สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การยับยั้ง *Salmonella* sp. โดยสาร Chlorine releasing compound

นายจิรยุทธ์ ลอยสมุทร

นางสาวเมธีรา ทังสุบุตร

นางสาวศิรินทร์ ละไมเสถียร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2540

QW
A498n
2540

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....30618.
วัน, เดือน, ปี 28 ก.ค. 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Inhibition of *Salmonella* sp. by Chlorine releasing compound

Mr. Jirayuth Loisamut

Miss Mayteera Dangsuputra

Miss Sirin Lamaisathein

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การยับยั้ง *Salmonella* sp. โดยสาร Chlorine releasing compound

โดย นายจิรยุทธ์ ลอยสมุทร

นางสาวเมธีรา ทังสุบุตร

นางสาวศิรินทร์ ละไมเสถียร

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ

อาจารย์ลินจง สุขลำภู

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....

(รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

.....

(รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์) ประธานกรรมการ

.....

(อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ) กรรมการ

.....

(อาจารย์ลินจง สุขลำภู) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การยับยั้ง *Salmonella* sp. โดยสาร Chlorine releasing compound
โดย นายจิรยุทธ์ ลอยสมุทร
นางสาวเมธีรา ทังสุบุตร
นางสาวศิรินทร์ ละไมเสถียร
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ
อาจารย์ลินจง สุขลำภู
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา 2540

บทคัดย่อ

Salmonella เป็นแบคทีเรียใน Family Enterobacteriaceae ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Salmonellosis โดยมีแหล่งของเชื้อที่สำคัญคือ ของเสียจากการขับถ่ายและทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ อาหารและผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์และไข่ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบคลอไรด์ 3 ชนิด ได้แก่ Calcium hypochlorite, Chlorhexidine, Benzalkonium chloride ในการยับยั้ง *Salmonella* sp. จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.anatum*, *S.cerro*, *S.derby*, *S.rissen*, *S.cheleraesuis* โดยนำเชื้อที่มีปริมาณเซลล์ 3 x 10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ใส่ลงไปสารประกอบคลอไรด์ทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100 ส่วนในล้านส่วน เขย่าและจับเวลา 1 และ 5 นาที ทำให้เป็นกลางแล้วนำไปบ่มสำหรับการนับจำนวนเซลล์ จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วนที่เวลา 5 นาทีมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Salmonella* sp. ได้ดีที่สุด โดยที่ *S.derby* มีความต้านทานต่อสภาวะที่ใช้ทำการทดลองได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Inhibition of *Salmonella* sp. by Chlorine releasing compound	
Name	Mr. Jirayuth	Loisamut
	Miss Mayteera	Dangsuputra
	Miss Sirin	Lamaisathien
Special Project Adviser	Mr. Mongkol	Phensaijai
	Miss Linchong	Suklumpoo
Department	Applied Biology	
Academic Year	1997	

Abstract

Salmonella is a bacterium belonged to the Family Enterobacteriaceae which caused disease called Salmonellosis. The important sources of this pathogen are faecal wastes from human and animals, food and food products such as meat and egg. Chlorine releasing compounds: calcium hypochlorite, chlorhexidine and benzalkonium chloride has been tested for the efficiency of inhibiting 5 strains of *Salmonella: S.anatum, S.cerro,S.derby, S.rissen* and *S.cheleraesuis.* The cell numbers of $3x10^7$ per millilitre were mixed with these compounds at concentrations of 25, 50 and 100 ppm for 1 and 5 minutes before neutralization and incubation. The result showed that the use of calcium hypochlorite at 100 ppm, 5 minutes gave the maximum inhibition with the exception of *S.derby.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งการดำเนินการจะไม่สามารถเสร็จสมบูรณ์ หากไม่ได้รับคำแนะนำและตรวจแก้ไขจากจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายท่าน ในการนี้คณะผู้จัดทำขอขอบคุณ อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ที่ได้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาและเอาใส่คณะผู้จัดทำตลอดการดำเนินงาน ขอขอบคุณคณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษทุกท่าน รองศาสตราจารย์ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และอาจารย์ลินจง สุขลำภู กรรมการ ขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้องทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

คณะผู้จัดทำ

เมษายน 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	35
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	37
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	46
ภาคผนวก	47
บรรณานุกรม	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
1. เปรียบเทียบลักษณะของแบคทีเรียทั้ง 5 tribe ใน Family Enterobacteriaceae	5
2. เปรียบเทียบลักษณะของจีนัสต่างๆ ใน tribe Encherichieae	6
3. แสดงลักษณะทางชีวเคมีที่สำคัญบางประการของแต่ละ subgenus ของ *Salmonella* sp.	7
4. เปอร์เซ็นของโรคที่แสดงออกในคนที่เป็นโรค Salmonellosis	13
5. ซีโรไทป์และปริมาณเชื้อซึ่งทำให้เกิดโรค	14
6. การออกฤทธิ์ของสารฆ่าเชื้อ	20
7. น้ำที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน	27
8. การยับยั้งปฏิกิริยาของแบคทีเรียโดยไฮโปคลอไรท์	28
9. การยับยั้งปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างสปอร์โดยไฮโปคลอไรท์	29
10. ความว่องไวต่อเชื้อจุลินทรีย์	31
11. กิจกรรมการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดย Chlorhexidine gluconate	32
12. ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่ถูกยับยั้งโดย Calcium hypochlorite	37
13. ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่ถูกยับยั้งโดย Chlorhexidine	38
14. ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่ถูกยับยั้งโดย Benzalkonium chloride	39
15. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที	48
16. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที	48
17. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที	49
18. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที	49
19. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที	50
20. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที	50
21. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที
22. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine 51
ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที
23. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine 52
ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที
24. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine 52
ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที
25. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine 53
ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที
26. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine 53
ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที
27. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 54
ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที
28. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 54
ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที
29. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 55
ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที
30. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 55
ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที
31 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 56
ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที
32. จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride 56
ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที
33. analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Calcium hypochlorite 57
34. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Calcium hypochlorite 58
35. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นเมื่อใช้ Calcium hypochlorite 58
36. analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Chlorhexidine 59
37. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Chlorhexidine 59
38. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และเวลาเมื่อใช้ Chlorhexidine 60
39. analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Benzalkonium chloride 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

40. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Benzalkonium chloride 61
41. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นเมื่อใช้ Benzalkonium chloride 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
1. โครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียโดยให้ A : แบคทีเรียแกรมบวก B : แบคทีเรียแกรมลบ	8
2. ส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ	9
3. โครงสร้างผนังเซลล์ของ *Salmonella*	9
4. วงจรการติดต่อของเชื้อ *Salmonella*	17
5. กลไกการออกฤทธิ์ของสารฆ่าเชื้อต่างๆ ในเซลล์จุลินทรีย์	21
6. ความสัมพันธ์ระหว่าง HOCl , OCL^- , และค่าความเป็นกรด - ด่าง	25
7. สูตรโครงสร้างของ Chlorhexidine	31
8. สูตรโครงสร้างของ Benzalkonium chloride	34
9. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella anatum*	41
10. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella cerro*	42
11. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella choleraesuis*	43
12. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella derby*	44
13. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella rissen*	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ในอุตสาหกรรมอาหารนั้น *Salmonella* เป็นเชื้อที่ถูกกำหนดว่าห้ามตรวจพบโดยเด็ดขาด *Salmonella* ซึ่งเป็นแบคทีเรียใน family Enterobacteriaceae ที่มีสายพันธุ์ต่างๆ มากมายกว่า 2,000 ซีโรไทป์ (serotype) ซึ่งเป็นปรสิตของระบบทางเดินอาหาร ในช่วง 3 ทศวรรษที่ผ่านมามีอัตราการเกิดโรคอาหารเป็นพิษอันเนื่องมาจากเชื้อ *Salmonella* หรือ salmonellosis เพิ่มขึ้นอย่างมาก

โดยทั่วไปคนจะติดโรคนี้ โดยการกินเข้าไป เชื้อจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในลำไส้เล็กเป็นผลให้ลำไส้อักเสบทำให้อุจจาระร่วงได้ หรือลุกลามเข้ากระแสโลหิตโดยผ่านทางเส้นโลหิตที่เลี้ยงผนังลำไส้ทำให้เกิดโรคโลหิตเป็นพิษ (septicemia) ได้ บางครั้งจะไปรวมกันอยู่ตามอวัยวะต่างๆ เช่น เนื้อเยื่อของต่อมน้ำเหลือง ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ถุงน้ำดี ตับ ม้ามหรือในข้อต่อกระดูกทำให้เป็นโรคข้ออักเสบ (arthritis) ในบางครั้งเชื้อจะเข้าสู่ลูกอ่อนในครรภ์โดยผ่านทางสายรกทำให้เกิดการแท้งลูกได้ หรือบางครั้งทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบและเชื้อผ่านออกมาทางน้ำนม

