกลับชิ้นเนื้อทุก 30 นาที

2. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ในการทดลอง(สำหรับจุ่มตัวอย่าง)

2.1 นำเชื้อ *S. aureus* มาทำการ steak ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ทำการบ่มเชื้อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 2 วันเพื่อในเชื้อเจริญและแข็งแรง

2.3 นำเชื้อที่ทำการบ่มแล้ว มาเจือจาง ด้วยสารละลาย butterfield phosphate โดยเจือจางให้มีปริมาตรรวมทั้งหมด 500 ml

2.4 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการเจือจางแล้วไปวัดค่า absorbance โดยเปรียบเทียบค่า จากตาราง Mcfarland และใช้ สาร Mcfarland standard เป็น blank โดยจากตาราง Mcfarland นั้นจะใช้ค่า Mcfarland standard No 0.5 เนื่องจากมีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด โดยหลังจากที่ set ค่าของเครื่อง spectrophotometer เรียบร้อยแล้ว จะทำการวัดเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการวัดค่าให้ได้ 0.132 ที่ความยาวคลื่น 600 nm ความเข้มข้นเชื้อที่ได้คือ $1.5x10^8$ cfu/ml แล้วจึงนำไปเจือจางให้เหลือความเข้มข้นของเชื้อที่ $1.0 x10^6$ cfu/ml

ตารางที่ 3.1

Table 1. McFarland Nephelometer Standards					
McFarland Standards No.	**0.5**	**1**	**2**	3	4
1.0% Barium chloride (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
1.0% Sulphuric acid (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
Approx. cell density (1X108ml)	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0
% Transmittance*	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
Absorbance*	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669

*Wavelength of 600 nm

ที่มา : http://dentistry.ouhsc.edu/intranet-web/Courses/DML_8351/DiskDiff.html

3. การศึกษาผลของน้ำมะพร้าวในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* บนเนื้อสุกร (ดัดแปลงจาก Podolak *et al.*, 1996)

3.1 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรจากข้อ 1 มาจุ่มในสารละลายเชื้อ *S. aureus* ที่มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 cfu/ml เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำมาผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ

3.2 แบ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรจากข้อ 3.1 ออกเป็น 2 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 : นำน้ำมันมะพร้าวมาทาที่ผิวหน้าของชิ้นเนื้อสุกรทั้งสองด้าน โดยใช้แปรงจุ่มน้ำมันมะพร้าวและทาให้ทั่วชิ้นหมู แล้ววางทิ้งไว้ 15 นาที

กลุ่มที่ 2 : เป็นกลุ่มตัวอย่างควบคุม คือไม่ได้ทาด้วยน้ำมันมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 นำตัวอย่างทั้งสองกลุ่มมาวางไว้บนตะแกรง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างจากทั้ง สองกลุ่มทุก 2 ชั่วโมง เพื่อนำมาหาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตามวิธีการในข้อ 3.4

3.4 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* (FDA-BAM, 1992)

- นำตัวอย่างชิ้นเนื้อจำนวน 25 กรัม มาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก
- นำเนื้อหมูที่ทำการตัดแล้วมา ผสมกับน้ำเกลือ 0.85% 225 ml แล้วนำไปทำการตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher 30 วินาที
- ทำการเจือจางตัวอย่าง ด้วยน้ำเกลือปริมาตร 9 ml (ทำการเจือจาง 3 ระดับคือ 10^{-1} , 10^{-2} ,10^{-3})
- ปิเปตตัวอย่างอาหารลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker medium egg yolk ระดับความเจือจางละ 2 เพลท เพลทละ 0.1 ml
- ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยเชื้อให้ทั่วให้ครบทุกระดับความเจือจาง
- บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง
- ทำการตรวจนับโคโลนีที่เป็นสีดำบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกันระหว่าง หมูที่ทาน้ำมันมะพร้าวกับหมูที่ไม่ได้ทาน้ำมันมะพร้าว