แหล่งของเชื้อที่สำคัญได้แก่ของเสียจากการขับถ่ายและทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ อาหารและผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์และไข่ จะเห็นได้ว่าโรคทางเดินอาหารอันเกิดมาจากเชื้อ *Salmonella* ก่อให้เกิดปัญหาแก่สุขภาพของประชากรทั่วโลก เราจึงต้องป้องกันโดยระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหาร รับประทานอาหารที่ผ่านการปรุงโดยใช้ความร้อนและปรุงเสร็จใหม่ๆ ภาชนะ เครื่องมือ รวมทั้งผู้ประกอบอาหารต้องสะอาด สารเคมีก็เป็นอย่างหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดโดย สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดแบ่งได้กว้างๆ เป็น 2 ประเภท คือ detergent จะช่วยขจัดสิ่งสกปรกและทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาได้เพียงแค่บางส่วน และdisinfectant ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ Chlorine-release compounds, Quaternary ammonium compounds, Iodophors, Amphoteric compounds โดยสารซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารเป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลาย เช่น Calcium hypochlorite, Chlorhexidine และ Benzalkonium chloride จากเหตุผลดังกล่าวโครงงานพิเศษนี้จึงมีขึ้นมาเพื่อการศึกษาการยับยั้ง *Salmonella* โดยสารเคมีทั้งสามชนิด เพื่อหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ โดยสังเกตประสิทธิภาพของมันเพื่อนำไปเปรียบเทียบด้านราคา และปริมาณความเข้มข้นที่ต้องใช้ในการหาสารเคมีที่เราจะใช้ได้อย่างคุ้มค่าที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาสารเคมีที่เป็น Sanitizer ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ*Salmonella*
2. เพื่อศึกษาหาความเข้มข้น และเวลาที่ใช้ของสารเคมีที่เป็น Sanitizer ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella sp.*

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

โครงงานพิเศษนี้เป็นโครงงานที่ทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพของ Sanitizer ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp.ได้ดีที่สุด อีกทั้งยังศึกษาหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของสารเคมีตัวนั้นๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการศึกษาการใช้ Santizer เพื่อยับยั้ง *Salmonella* sp.
2. เป็นแนวทางในการหาสารเคมีที่มีราคาถูก แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป
3. ได้ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมต่อการยับยั้ง *Salmonella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียใน Family Enterbacteriaceae ซึ่งแยกได้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1885 โดย Salmon และ Smith จากสุกรที่เป็นโรคตาย เดิมเรียกว่าแบคทีเรียพาราไทฟอยด์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1900 Lignieres จึงให้ชื่อเชื้อที่ทำให้เกิดโรคดังกล่าวมาแล้วว่า *Salmonella* เพื่อเป็นเกียรติแก่ D.E. Salmon ดังนั้นเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้ครั้งแรกจึงได้ชื่อว่า *Salmonella choleraesuis*

ส่วนเชื้อ *Salmonella* ตัวที่สองแยกได้ในปี ค.ศ. 1888 โดย Gartner โดยแยกได้จากผู้ป่วยซึ่งตายด้วยโรคทางเดินอาหารอักเสบเนื่องจากรับประทานเนื้อวัวดิบ นับว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* ตัวแรกที่แยกได้จากมนุษย์และให้ชื่อว่า *Salmonella enteritidis*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Salmonella* (General characteristics)

- เป็นแบคทีเรียรูปแท่งสั้น (rod shape)
- ย้อมติดสีแกรมลบ
- ขนาด 0.7 - 1.5 × 2.0 - 5.0 ไมครอน
- ไม่สร้างสปอร์
- เคลื่อนที่ได้โดยใช้แส้รอบตัว (peritrichous flagella) และบางชนิดไม่เคลื่อนที่ (non motile)
- ไม่สร้างอินโดล (indole) ในอาหารที่มีฟอสเฟส
- ให้ผลเมธิลเรดเป็นบวก
- ไม่สร้างสาร acetyl methyl carbinol
- ใช้ซิเทรต เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ยกเว้น *S. typhi* และ *S. paratyphi*
- ส่วนมากสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) แต่บาง serotype อาจไม่สร้างก๊าซนี้ เช่น *S. berta* , *S. choleraesuis* , *S. paratyphi* A , *S. typhisuis* , *S. sendai* และบางสายพันธุ์ของ *S. typhi*
- ไม่สร้างเอนไซม์ยูริเอส
- สามารถกำจัดหมู่คาร์บอนของไลซีนได้นอกจาก *S. paratyphi* A ซึ่งอาจให้ผลลบหรือให้ผลบวกแต่ล่าช้า
- สามารถกำจัดหมู่คาร์บอนของอาร์จินีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สามารถกำจัดหมู่คาร์บอนของออนิทีน ได้นอกจาก *S. typhi* และ *S. gallinarum*
- ไม่สามารถกำจัดหมู่เอมีนของฟีนิลอลานีน และทริปโตเฟน
- ไม่เจริญในอาหาร KCN
- ไม่สามารถใช้แลกโตส ซูโครส อะโดนิทอล และซาลิซินได้
- สามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโดยใช้ขบวนการหมักมากกว่าการใช้ขบวนการหายใจ
- สามารถใช้ กลูโคส มอลโตส เมนนิทอล ซอบิทอล และอาจใช้อินโนซิทอล แล้วให้กรดอย่างเดียว หรือให้ทั้งกรดและก๊าซ
- สามารถรีดิวส์ไนเตรท ให้ไนเตรทมีผลปฏิกิริยาออกซิเดส เป็นลบ
- ตรวจพบในสัตว์เลือดอุ่นหลายประเภทรวมทั้งในคน สัตว์เลื้อยคลานบางประเภท และในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ทุกตัวสามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์อื่นๆ ส่วนมากมักทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารอักเสบ

การจัดจำแนกเชื้อ *Salmonella*

Family Enterobacteriaceae แบ่งออกเป็น 5 tribes โดยอาศัยคุณสมบัติการเมแทบอลิค และร้อยละของ กัวนีน + ไซโตซีน (guanine + cytosine) ในกรดนิวคลีอิกเมื่อคิดเป็นโมลแบ่งได้ดังนี้คือ

Tribe I Escherichieae มี 5 genus
- genus I *Escherichia*
- genus II *Edwardsiella*
- genus III *Citrobacter*
- genus IV *Salmonella*
- genus V *Shigella*

Tribe II Klebsielleae มี 4 genus
- genus I *Klebsiella*
- genus II *Enterobacter*
- genus III *Hafnia*
- genus IV *Serratia*

Tribe III Proteeae มี 1 genus
- genus I *Proteus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tribe IV Yersinieae มี 1 genus

genus I *Yersinia*

Tribe V Erwinieae มี 1 genus

genus I *Erwinia*

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะของแบคทีเรียทั้ง 5 tribe ใน Family Enterobacteriaceae

	Tribe I Escherichieae	Tribe II Klebsielleae	Tribe III Proteeae	Tribe IV Yersinieae	Tribe V Erwinieae
รูปแบบการหมัก	mixed acid	2,3 - butanediol		mixed acid	mixed acid และ 2,3 - butanediol
M.R.	+	D	+	+	
V.P.	-	D	D	-	D
phenylalanine deamiantion	-	-	+	-	D
nitrate teduction	+	+	+	+	D
urease	-	D	D	D	-
KCN, อุณหภูมิที่เหมะสมในการเจริญเติบโต	37 °C	37 °C	37 °C	30 - 37°C	27 - 30°C
ร้อยละของ G + C	50 - 53	52 - 59	39 - 42	45 - 47	50 - 58

หมายเหตุ + = สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 จะให้ผลบวก

\- = สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 จะให้ผลลบ

D = แตกต่างกันแล้วแต่จีนัส

ที่มา : Buchanan (1974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะของจีนัสต่างๆ ใน tribe Escherichieae

	Escherichia	Edwardsiella	Citrobacter	Salmonella	Shigella
ความสามารถใน	+	+	+	+	-
การเคลื่อนที่					
indole	+	+	D	-	d
H_2S บน TSI	-	+	D	+	-
beta-	+	-	+	D	d
galactosidase					
lactose	+/X	-	+/X	D	-/X
mucate	+	-	+	D	-
KCN	-	-	d	D	-
gelatin	-	-	-	D	-
malonate	-	-	d	D	-
d - tartrate	d	-	-	D	-
dulcitol	d	-	d	D	d

หมายเหตุ + = สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 จะให้ผลบวก

\- = สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 จะให้ผลลบ

d = สายพันธุ์ ร้อยละ11 - 89 จะให้ผลบวก

D = แตกต่างกันแล้วแต่สปีชีส์

X = ให้ผลช้าและไม่แน่นอน

ที่มา : Buchanan (1974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะทางชีวเคมีที่สำคัญบางประการของแต่ละ subgenus **ของ** *Salmonella*

	Subgenus I	Subgenus II	Subgenus III	Subgenus IV
dulcitol	+	+	-	-
lactose	-	-	+/X	-
ONPG	-	-/X	+	-
Salicin	-	-	-	+
d - tartrate	+	-/X	-/X	-/X
mucate	+	+	d	-
malonate	-	+	+	-
gelatin	-	+	+	+
KCN	-	-	-	+

หมายเหตุ X = ให้ผลซ้ำและไม่แน่นอน

ONPG = ortho - nitro phenyl - beta - D - galactoside test

d = สายพันธุ์ที่แตกต่าง (Subgenus III = *S. artizonae*)

ที่มา : Kauffnamm (1966)

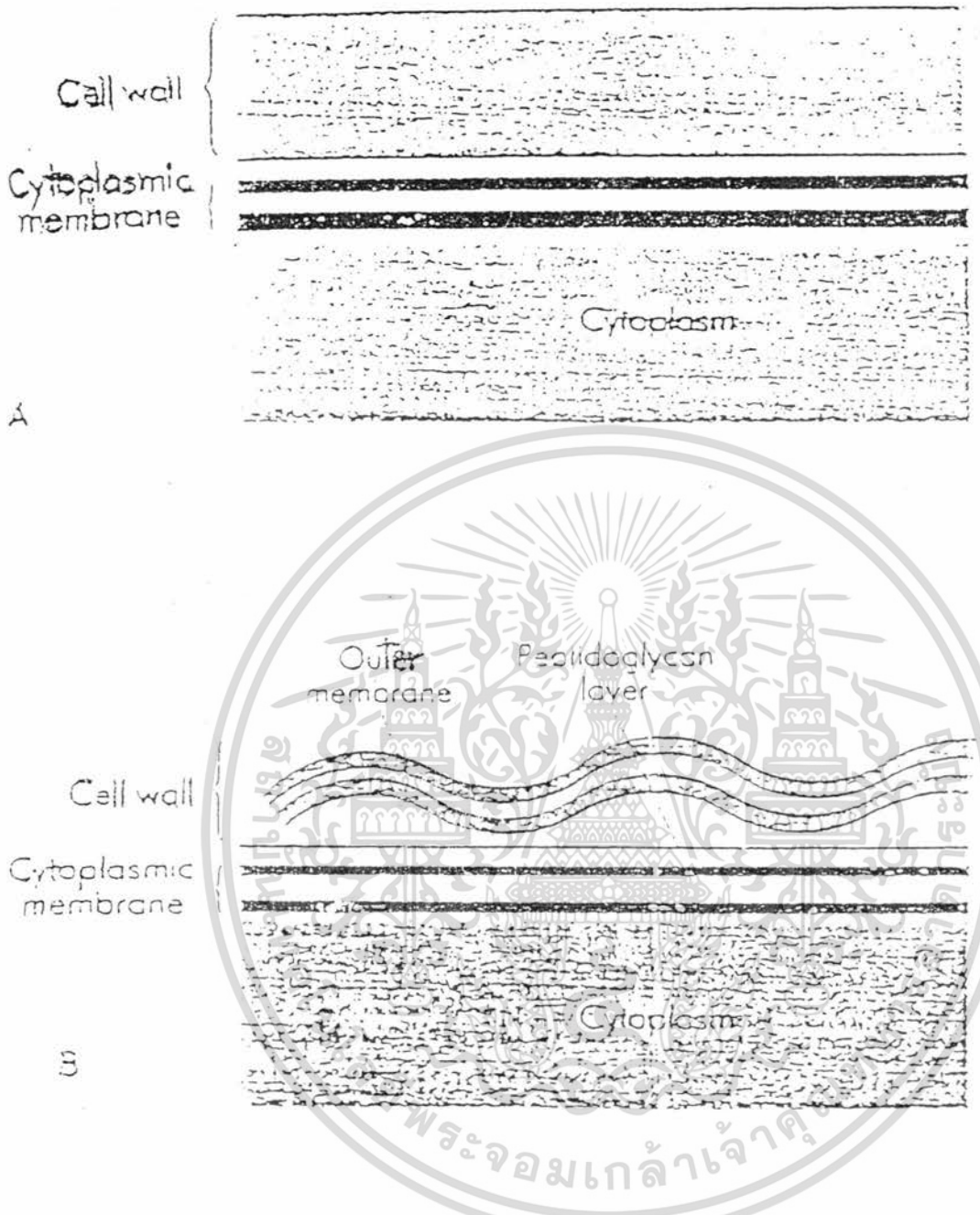
ลักษณะการเจริญเติบโต และปฏิกิริยาชีวเคมี

เชื้อสกุลนี้เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ เช่น MacConkey, EMB, SS และ DCA agar โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร ลักษณะกลม ขอบเรียบ เป็นมัน ไม่มีสี (ไม่หมักหรือย่อยน้ำตาลแลกโตส) ไม่ทึบแต่ไม่โปร่งแสง บางสายพันธุ์มีโคโลนีลักษณะเป็นเมือก

คุณสมบัติที่สำคัญในการวินิจฉัยได้แก่ ลักษณะที่ขึ้นบน TSI หรือ K/A slant เป็นแบบ K/AG+ หรือ K/AG- สายพันธุ์ส่วนใหญ่ผลิตก๊าซจากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และยังสามารถหมักย่อยน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ให้ผลต่างกัน การทดสอบอินโดล (-), มาโลเนท (-), ยูเรีย (-) , และ การกำจัดหมู่คาร์บอกซิลจากไลซิน (+) เป็นต้น

โครงสร้างของ *Salmonella* และแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ จะมีผนังเซลล์ที่ซับซ้อนกว่าแบคทีเรียแกรมบวกโครงสร้างพิเศษที่เพิ่มขึ้นจากจุลินทรีย์อื่นคือ เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งจะหุ้มชั้นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ไว้ดังแสดงในรูปที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



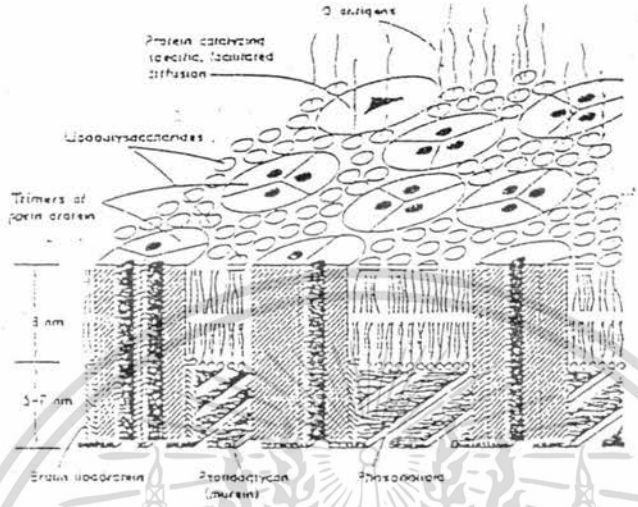
รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียโดยให้ A: แบคทีเรียแกรมบวก

B: แบคทีเรียแกรมลบ (Michael และคณะ, 1986)

เยื่อหุ้มเซลล์ ชั้นนอกนี้ทำหน้าที่เป็นตัวขัดขวางการผ่านเข้าออก (impermiable barrier) เพื่อป้องกันไม่ให้เอนไซม์สารเคมี และสารปฏิชีวนะ (antibiotics) สัมผัสกับไซโตพลาสมิดเมมเบรน (cytoplasmic membrane) (Kelly และคณะ, 1992) โมเลกุลของสารหรือโปรตีนที่มีขนาดใหญ่จะไม่สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกได้ เว้นแต่เพียงเยื่อหุ้มเซลล์ดังกล่าวจะถูกทำลายไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วยไขมัน (lipid) เป็นส่วนใหญ่ ทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีไขมันมาก คือ ประมาณร้อยละ 11 - 22 ของน้ำหนักผนังเซลล์แห้ง ไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ดังกล่าว อยู่ในรูปสารประกอบ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ (Michaelและคณะ, 1986)

Glm	- Glucosamine
KDO	- Ketodeoxyoctonic acid
Hep	- Heptose
Gluc	- Glucose
Gal	- Galactose
GlmNAc	- N - acetyl glucosamine
A,B,C,D	- โมโนแซคคาไรด์ เช่น แมนโนส กาเลคโตส

รูปที่ 3 โครงสร้างผนังเซลล์ของ *Salmonella* (จาก R.F. Boyd. General Microbiology. 1988:118)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูปเป็นโครงสร้างผนังเซลล์ของ *Salmonella* ที่ประกอบด้วยไลโปโปลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide : LPS) ชนิดที่เป็นเอนโดทอกซิน (endotoxin) โดยโครงสร้างของ LPS ของแบคทีเรียแกรมลบ จะมีความแตกต่างระหว่างสกุลน้อยมาก แต่สำหรับแบคทีเรียทุกสกุลประกอบด้วย 3 ส่วน ดังกล่าวข้างบน โดยที่กลุ่มไฮดรอกซิลอิสระของกลูโคซามีน ในลิปิด A ทุกตัวเชื่อมต่อกับกรดไขมันต่างชนิด (ไม่ได้แสดงในรูป) และความแตกต่างทางด้านเซรุ่มวิทยาสายพันธุ์ต่างๆ ในแบคทีเรียแต่ละสกุล ขึ้นกับชนิดของน้ำตาลที่เชื่อมต่อกับส่วนของ แอนติเจน O

เอนโดทอกซิน (endotoxins) - เป็นสารพวกไลโปโปลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ จะถูกปล่อยออกจากเซลล์แบคทีเรียเมื่อเซลล์แตกซึ่งจะก่อให้เกิดโรคได้ ไลโปโปลิแซคคาไรด์นี้เป็นโมเลกุลใหญ่ ซึ่งเกาะอยู่กับโปรตีนของผนังเซลล์ เอนโดทอกซินไม่มีความจำเพาะ(non specific) ต่อเนื้อเยื่อ และไม่จำเพาะกับอาการของโรค สามารถทนความร้อนได้ถึง 60 องศาเซลเซียส เอนโดทอกซินจะไปยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจากเปลือกหมวกไตทำให้ไม่สามารถชักนำเอนไซม์ที่ใช้ในขบวนการผลิตกลูโคสได้ นอกจากนี้เอนโดทอกซินยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขบวนการออกซิเดชั่นและฟอสเฟตเอสเทอริเคชั่นในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจและเซลล์ตับด้วย

ลักษณะทางแอนติเจน (antigenic characteristics)

Salmonella มีแอนติเจนอยู่ 3 ชนิดคือ

1. ตัวเซลล์ หรือ somatic antigen หรือแอนติเจน O เป็นสารประกอบพวกไลโปโปลีแซคคาไรด์ซึ่งอยู่ในผนังเซลล์ พบว่าประกอบด้วย ลิปิดร้อยละ 20 - 30 , โพลิแซคคาไรด์ร้อยละ 60 และเฮกโซซามีนร้อยละ 3.5 - 4.5 การจัดเรียงลำดับที่แตกต่างกันของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของ สายโพลีแซคคาไรด์ทำให้เกิดมีแอนติเจน O ที่ต่างกัน แอนติเจน O มีคุณสมบัติทนความร้อน (100 องศาเซลเซียส นาน 2.5 ชั่วโมง) กรดเจือจางและแอลกอฮอล์ ดังนั้นในการเตรียมแอนติเจน O จึงเตรียมได้โดยวิธีต้มแบคทีเรียในรูปสารแขวนลอยด้วยความร้อน 80-100องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือสกัดด้วยแอลกอฮอล์ร้อน วิธีนี้จะกำจัดแอนติเจน H ออก ลักษณะการตกตะกอนของแอนติเจน O เกิดขึ้นอย่างช้าและตะกอนอัดแน่นเป็นกลุ่มก้อน (closely pack, granular clumps) แอนติเจน O มีประมาณ 65 ชนิด *Salmonella* ซีโรไทป์หนึ่งๆ อาจมีแอนติเจน O มากกว่า 1 ชนิด แอนติบอดีต่อแอนติเจน O เป็นชนิด IgM