4. การศึกษาผลของการใช้น้ำมะพร้าวต่อการยืดอายุเนื้อสุกรในการวางจำหน่ายในตลาดสด

4.1 นำเนื้อสุกรที่ซื้อจากตลาดสด มาตัดเป็นชิ้นขนาดประมาณ 5 x 5 x 1 เซนติเมตร

4.2 แบ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรจากข้อ 4.1 เป็น 2 กลุ่มการทดลอง

- กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ทาด้วยน้ำมันมะพร้าว
- กลุ่มที่ 2 นำมาทาด้วยน้ำมันมะพร้าวบางๆ ให้ทั่ว

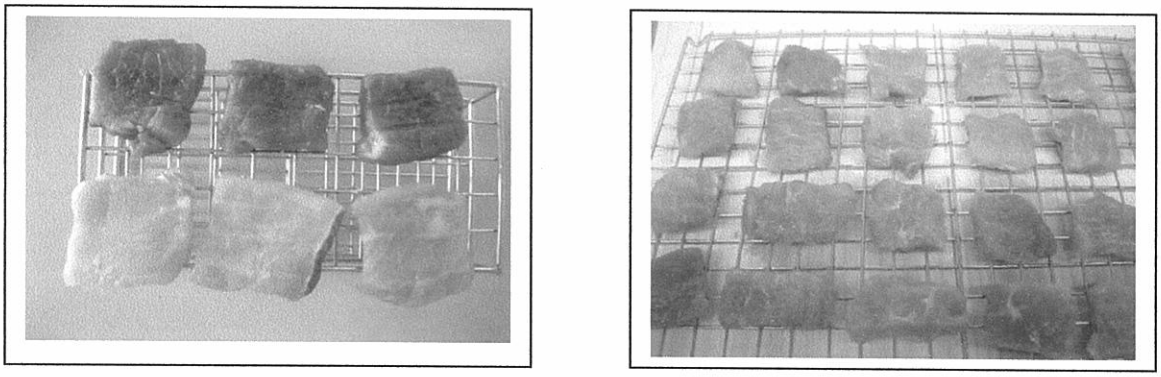
4.3 นำตัวอย่างของทั้ง 2 กลุ่มมาวางไว้บนถาด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากทั้ง 2 กลุ่ม ทุก 2 ชั่วโมง

4.4 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี pour plate (FDA-BAM, 1992)

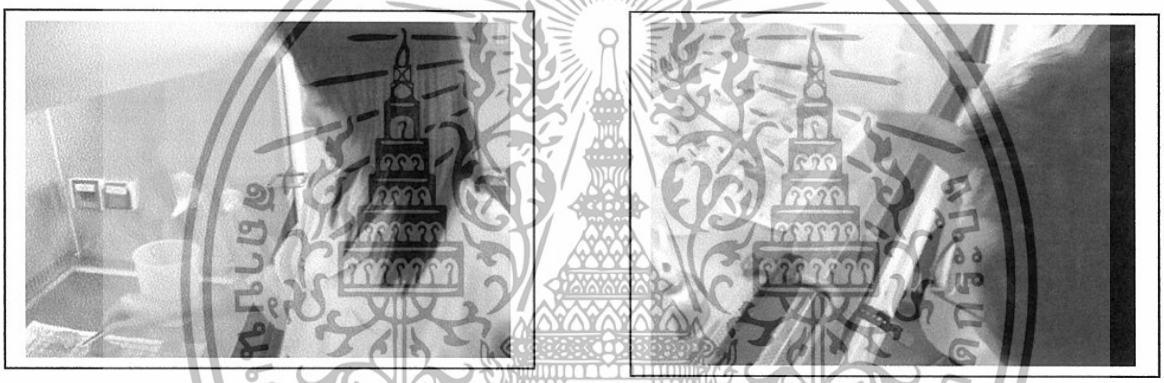
5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในข้อ 2 และ 3 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 : แสดงลักษณะและขนาดชิ้นเนื้อสุกร



ภาพที่ 3.2 : แสดงการทดลองและเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

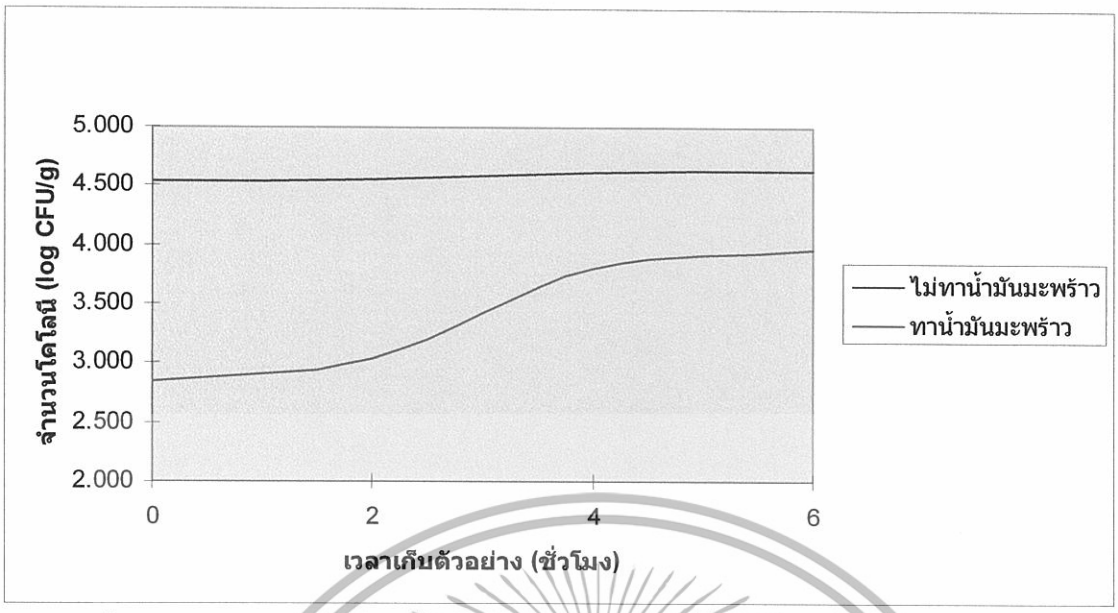
1. ผลของน้ำมะพร้าวในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* บนเนื้อสุกร

จำนวนเชื้อ *S. aureus* บนผิวเนื้อสุกรที่ทางและไม่ทาน้ำมันมะพร้าว ภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 จำนวนเชื้อ *S. aureus* บนตัวอย่างเนื้อสุกรกลุ่มที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าว

กลุ่มตัวอย่าง	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อ *S. aureus* (cfu/g)	(log cfu/g)
ไม่ทาน้ำมันมะพร้าว	0	3.6×10^{4}	4.544
	2	3.6×10^{4}	4.551
	4	4.2×10^{4}	4.611
	6	4.4×10^{4}	4.631
ทาน้ำมันมะพร้าว	0	7.6×10^{2}	2.853
	2	1.1×10^{3}	3.032
	4	6.8×10^{3}	3.799
	6	1.0×10^{4}	3.970