2. แฟลกเจลลา หรือ flagella antigen หรือ H antigens มีลักษณะเป็นโปรตีน ประกอบด้วยแฟคเจลลา , ชนิดของกรดอะมิโน (amino acid) และการจัดลำดับของกรดนี้ที่ protein flagellin ทำให้แบคทีเรียมีแอนติเจน H ต่างๆ กันแอนติเจน H มีสองส่วนคือ ส่วนแรกเป็นส่วนที่จำเพาะสามารถเกาะกลุ่มกับแอนติซีรัมเนื้อเดียวกันเท่านั้น และส่วนที่สองเป็นส่วนที่ไม่จำเพาะซึ่งแต่ละซีโรไทป์มีลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คล้ายๆ กันและสามารถเกาะกลุ่มกับซนิดอื่นๆ ได้ จึงไม่สามารถใช้ส่วนนี้ในการแยกชนิด *Salmonella* ซีโรไทป์หนึ่งๆ อาจมีแอนติเจน H มากกว่า 1 ชนิดแอนติเจนอาจอยู่ในส่วนที่ 1 หรือ ส่วนที่ 2 หรือในทั้งสองส่วนก็ได้ แอนติเจนในส่วนหนึ่งอาจบดบังไม่ให้เชื้อเกาะกลุ่มกับแอนติซีรัมของอีกเฟสหนึ่ง แอนติเจน H ไม่ทนความร้อน (heat labile) (100องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ถูกทำให้หมดประสิทธิภาพได้โดยใช้แอลกอฮอล์ และกรดต่างๆ ตะกอนเกิดขึ้นได้รวดเร็วและมีลักษณะจับกันหลวมๆ เป็นแบบปุย บางครั้งเชื้ออาจมีการสูญเสียแอนติเจน H ไปทำให้กลายเป็นอยู่ในรูป O ได้ แอนติบอดีต่อแอนติเจน H เป็นชนิด IgG

3. แคปซูล หรือ capsule antigen หรือ K antigen ซึ่งสำหรับ *S. typhi* จะเรียกแอนติเจนชนิดนี้ว่าแอนติเจน Vi (Virulence) แอนติเจน Vi เป็นโพลิแซคคาไรด์อยู่ชั้นนอกสุดของเซลล์แต่บางมากจึงไม่เห็นเป็นแคปซูล ประกอบด้วย N-acetyl galactosaminuronic acid residue ซึ่งสามารถถูกทำลายได้โดยความร้อน (60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง) กรดและฟีนอล แอนติเจน Vi นี้ถ้ามีมากจะกีดขวางไม่ให้แอนติเจน O เกาะกลุ่มกันกับ ซีโรไทป์ O จึงต้องต้มทำลายแคปซูลเสียก่อนโดยให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงก่อนที่จะทำปฏิกิริยา agglutinate ของแอนติเจน O เชื้อ *Salmonella* บางซีโรไทป์เท่านั้นที่มีแอนติเจน Vi เช่น *S.typhi, S. paratyphi* C, *S. dublin* เชื้อที่มีแอนติเจน Vi มักทำให้เกิดอาหารของโรครุนแรงกว่าเชื้อที่ไม่มีแอนติเจนชนิดนี้ แคปซูลของเซลล์แบคทีเรียจะป้องกันการถูกเก็บกินของเม็ดเลือดขาวและทนต่อการทำลายของสารต้านแบคทีเรียในซีรัม

ยีนของแอนติเจน O, H และ Vi อาจมีการผ่าเหล่าทำให้แอนติเจนหายไปได้เชื้อหลายสกุล เช่น *Arizona, Citrobacter, Escherichia* เป็นต้น เนื่องจากอาจจะมีปฏิกิริยาไขว้กันของซีรัมต่อเชื้อ *Salmonella*

Kauffmann (1966) ได้จัดแบ่งเชื้อ *Salmonella* ออกเป็นกลุ่มโดยการแบ่งตามชนิดของแอนติเจน H ในปัจจุบันพบว่ามีประมาณ 2,000 ซีโรไทป์

ความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity)

เชื้อ *Salmonella* เกือบทุกซีไทป์สามารถทำให้เกิดโรคได้ในคนและสัตว์ พบซีโรไทป์ที่ทำให้เกิดโรคเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนยอมรับกันว่าทุกซีโรไทป์มีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดโรคได้

กลไก (mechanism) ที่ทำให้เกิดโรคยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน การเป็นโรคอาจเป็นผลร่วมกันของตัวเซลล์กับเอนโดทอกซินของแบคทีเรีย แต่ตัวเซลล์หรือเอนโดทอกซินจะมีความสำคัญมากน้อยกว่ากันขึ้นกับชนิดของซีโรไทป์ มีเหตุผลที่ทำให้เชื่อได้ว่าเชื้อ *Salmonella* ที่เป็น host specific นั้นตัวเซลล์มีความสำคัญที่ทำให้เกิดโรค ส่วนเชื้อ *Salmonella* ที่เป็น non-host specific ตัวสำคัญที่ทำให้เกิดโรคคือเอนโดทอกซิน ยกเว้นสำหรับบาง type ที่ความสามารถทำให้เกิดโรคขึ้นกับสภาพแวดล้อมและสภาพทางสรีระของ host มากกว่าคุณสมบัติของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการติดเชื้อ *Salmonella* นั้น ลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่เกิดโรค เชื้ออาจอยู่เฉพาะที่ลำไส้หรืออาจแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย กรณีที่เชื้อแพร่กระจายนั้นเชื้ออาจเข้าไปยังต่อมน้ำเหลือง (lymph node) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง และเข้าสู่ตับทาง portal vein mesenteric lymph node , ตับและถุงน้ำดี (gall bladder) มักเป็นบริเวณที่เกิด localized infection ซึ่งเชื้อ *Salmonella* สามารถอยู่ได้เป็นเวลานาน ขั้นรุนแรงที่สุดของการติดเชื้อ *Salmonella* คือการที่เชื้อเข้ากระเลือด (bacteremia) ซึ่งเชื้อจะเพิ่มประมาณอย่างรวดเร็วในระหว่างนี้ และจะแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย ทำให้เกิดอาการของโรคเปลี่ยนแปลงไปหลายอย่าง

อาการที่สำรวจพบจากการระบาด 9 ตัวอย่าง โดยแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งอาการและความรุนแรงของโรคนี้ขึ้นอยู่กับ จำนวน และซีโรไทป์ของ *Salmonella* ซึ่งจะแตกต่างกันไป ส่วนการต่อต้านของผู้ติดเชื้อก็เช่นกัน จะแตกต่างกันตามชนิดซีโรไทป์ และจำนวนเชื้อ ขึ้นอยู่กับผู้ป่วยแต่ละราย ส่วนกลุ่มอาการที่พบมากที่สุดในผู้ป่วย คือ อาการท้องร่วงตามมาด้วย อาการเกร็งในช่องท้อง เป็นไข้ คลื่นไส้อาเจียน หนาวสั่น และปวดศีรษะ

ระยะฟักตัว : ในการสุ่มตัวอย่าง 34 ตัวอย่างจากการระบาด ซึ่งรายงานโดย CDC พบว่า ระยะเวลาในการฟักตัว มีช่วงเวลาแตกต่างกันไป ตั้งแต่ 1 ชั่วโมง ถึง 3 วัน แต่ระยะฟักตัวทั่วไปซึ่งพบนั้น มีช่วงเวลา ตั้งแต่ 6-48 ชั่วโมง

ระยะเวลาของอาการ : การติดเชื้อในคนปกติ ผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรงดี ถ้าเกิดอาการกระเพาะลำไส้อักเสบนั้นจะเป็นนาน 2-3 วันเท่านั้น แต่ถ้าหากว่า มีการติดเชื้อเป็นเวลานานกว่านั้น อาการของโรคอาจแสดงไปเป็นเดือนหรือเป็นปีได้ และก็จะเสียชีวิตในที่สุด ซึ่งพบว่าระยะการติดเชื้อที่ยาวนานกว่า 2 เดือนนั้นพบได้ร้อยละ 25 ของผู้ป่วย และในร้อยละ 20 ของผู้ป่วย จะมีการติดเชื้อ เนื่องจาก การขับสารพิษของเชื้อเป็นช่วงๆ ไม่ต่อเนื่องกัน และที่สำคัญ ถ้าเป็นในเด็กจะมีความไวต่อการติดเชื้อ และมีการขับสารพิษของเชื้อได้ยาวนาน และง่ายกว่าในผู้ใหญ่

สำหรับการบำบัดรักษาโรค salmonellosis สิ่งที่จะต้องปฏิบัติคือ จะต้องรักษาสมดุลของน้ำและเกลือแร่ของผู้ป่วยให้เป็นปกติ และป้องกันการสูญเสียของน้ำในร่างการอีก ส่วนผู้ป่วยที่มีอาการหนัก ต้องส่งโรงพยาบาล และรับการรักษาจากแพทย์อย่างใกล้ชิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ร้อยละของโรคที่แสดงออกในคนที่เป็นโรค salmonellosis