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

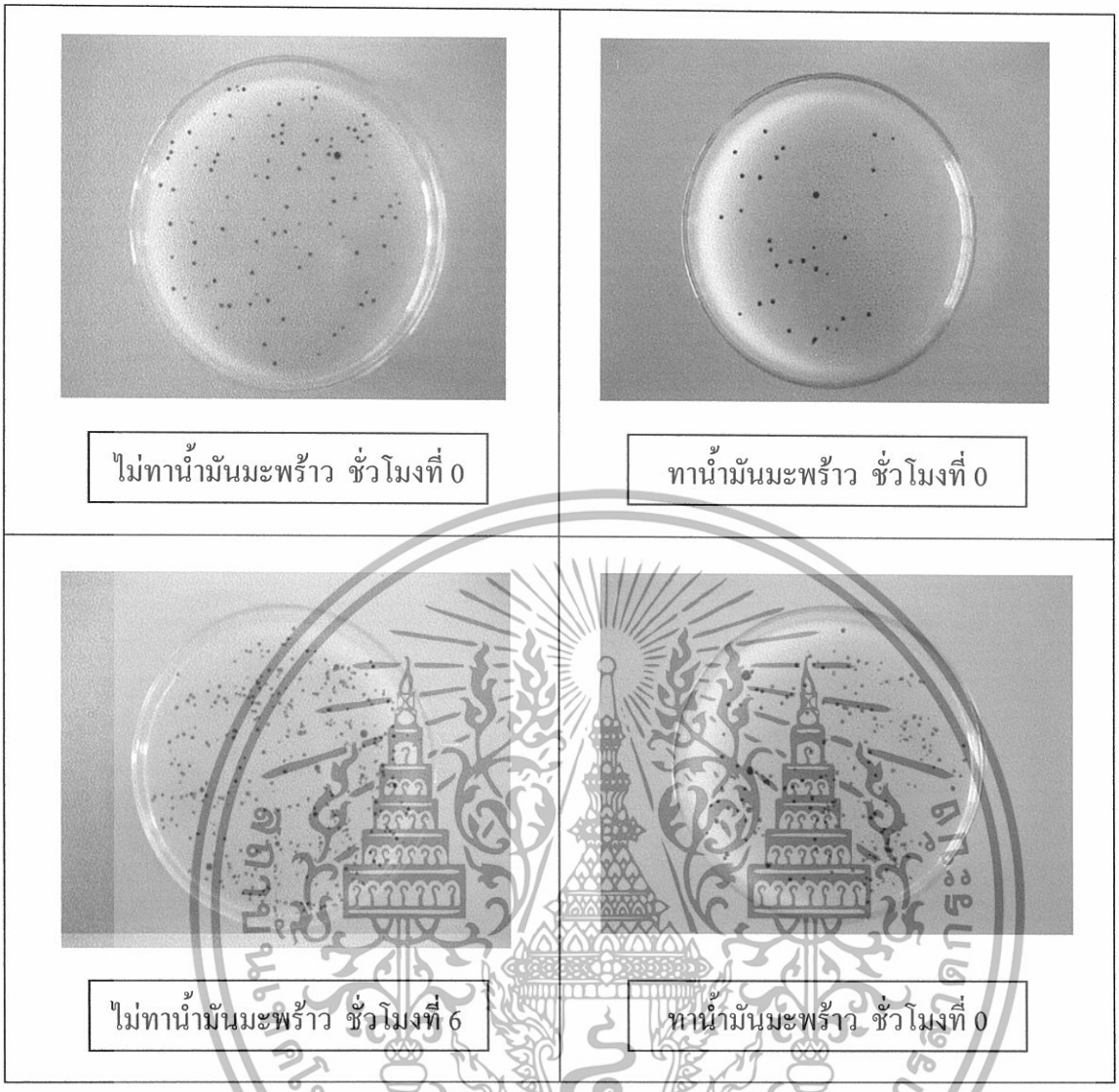


ภาพที่ 4.1 : กราฟแสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* บนตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าวภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

จากตารางที่ 4.1 พบว่าตัวอย่าง เนื้อสุกรที่ไม่ทาน้ำมันมะพร้าว ซึ่งมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* เริ่มต้น เท่ากับ 4.54 log cfu/g ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.63 log cfu/g ซึ่งเชื้อเพิ่มจำนวนเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากอุณหภูมิห้องอยู่ระหว่าง 23-25 องศาเซลเซียส จึงทำให้เชื้อเจริญเติบโตอย่างช้าๆ ส่วนตัวอย่างเนื้อสุกรภายหลังการทาด้วยน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 2.85 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม 1.69 log cfu/g และภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 3.97 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม 0.66 log cfu/g ดังนั้นน้ำมันมะพร้าวจึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีภายหลังการทา ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำมันมะพร้าวมี Lauric acid และ Capric acid อยู่เป็นปริมาณมาก ซึ่ง Lauric acid นี้จะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วน Capric acid จะมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า Lauric acid แต่จะไปช่วยเสริมประสิทธิภาพในการทำงานของ Lauric acid ให้ทำงานได้ดีขึ้น และใน Lauric acid จะมี Monolaurin ที่เป็นสารต้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีไขมันเป็นเกราะหุ้ม โดยสาร Monolaurin จะทำให้ไขมันที่ล้อมรอบเซลล์ของจุลินทรีย์สลายตัว ทำให้เชื้อจุลินทรีย์นั้นอ่อนแอลง มีการเจริญเติบโตที่ช้าลง