อาการของโรค	ปริมาณการระบาดของโรค (ร้อยละ)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ท้องร่วง	87	100	100	96	93	75	93	96	95
ท้องร่วง (มีเลือดออก)	4	-	-	-	5	-	-	-	-
เกร็งในช่องท้อง	70	47	70	81	86	82	76	66	57
เป็นไข้	68	82	-	85	62	80	48	97	43
คลื่นไส้	53	69	80	62	69	70	52	-	38
อาเจียน	53	82	80	40	40	62	26	54	19
หนาวสั่น	38	54	70	79	-	-	52	86	-
ปวดศีรษะ	36	66	60	-	65	-	63	-	29
เวียนศีรษะ	-	-	-	-	42	-	-	-	-
ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ	-	-	90	-	-	-	-	95	-

- หมายถึง ไม่พบในการรายงาน แต่อย่างไรก็ตามอาการดังกล่าว อาจมีเกิดขึ้นได้

ที่มา : รายงานประจำสัปดาห์ของ CDC

ปริมาณของเชื้อซึ่งทำให้เกิดโรค

Taylor และMccoy (1969) ได้สรุปผลการทดลองไว้ในตารางที่ 4 กล่าวคือปริมาณของเชื้อซึ่งจะทำให้เกิดอาการของโรคจะเปลี่ยนแปลงตามชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella* อย่างไรก็ตามปริมาณของเชื้อทุกระดับทำให้อาสาสมัครขับเชื้อออกมากับอุจจาระแม้จะไม่มีอาการของโรคจากการทดลองดังกล่าวและพบว่า *Salmonella* ต้องมีปริมาณมาก (10^5 - 10^8) จึงทำให้เกิดโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ซีโรไทป์และปริมาณเชื้อซึ่งทำให้เกิดโรค

ซีโรไทป์	ปริมาณที่ให้	อาสาสมัคร			
	(ล้านเซลล์)	จำนวนทั้งหมด	เกิดอาการ	ไม่แสดงออก	ไม่เกิดโรค
S.meleagridis	0.16	24	-	13	11
	5.50	53	-	44	9
	50.00	41	16	23	2
S. anatum	0.16	41	-	20	1
	5.50	48	11	30	7
	67.00	24	5	19	-
S. newport	0.15	6	1	2	3
	0.38	8	1	5	2
	1.30	6	3	3	-
S. derby	0.13	6	-	3	3
	5.00	12	-	8	4
	15.00	12	3	4	5
S. bareilly	0.12	6	1	4	1
	1.70	12	6	5	1
S. pullorum	1,300	12	5	1	6
	7,000	11	10	1	-
	16,000	12	12	-	-

ที่มา : Taylor and McCoy(1969)

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Salmonella* ในคน

แบ่งตามอาการได้ 3 แบบ ดังนี้คือ

1. Enteric fever สาเหตุใหญ่เกิดจาก *S. typhi* ซึ่งติดต่อได้ทางอาหารและน้ำ ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ (typhoid fever) มีระยะฟักโรค (incubation period) 7 - 14 วัน อาการเริ่มต้นด้วยอาการครั่นเนื้อครั่นตัว เบื่ออาหาร ปวดหัวและมีไข้ enteric fever ที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* อื่นๆ ทำให้เกิดพาราไทฟอยด์ (paratyphoid fever) จะมีอาการรุนแรงน้อยกว่าและมีระยะฟักตัวของโรคเพียง 1 - 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจะเข้ากระแสเลือด ตั้งแต่ระยะแรกๆ ส่วนอาการไข้ทั่วไปกินเวลา 1 - 3 อาทิตย์ เชื้อ *Salmonella* ชนิดที่พบว่าทำให้เกิด enteric fever บ่อยๆ อีกก็ได้แก่ *S. paratyphi* B และ S. *typhimurium*

2. Salmonella septicaemia จะมีอาการไข้สูงต่ำสลับกัน (remittent fever) และเชื้อจะเข้ากระแสเลือด บางครั้งอาจทำให้เกิดแผลมีหนอง ในบริเวณท่อน้ำดี ไต หัวใจ ตามข้อต่อของส่วนต่างๆ ของร่างกาย และที่ปอด prolong septicaemia มักเกิดจาก *S. choleraesuis*

3. Gastroenteritis เป็นโรคที่เกิดกับกระเพาะอาหารและลำไส้ อาการจะปรากฏภายใน 8 -48 ชั่วโมงหลังจากบริโภคอาหารซึ่งมีเชื้อ มีอาการปวดศีรษะ ตัวเย็น ปวดท้อง อาเจียน และท้องร่วง ติดตามด้วยอาการไข้เป็นเวลา 1 - 4 วัน เชื้อที่ทำให้เกิด gastroenteritis มากที่สุดคือ *S. typhimurium*

Salmonella ในอาหาร

Salmonella ที่พบในอาหารจำแนกเป็น 4 พวกดังนี้คือ

1. *S. typhi* และ *S. parathyphi* A และ C ซึ่งไม่ค่อยพบนัก แหล่งสะสมของเชื้ออยู่ที่คนซึ่งเป็นโรคเรื้อรัง เมื่อขับถ่ายจะมี *S. typhi* ปนออกมากับอุจจาระหรือปัสสาวะ เชื้อจะติดมาสู่คนโดยปนเปื้อนมากับ น้ำ นม และอาหาร เชื้อไม่จำเป็นต้องแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในสื่อนำเชื้อ เนื่องจากแม้มีเชื้อเพียงจำนวนเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดโรคได้ โดยทั่วไปการระบาดของโรคไทฟอยด์จะเกิดเฉพาะที่ และอาจเกิดจากน้ำหรือนมเป็นต้นเหตุ แต่ต่อมาพบว่าโรคนี้สามารถแพร่กระจายข้ามประเทศได้โดยปะปนอยู่ในอาหาร เช่นเนื้อกระป๋องและมะพร้าวแห้งเป็นตัวนำเชื้อ

2. *S. paratyphi* B เป็นเชื้อพาราไทฟอยด์ที่รู้จักกันดีซึ่งมีแหล่งสะสมเชื้ออยู่ที่คน เชื้อจะปนเปื้อนมากับอาหาร และเชื้อต้องมีปริมาณมากพอจึงจะทำให้เกิดโรค

3. Food poisoning salmonellae เชื้อ *Salmonella* อื่นๆ นอกเหนือจาก *S. typhi* และ *S. paratyphi* จะมีสัตว์เป็นแหล่งสะสมเชื้อ เชื้อจะปนเปื้อนมากับอาหารซึ่งทำมาจากสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อ ไข่ และนม ซึ่งเมื่อมีเชื้อปะปน และเก็บที่อุณหภูมิห้อง จะทำให้เชื้อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น เชื้อที่สำคัญและพบมากที่สุดได้แก่ *S. typhimurium* รองลงมาคือ *S. heidelberg* ส่วนเชื้ออื่นๆ ที่พบบ่อยได้แก่ *S. trompson, S. newport, S. oranienberg, S. tennessee* และ *S. montevideo*

4.Host-specific animal salmonellae คือ *Salmonella*ที่อยู่เฉพาะเจาะจงในสัตว์ *S. pullorum* และ *S. gallinarum* ซึ่งทำให้เกิดโรค pullorum และ fowl typhoid ในสัตว์ปีก เป็นเชื้อที่เฉพาะเจาะจงกับสัตว์แต่อาจพบได้ในอาหารและสามารถทำให้เกิดโรคในคนได้บางโอกาส *S. choleraesuis* ซึ่งพบในสุกร อาจติดต่อสู่คนได้ทางเนื้อสุกรหรือผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิด focal lesions หรือโลหิตเป็นพิษอย่างรุนแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการติดเชื้อ *Salmonella* **แหล่งสะสมเชื้อคือลำไส้ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง สิ่งที่ทำให้เกิดการติดเชื้อคืออุจจาระของคนหรือสัตว์ ซึ่งอาจจะกำลังเป็นโรค เพิ่งหายจากโรค เป็นโรคเรื้อรัง หรือไม่มีอาการของโรคก็ได้ โดยเฉพาะคนที่เพิ่งหายจากโรคจะยังขับเชื้อ** *Salmonella* **ออกมากับอุจจาระเป็นระยะเวลานาน และกรณีของโรคไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ คนที่เพิ่งหายจากโรคจะขับเชื้อออกมากับปัสสาวะด้วย**

วิธีการติดเชื้อ (method of infection)

1. ทางตรง (direct) โดยสัมผัสอุจจาระซึ่งมีเชื้อ

2. ทางอ้อม (indirect) โดยทางสื่อนำ เช่น อาหารและน้ำ ซึ่งปะปนด้วยอุจจาระที่มีเชื้อ การติดเชื้อทางตรงเกิดขึ้นทั่วไปกับสัตว์เลี้ยงที่ใช้เป็นอาหาร เนื่องจากวิธีเลี้ยงสัตว์จำนวนมาก การติดเชื้อโดยน้ำเป็นสื่อที่จำกัดเฉพาะซีโรไทป์ ที่เป็น host specific เช่น *S. typhi* ในคนและ *S. dublin* ในสัตว์

สื่อนำเชื้อที่สำคัญที่สุดคืออาหารคน หรืออาหารสัตว์ อาหารเป็นสื่อนำเชื้อได้อาจเนื่องจากอาหารนั้นทำมาจากสัตว์ซึ่งติดเชื้อ หรืออาหารนั้นอาจได้รับเชื้อจากคน สัตว์ หรือวัตถุอื่นๆ ซึ่งมีเชื้อระหว่างการเตรียมและการเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งคนซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับอาหารและประกอบอาหาร มักเป็นสาเหตุในการทำให้เกิดโรคจากการติดเชื้อ *Salmonella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รูปที่ 4 วงจรการติดต่อของเชื้อ *Salmonella* (Grunnet and Nielson ,1969)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