แต่อย่างไรก็ตาม จากภาพที่ 4.1 พบว่าภายหลังการวางตัวอย่างเนื้อสุกรเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เชื้อมีการปรับสภาพและสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งในขณะที่เชื้อมีการเจริญเติบโตจะมีการสร้างสารพิษ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากสารพิษของเชื้อ *S. aureus* เป็นชนิดที่สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงได้ดี (Heat stable toxin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 : แสดงจำนวนเชื้อ *S. aureus* ของกลุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird – Parker medium egg yolk ระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ 10^{-2}

จากภาพที่ 4.2 พบว่าลักษณะการโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* จะมีลักษณะของโคโลนีที่เป็นสีดำ และมีตะกอนขุ่นรอบๆ โคโลนี ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ lecithinase ทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่นที่เรียกว่า opaque หรือ creamy zone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96902

2. ผลของน้ำมะพร้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปบนเนื้อสุกร

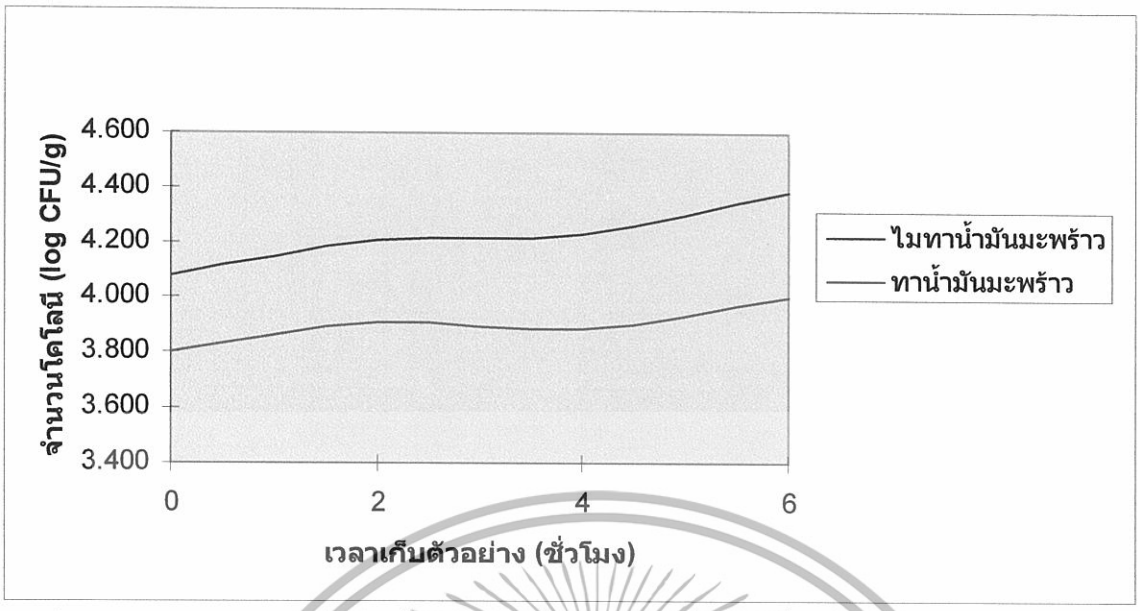
จากการวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ของตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรที่ซื้อมาจากตลาดสด และนำมาทาและไม่ทาน้ำมะพร้าว ภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลดังแสดงดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อสุกรที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าว ภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