30618

ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อเชื้อ *Salmonella*

เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ทนต่อความร้อน ส่วนใหญ่จะตายเมื่อได้รับความร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 - 20 นาที *S. senfterberg* 775 W เป็นสายพันธุ์ที่ทนความร้อนมากที่สุด สามารถทนความร้อนได้สูงกว่าเชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ทั่วๆ ไป 10 -20 เท่า การทำลายเชื้อ *Salmonella* ในอาหารให้หมดสิ้นจะต้องให้ความร้อนจนกระทั่งจุดกึ่งกลางของอาหารที่อุณหภูมิ 74 - 77 องศาเซลเซียส *Salmonella* จะเจริญในช่วงอุณหภูมิ 5 ถึง 45 - 47 องศาเซลเซียส ซึ่งแตกต่างไปบ้างขึ้นกับซีโรไทป์ อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 37 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 44 - 47 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ได้

Salmonella เจริญอยู่ในช่วงค่าพีเอช 4.5 - 9 แต่เจริญดีที่สุดที่ค่าพีเอช 6.5 - 7.5 ทั้งนี้ขึ้นกับซีโรไทป์และอุณหภูมิที่ใช้บ่ม Chung และ Geopfert (1970) พบว่าผลของ pH ที่มีต่อการเจริญของ *Salmonella* ต่ำที่สุดที่ค่าพีเอช 4.05 เมื่อปรับด้วยกรดเกลือ (ไฮโดรคลอริก) และที่ค่าพีเอช 5.5 เมื่อปรับด้วยกรดโพรไพโอนิก ที่ค่าพีเอช ต่ำกว่า 4 และสูงกว่า 9 *Salmonella* จะตายอย่างช้าๆ ถึงแม้ว่าเชื้อ *Salmonella* จะยืดการมีอายุไปได้โดยการแช่เย็น

ส่วน Water activity ของ *Salmonella* นั้นพบว่า ค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญขึ้นกับซีโรไทป์แต่ปกติแล้วจะมากกว่า 0.990 ค่า a_w (water activity) ต่ำสุดสำหรับการเจริญในอาหารเหลวประมาณ 0.94 ภายใต้อุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสม

รังสีแกมม่ามีผลต่างๆ กันต่อ *Salmonella* พบว่าต้องใช้รังสีแกมม่า 0.54 Mrad ในการกำจัดเชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนอยู่ในไข่ที่แช่แข็งไว้ และ 0.65 Mrad ในเนื้อม้าที่แช่แข็งไว้โดยไม่ทำให้อาหารเสียคุณภาพ

Salmonella ไม่มีความคงทนต่อสารเคมีหลายชนิดเช่น ฟีนอล คลีซอล ด่างทับทิม สารจำพวกคลอไรด์ และสารปฏิชีวนะ สารเคมีเหล่านี้ส่วนใหญ่ใช้เป็นสารทำลายเชื้อโรคในการป้องกันเชื้อแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม

สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดแบ่งได้กว้างๆ เป็น 2 ประเภท คือ Detergent จะช่วยขจัดสิ่งสกปรกและทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาได้เพียงแค่บางส่วน และ Disinfectant แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ Chlorine-release compounds, Quaternary ammonium compounds, Iodophors, Amphoteric compounds

1. Chlorine-releasing compounds ในอุตสาหรรมอาหารเป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลาย เช่น

   Hypochlorites, Chlorine gas, Chloramines

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Quaternary ammonium compounds (quaternaries, quats, QACs) ทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี และทำลายแบคทีเรียแกรมลบดีเมื่อเติมสารพวก sequesterants สารในกลุ่มนี้ที่ใช้กันมากคือ acetyltrimethyl ammonium bromide, laurydimethylbenzyl ammonium chloride
3. Iodophors เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วย surfactant ที่เป็นพาหะของ Iodine และ Iodine ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย Iodophors นี้มักจะใช้ในอุตสาหกรรมนมและเบียร์
4. Amphoteric compounds มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียสู้ disinfectant อื่นๆ ไม่ได้ แต่จะทำให้ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นได้โดยผสมกับ QACs ตัวอย่างของ Amphoteric compounds ที่มีใช้กันเช่น δ-oxypropionic imidazole

คุณสมบัติของสารฆ่าเชื้อที่ดี

1. มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด
2. ออกฤทธิ์ได้รวดเร็วและมีฤทธิ์อยู่ได้นาน
3. ละลายหรือผสมกับน้ำได้ง่าย และมีความคงตัวสูง
4. ฤทธิ์ไม่เสียไปเมื่อถูกกับสบู่ หรือสารอินทรีย์ เช่น เลือด หนอง
5. ไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อของร่างกาย และไม่ขัดขวางกลไกของร่างกายที่ช่วยให้แผลหายเร็ว
6. ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดได้น้อย และไม่ทำให้เกิดการแพ้
7. สามารถแทรกซึมเข้าไปในสิ่งของที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อได้ดีและไม่ทำลายสิ่งของนั้น
8. ไม่มีสี และกลิ่นอันไม่พึงประสงค์
9. ราคาถูก

ในปัจจุบันยังไม่มีสารฆ่าเชื้อที่มีคุณสมบัติครบถ้วนเราจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

การแบ่งชนิดของยาฆ่าเชื้อ

ก. แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ ได้ 3 พวกคือ

1. สารที่ทำให้โปรตีนตกตะกอน ได้แก่ สารพวก ฟีนอล แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และเกลือของโลหะหนักบางตัวเช่น เงิน และปรอท

2. สารที่ทำให้คุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ เบนซอลโคเนียมคลอไรด์

3. สารที่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่สารพวก ฮาโลเจน เกลือของโลหะหนัก เช่น ปรอท และ ออกซิไดส์ซิ่งเอเจนท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี ได้เป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้

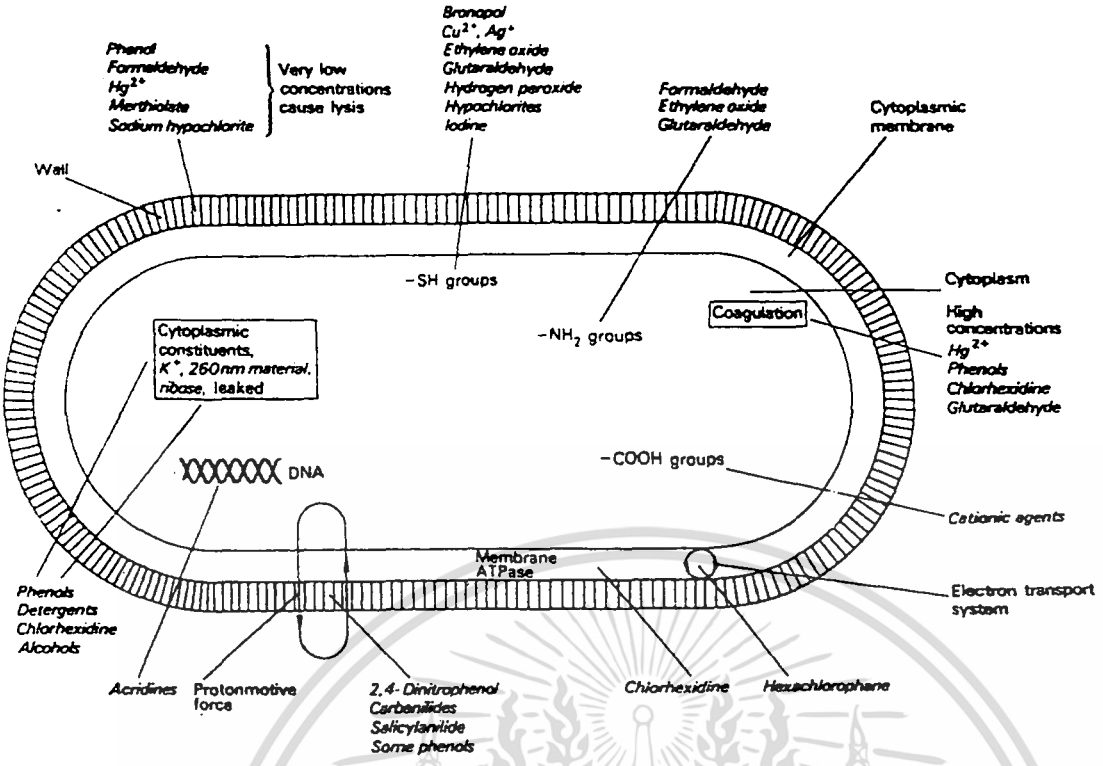
1. **แอลกอฮอล์ - ที่ใช้กันมากมี 2 ชนิดคือ เอทานอล และไอโซโพรพานอล**
2. **อัลดีไฮด์ - ที่ใช้ในปัจจุบันมี 2 ชนิดคือ ฟอร์มัลดีไฮด์ และกลูตารัลดีไฮด์**
3. **ฮาโลเจน - ที่สำคัญคือ ไอโอดีน คลอรีน และอนุพันธ์ของสารทั้งสอง**
4. **โลหะหนัก - ที่ใช้จะอยู่ในรูปของเกลือ เช่น เกลือปรอท และเกลือเงินเป็นต้น**
5. **สารออกซิไดส์ - ใช้กับจุลินทรีย์พวกแอนแอโรบและเฟคัลเททีฟได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต**
6. ฟีนอล - รวมทั้งอนุพันธ์ ได้แก่ คลีซอล เฮกซะคลอโรฟีน คลอเฮกซิดีน
7. สารออกฤทธิ์ที่ผิว - ที่เป็นแอนไอออน ได้แก่ สบู่
   ที่เป็นแคทไอออน ได้แก่ เบนซัลโคเนียมคลอไรด์
8. กรด - แบ่งเป็น 2 ชนิดคือกรดอนินทรีย์ และกรดอินทรีย์
9. ไนโตรฟูราโซน
10. เอทิลลินออกไซด์
11. สารเคมีกลุ่มอื่น - เจนเซี่ยนไวโอเลต ยาเหลือง และซัลเฟอร์

ตารางที่ 6 การออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อ

ตำแหน่งที่ยาไปออกฤทธิ์	กลไกการออกฤทธิ์	ยาหรือสารเคมี
โปรตีน	alkylation	Ethylene oxide; Glutaraldedehyde Formaldehyde
	dehydration	Alcohols
	oxidation	Iodine; Iodophors
	เข้าจับกับ -SH group	สารประกอบเงินและปรอท
เยื่อหุ้มเซลล์	**มีผลต่อการซึมผ่านของสาร**	**สบู่**; detergents(Quarternary amines);Chlorhexidine Benzalkonium chloride

ที่มา : นิตยา (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 กลไกการออกฤทธิ์ของสารฆ่าเชื้อต่างๆ ในเซลล์จุลินทรีย์ (มาลิน, 2531)

คลอไรด์และสารประกอบคลอไรด์

ถึงแม้ว่าคลอรีนจะเป็นธาตุที่พบทั่วไปในโลกแต่ในธรรมชาติจะไม่พบในรูปอิสระ ส่วนมากจะรวมอยู่กับโซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ธาตุคลอรีนเป็นก๊าซหนักสีเหลืองออกเขียว มีกลิ่นแรงและระคายเคือง สอดคล้องกับ Mellor (1927) คือคลอรีนเป็นที่รู้จักของนักเคมีมาหลายร้อยปี แต่ในปี 1809 Sir Humphrey Davy สรุปว่า ก๊าซคลอรีนเป็นธาตุ และได้ถูกตั้งชื่อว่าคลอรีนเนื่องจากคุณสมบัติที่มีสีเหลืองเขียวของมัน

ในปี 1785 ด้วยคุณสมบัติการฟอกขาวของก๊าซคลอรีนในตัวทำละลายนำไปสู่การปรับปรุงใช้ในการฟอกขาวสิ่งทอขึ้นเป็นครั้งแรกและผลผลิตทางการค้าที่ตามมา ภายหลังไม่นานก็พัฒนาคลอรีนให้อยู่ในรูปที่ใช้ได้สะดวกคือโซเดียมและแคลเซียมไฮโปคลอไรต์

ต้นศตวรรษที่ 19 คุณสมบัติแรกที่เป็นที่ยอมรับของคลอไรด์ที่เป็นปูนขาว คือ การฆ่าเชื้อและการกำจัดกลิ่น คลอรีเนตไลม์ได้ถูกประยุกต์ใช้กับการบำบัดน้ำเสียในลอนดอนเมื่อก่อนปี 1854 และถูกใช้ฆ่าเชื้อและกำจัดกลิ่นในโรงพยาบาล และในปี 1846 Semmelweis ใช้ปูนขาวในการต่อต้านและควบคุมการคลอดในคลินิกของเขาที่เวียนนา และในที่สุดในปี 1881 Koch ชาวเยอรมันได้พิสูจน์ให้เห็นว่าสายพันธุ์บริสุทธิ์ของแบคทีเรียถูกทำลายได้โดยใช้ไฮโปคลอไรต์ภายใต้การควบคุมในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 5 ปีต่อมา The American Public Health Association ได้ตีพิมพ์รายงานส่งเสริมการใช้ไฮโป-คลอไรต์เป็นตัวฆ่าเชื้อ (Hadfield,1957)

การใช้คลอรีนเป็นสารฆ่าเชื้ออย่างกว้างขวางเริ่มตอนสงครามโลกครั้งที่ 1 เมื่อ Dakin (1915) แนะนำให้ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 0.45 - 0.50 เพื่อฆ่าเชื้อแผลเปิดแผลติดเชื้อ โดยสารละลายของ Dakin เริ่มแรกนั้นจะเตรียมโดยผสมปูนขาวและโซเดียมคาร์บอเนตด้วยกรดบอริก แต่เพราะกรดบอริกก่อให้เกิดการระคายเคืองจึงปรับปรุงโดยนำปูนขาวผสมกับสารผสมของโซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมไบคาร์บอเนตแทน ไฮโปคลอไรต์ที่ได้นี้จะมีความคงตัวที่ดีกว่า และระคายเคืองต่อแผลเปิดน้อยกว่า จนกระทั่งปี 1963 สารละลายของ Dakin ได้เป็นผลิตภัณฑ์มาตรฐานของตำรับยาในประเทศอังกฤษ

สารประกอบคลอรีนที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ที่ผิวของอุปกรณ์มีหลายชนิด ได้แก่ คลอรีนเหลว ไฮโปคลอไรซ์ คลอรามีนทั้งชนิดอนินทรีย์ และชนิดอินทรีย์ และคลอรีนไดออกไซด์ สำหรับสารคลอรีนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดและนิยมใช้กันมากที่สุด คือ ไฮโปคลอไรท์ โดยใช้ในรูปของโซเดียมและแคลเซียม สารนี้มีข้อดีหลายประการ คือ ราคาถูก ไม่เป็นพิษในระดับความเข้มข้นที่ใช้ และมีประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิด แต่มีข้อเสีย คือ จะกัดกร่อนโลหะ โดยเฉพาะอลูมิเนียม เหล็ก และทองแดงเคลือบดีบุก ดังนั้นเมื่อใช้ไฮโปคลอไรท์กับอลูมิเนียม ควรควบคุมให้ระดับความเข้มข้นของคลอรีนอิสระไม่เกิน 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนอุปกรณ์ที่ทำด้วยสแตนเลสสตีลจะทนต่อการกัดกร่อนของไฮโปคลอไรท์ได้ดีกว่าโลหะชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามไม่ควรให้ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระสูงเกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Berg, 1988; Marriott, 1994) ชนิดของสารฆ่าเชื้อกลุ่มนี้ ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ hypochlorites, chlorine gas, chloramines, chlorinated trisodium phosphate, derivatives ของ isocyanuric และ dichlorodimethyl hydrantion เป็นต้น สารฆ่าเชื้อกลุ่มนี้จัดเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีมาก สามารถทำลายได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ ทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้บ้าง และคงตัวได้ดีในน้ำกระด้าง chlorine-releasing compounds ที่มีอยู่ในรูปผง จะคงตัวได้ดีกว่าประเภทที่เป็นของเหลว chlorine-releasing compound ที่นิยมใช้ได้แก่

1. Hypochlorites เป็นเกลือของกรดไฮโปคลอรัส เมื่ออยู่ในสารละลายเกลือนี้จะแตกตัวให้ OCl^- ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดี สำหรับเกลือไฮโปคลอไรต์ที่มีการใช้มากได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ มักจะขายในรูปที่เป็นของเหลวซึ่งจะมี คลอรีนที่สามารถใช้ได้อยู่ร้อยละ 10-14 และแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ซึ่งจะอยู่ในรูปผง มีคลอรีนที่สามารถใช้ได้อยู่ร้อยละ 30 ในการทำความสะอาดแบบ CIP จะมีการใช้สารฆ่าเชื้อชนิดนี้กันมาก ประสิทธิภาพของสารชนิดนี้จะดีที่สุดที่ค่าพีเอช 4-5 และมีการกัดกร่อนมากที่สุดที่ค่าพีเอช 5 ฉะนั้นเวลาใช้ จึงมักเตรียมสารนี้ให้มีค่าพีเอช 10-11 และให้มีการควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำ เพราะว่าถ้าหากอุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดการกัดกร่อนขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปจะใช้ในความเข้มข้นประมาณ 50-200 ส่วนในล้านส่วนคลอรีนที่แตกตัวออกมาเป็นส่วนที่ใช้ได้ และให้มีเวลาสัมผัส 3-30 นาทีก็พอและถ้าหากสามารถจะลดทั้งปริมาณความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ลงจะเป็นการป้องกันการกัดกร่อนที่อาจเกิดขึ้นได้

2. ก๊าซคลอรีน ปรกติจะใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำประปา แต่ก็มีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

3. คลอรามีน ตัวอย่างเช่น Chloramine T และ Chloramine B เป็นต้น Chloramine T จะมีความคงตัวดีกว่าไฮโปคลอไรด์ ในกรณีที่มีสารประกอบอินทรีย์อยู่ คลอรามีนจะมีความเป็นพิษและระคายเคืองต่อผิวหนังน้อยกว่า โดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพต่ำกว่า ยกเว้นที่ค่าพีเอชสูงกว่า 10 จะมีประสิทธิภาพสูงกว่า เหมาะที่จะใช้ในการทำความสะอาดเครื่องมือที่ต้องการแช่ไว้ เนื่องจากมีความกัดกร่อนน้อย แต่ควรล้างออกให้หมด เมื่อทำความสะอาดเสร็จเรียบร้อยแล้ว

4. คลอริเนตไตรโซเดียมฟอสเฟต เมื่อละลายในน้ำ จะมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ และประสิทธิภาพจะลดลงถ้ามีสารประกอบอินทรีย์อยู่ด้วย ประสิทธิภาพจะดีขึ้น ถ้าหากมีการใช้ bromide-releasing compound ด้วย

5. อนุพันธ์ของกรดไอโซไซยานูริค เช่น ไดคลอโรไอโซไซยานูริคและกรดไตรคลอโรไอโซไซยานูริค เนื่องจากมีการละลายน้อยมาก จึงนิยมใช้ในรูปเกลือมีคุณสมบัติคล้าย คลอรามีน คือ ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและจะปล่อยคลอรีนออกมาอย่างช้าๆ