กลุ่มตัวอย่าง	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลนทรีย์ทั้งหมด (cfu/g)	(log cfu/g)
ไม่ทาน้ำมันมะพร้าว	0	1.4×10^{4}	4.076
	2	1.7×10^{4}	4.210
	4	1.7×10^{4}	4.227
	6	2.5×10^{4}	4.384
ทาน้ำมันมะพร้าว	0	6.6×10^{3}	3.800
	2	8.6×10^{3}	3.907
	4	7.8×10^{3}	3.822
	6	1.2×10^{4}	4.002

จากตารางที่ 4.2 พบว่าเนื้อสุกรซึ่งซื้อมาจากตลาดสดที่ไม่ทาน้ำมันมะพร้าวจะมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น เท่ากับ 4.076 log cfu/g และเมื่อนำมาทาด้วยน้ำมันมะพร้าว เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเป็น 3.80 log cfu/g และภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ไม่ได้ทาน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 4.384 log cfu/g ในขณะที่ตัวอย่างที่ทาน้ำมันมะพร้าว มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็น 4.002 log cfu/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด บนตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าวภายหลังการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ความแตกต่างของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างกลุ่มที่ทาและกลุ่มมที่ไม่ได้ทาน้ำมันมะพร้าว แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลต่างของจำนวนจุลินทรีย์บนตัวอย่างเนื้อสุกรที่ทาและไม่ทาน้ำมันมะพร้าวภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

	ระยะเวลาการเก็บ (ชั่วโมง)	กลุ่มตัวอย่าง		ปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 ชม. (log CFU/g)
		ไม่ทาน้ำมัน	ทาน้ำมัน	
จุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)	0	4.076	3.800	0.276
	6	4.384	4.002	0.382
S. aureus (log cfu/g)	0	4.544	2.853	1.691
	6	4.631	3.970	0.661

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.3 พบว่าเนื้อสุกรที่ทาด้วยน้ำมันมะพร้าววางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 ชั่วโมง มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ทาน้ำมันมะพร้าว 0.276 log cfu/g และภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จะมีจำนวนเชื้อน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม 0.386 log cfu/g

- ส่วนเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรภายหลังการทาด้วยน้ำมันมะพร้าวมีจำนวนลดลง 1.69 log cfu/g และภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่ทาน้ำมันมะพร้าวน้อยกว่าในตัวอย่างควบคุม 0.661 log cfu/g ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำมันมะพร้าวสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ในช่วงระยะเวลาแรกๆ เท่านั้น เนื่องจากเชื้ออยู่ในระหว่างการปรับสภาพ หรือระยะ lag phase และจากผลของ Lauric acid และ Capric acid ในน้ำมันมะพร้าวที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่ภายหลัง 2 ชั่วโมง เชื้อจะสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเนื่องจาก กรดไขมันทั้งสองชนิดถูกออกซิไดซ์ จึงทำให้ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้น้อยลง ดังนั้นการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงควรควบคุมอุณหภูมิของเนื้อสุกร ไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ควบคู่ไปกับการทาด้วยน้ำมันมะพร้าว

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21066

เอกสารอ้างอิง

Fife, B. 2001 "The Healing Miracles of Coconut Oil" Piccadily Books, Ltd., Colorado Springs, CO 80936, U.S.A.

Food and Drug Administration. 1992. Bacteriological AAnalytical Manual, 7th edition. AOAC International. Arlington.VA.

Podolak, R.K., Zayas, J.F., Kastner, C.L. and Fung, D.Y.C. 1996. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organic acids. Journal of Food Science. 59(4):370-373.

Sheridan, J.J., Buchanan, R.L. and Montville, T.J. 1996. HACCP and integrated approach to assuring the microbiological safety of meat and poultry. Food and Nutrition Press Inc. Trumbull. Connecticut. USA.

Hierholzer,J.C., and J.J.Kabara. 1982. In vitro effects of monolauric compounds on enveloped RAN and DNA viruses.*Journal of food Safety*. 4.

Isaace, C.E., and H. Thormar. 1991. The role of milk-derived antimicrobial lipids as antiviral and antibacterial agents. In *Immunology of milk and the neonate*. edited by J.Mestecky, Blair C.,and Ogra P.L. New York :Plenum Press.

Kabara.J.J.1984. Antimicrobial agent derived from fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists Society*61.

http://www.naturdoctor.com/Chapters/Vitamins/Supplements/Coconut_oil.html

http://www.olympusmicro.com/micd/galleries/polarized/lauricacid1.html

http://www.scientificpsychic.com/fitness/fattyacids.html

http://www.bayanihan.org/html/article.php/20030827104428433

http://apps1.niaid.nih.gov/struct_search/class/class_many.asp?class=FATTY%20ACIDS

http://apps1.niaid.nih.gov/struct_search/an/AN_many.asp?txtANChemAlt=C10&ANChemAltCrit=ext

http://dentistry.ouhsc.edu/intranet-web/Courses/DMI_8351/DiskDiff.html

หอสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird-Parker medium

1.1 Base medium

Tryptone	10 g	Beef extract	1 g
Yeast extract	1 g	Sodium pyruvate	10 g
Glycine	12 g	Lithium chloride.6H_2O	5 g
Agar	15 g		
น้ำกลั่น	900 ml	Final pH	7.0 ± 0.2

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวุ้นละลาย ปรับพีเอช เทสารละลายที่ได้ลงในฟลาส์ก 500 มิลลิลิตร ให้ได้ฟลาส์กละ 225 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที

1.2 สารละลาย 1% Potassium tellurite

Potassium tellurite	1 g
น้ำกลั่น	100 ml

ละลาย Potassium tellurite ในน้ำกลั่น กรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ เก็บในขวดปลดอเชื้อที่ปิดสนิท เก็บในตู้เย็น 4°ซ

1.3 Egg yolk – tellurite emulsion

ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไข่ไก่ไว้ใน 0.1% $HgCl_2$ เป็นเวลาประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน 70% ethanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตอกไข่ไก่และทำการแยกไข่ขาวโดยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกไข่แดงใส่ลงในขวดปราศจากเชื้อที่มีขีดบอกปริมาตร ผสมไข่แดงและน้ำเกลือ 0.85% (normal saline) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วผสมในอัตราส่วนน้ำเกลือ 0.85% 7 ส่วน+ไข่แดง 3 ส่วน จากนั้นนำ Egg yolk emulsion ที่ได้จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 1% Potassium tellurite ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร ปิดฝาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°ซ

1.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบ่งอาหาร Baird-Parker base medium มา 95 มิลลิลิตร (อุณหภูมิประมาณ 45-50°ซ) เติม Egg yolk tellurite emulsion ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันระวังฟองอากาศ แล้วเทใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **Plate Count Agar (Standard Method)**

Tryptone	1 g
Yeast-extract	0.5 g
Glucose	0.2 g
Agar	3 g
D.W.	200 ml

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

3. **Trypticase (Tryptic) Soy Broth**

Tryptone	17 g
Soytone	3.0 g
Glucose	2.5 g
NaCl	5.0 g
K_2HPO_4	2.5 g
D.W.	1000 ml

อุ่นละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารลงในฟลาส์กหรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

4. **Trypticase Soy Agar Yeast-Extract**

Agar	1.5%
Yeast-extract	0.6%

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในอาหาร TSB โดยกวนตลอดเวลา ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวหลอด ปิดจุกเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งโดยที่ให้มีผิวหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร และมี butt ยาวประมาณ 2-3 เซ็นติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ณัฐเวทย์ ทัลวัลลิ์ เกิดเมื่อวันที่ 6 ธันวาคม จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน บดินทรเดชา(สิงห์ สิงหเสนี) จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปี พ.ศ. 2545 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต(อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2548

สุภาวดี บุญนวล เกิดเมื่อวันที่ 14 สิงหาคม จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนธนบุรีวรเทพีพลารักษ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปี พ.ศ. 2544 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต(อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2548

กนกวรรณ หิตานุหิตคุณ เกิดเมื่อวันที่ สิงหาคม จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนยุพราช จังหวัดเชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2545 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต(อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้