6. ไดคลอโรไดเมทธิลไฮเดเทียล จะมีประสิทธิภาพดีในสภาวะที่เป็นกรดแต่ก็มีการละลายไม่ดีในน้ำ

ความคงตัวของคลอรีนในสารละลาย

1. ความเข้มข้นของคลอรีน
2. ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา
3. ความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย
4. อุณหภูมิของสารละลาย
5. ลักษณะของสารอินทรีย์
6. รังสีอัลตราไวโอเลต

ปัจจัยเหล่านี้จะใช้แยกกันหรือใช้ร่วมกัน มีผลต่อความคงตัวของอนุมูลอิสระของคลอรีนในสารละลาย เหล็ก และอลูมิเนียม มีผลเพียงเล็กน้อยต่อความคงตัวของคลอรีนในสารละลาย ขณะที่ทองแดง นิคเคิล หรือ โคบอลต์ มีประสิทธิภาพในการเร่งการแตกตัวของอนุมูลอิสระของสารละลายคลอรีนที่มีความคงตัวมาก ซึ่งขึ้นกับลักษณะดังต่อไปนี้

1. ความเข้มข้นของคลอรีนต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. มีทองแดง โคบอลต์ นิคเคิล หรือตัวเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ ต่ำ หรือไม่มี

3. ค่าอัลคาไลนิตี้สูง

4. อุณหภูมิต่ำ

5. สารอินทรีย์น้อย

6. เก็บไว้ในที่มืดและปิดมิดชิด

ความคงตัวของคลอรีนในสารละลายหรือผลิตภัณฑ์ถูกกำหนดโดยค่าครึ่งชีวิต ที่ใช้เป็นเครื่องหมายแสดงจำนวนวันที่ต้องการรีดิวซ์คลอรีนให้เหลือครึ่งหนึ่งของปริมาณเริ่มต้น (Chlorine Bleach Solut,1957)

กลไกการเกิดปฏิกิริยา

Dychdala (1960) ปัจจุบันได้มีการตรวจกลไกของกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์สำหรับคลอรีน รวมถึงผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ (Baker,1926, Chang,1944) และการยับยั้งเอนไซม์ซัลไฟดริล และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของกลูโคส (Greene และ Stumpf, 1946 ; Knox และคณะ 1948) รายงานปัจจุบันที่จัดทำโดย Haas และ Engelbrechz (1980), ผู้แต่งได้สรุปว่าคลอรีนมีประสิทธิภาพของปฏิกิริยาที่ทำให้ถึงตายที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์หรือใกล้เคียง ได้ผลดีต่อผลกระทบที่มีต่อ DNA ได้มีการแนะนำว่า ปฏิกิริยา NaOCl ต่อ DNA ของเซลล์ที่มีชีวิต เนื่องมาจากการผ่าเหล่าโดยการออกซิเดชั่นของเบสเพียวรีนและไพริมิดีน Rosenkranz (1973) และBernarae และคณะ (1976) อ้างว่าเกิดเนื่องจากการไม่เกิดปฏิกิริยาของ ClO_2 ที่ทำลายการสังเคราะห์โปรตีน

การฆ่าสปอร์ของคลอรีนเป็นส่วนของการทำลายส่วนที่ห่อหุ้มโดยการรวมคลอรีนและการย้ายกลุ่มโปรตีน (Wyatt และ Naites, 1975) กล่าวว่าเป็นผลของสปอร์ไม่ถูกกระตุ้นต่อการทำลายเยื่อเลือกผ่าน (permeable membrane) เป็นผลให้สูญเสียไอออนแคลเซียม, กรดไดพิโคลินิค, RNA และ DNA การใช้คลอรีนเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บถึงตาย สามารถทำได้โดยการใช้ไฮโปคลอไรด์ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

กลไกของการฆ่าเชื้อโดยใช้คลอไรด์

คลอไรด์เป็นสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย เมื่อใช้คลอรีนในปริมาณที่น้อยที่สุด จะเกิดการฆ่าแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว เมตาบอลิซึมของกิจกรรมนี้ยังไม่สามารถอธิบายให้ชัดเจนได้ทั้งๆที่ ได้มีการวิจัยหลายการวิจัยแล้ว

Andrew (1904) แนะว่า ตัวจุลินทรีย์จะตอบสนองต่อ กรดไฮโปคลอไรท์โดยการทำลายตัวเอง เมื่อเติมคลอรีนหรือไฮโปคลอไรท์ลงน้ำ จะเกิดปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

$$Cl_2 + H_2O \rightarrow HOCl + H^+ + Cl^-$$

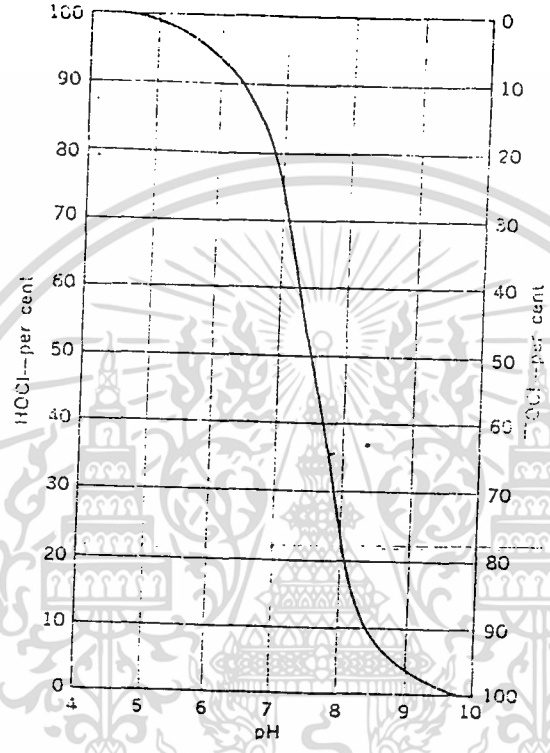
$$Ca(OCl)_2 + H_2O \rightarrow Ca^{2+} + H_2O + 2OCl^-$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Ca(OCl)_2 + H_2O \rightarrow Ca(OH)_2 + 2HOCl$$

$$HOCl \leftrightarrow H^+ + OCl^-$$

การแตกตัวของกรดไฮโปคลอรัส จะขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่าง และสมดุลย์ระหว่าง HOCl และOCl^- ที่มีอยู่ เมื่อ HOCl ถูกใช้ไปในปริมาณที่คงที่ จะได้สมการการฆ่าเชื้อดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่าง HOCl, OCl^-, และค่าความเป็นกรด-ด่าง (Baker, 1959.)

ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของคลอรีนลดลงเมื่อเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่าง และในทางกลับกัน จะได้ค่าเหมือนกับความเข้มข้นของกรดไฮโปคลอรัส ทำให้ระบุได้ว่า HOCl จะเสถียรกว่า OCl^- มาก ในการฆ่าแบคทีเรีย จากประสบการณ์เรารู้ว่าสารละลายด่างของทั้งโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ สำหรับการใช้ HOCl ในปริมาณเล็กน้อย และการใช้ OCl^- ในปริมาณที่มากกว่าจะทำให้มีคุณสมบัติในการฆ่าแบคทีเรียจำกัด อธิบายได้ว่าไอออน OCl^- อาจจะเป็นปัจจัยร่วมในการฆ่าเชื้อ การสำรวจอาจทำได้โดย HOCl ที่ถูกใช้ไปในกระบวนการฆ่าเชื้อ สมดุลย์น้ำ (เมื่อผ่านสมดุลไป 5 ครั้ง) อาจจะไปทางซ้ายและ HOCl จะถูกสร้างขึ้นมาอย่างต่อเนื่องและมีผลในการฆ่าแบคทีเรีย เนื่องจากไอออน OCl^- จะอยู่ในคลอไรด์ที่กำลังทำปฏิกิริยา มันอาจจะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อได้ Fair.และคณะ (1948) และต่อมา Morris(1966) ได้คำนวณออกมาเป็นทฤษฎีของกราฟสำหรับความสัมพันธ์ของประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของ HOCl และ OCl^- เพื่อจะให้การฆ่า *E.coli* ร้อยละ 99 ที่ 2-5 องศา-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเชียส ที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ต่างๆ กันภายใน 30 นาที และพบว่าไอออน OCl^- จะยับยั้งประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อประมาณ 1 ใน 80 ส่วน ของ HOCl ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันนี้

เป็นที่แน่นอนว่า HOCl ทำลายจุลินทรีย์อย่างไรนั้น ยังไม่เคยพิสูจน์ให้เป็นได้จากการทดลอง อย่างไรก็ดี HOCl จะปล่อยออกซิเจนที่เกิดมาให้เป็นอิสระ ซึ่งคาดว่าจะไปรวมกับส่วนประกอบของโปรโตพลาสซึมของเซลล์ และทำลายอวัยวะได้ แต่ทฤษฎีนี้ก็ไม่ได้รับการยืนยัน เพราะสารประกอบที่ผลิตออกซิเจนเช่น H_2O_2 และ $KMnO_4$ ถึงแม้ว่าออกซิเจนที่เกิดใหม่มีปริมาณมากมันจะฆ่าไม่เร็วเท่ากับคลอรีน เพราะคลอรีนสามารถฆ่าได้แม้แต่ในสภาวะที่โปรโตพลาสซึมในเซลล์แบคทีเรียถูกแยกออกไปออกซิเดชั่นโดยตรง

Baker (1959) พบทฤษฎีที่เป็นประโยชน์คือ คลอรีนจะทำลายแบคทีเรียโดยจะเข้าไปรวมกับโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์สร้างเป็นสารประกอบ N-Chloro ซึ่งต่อไปจะเข้าสู่กระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุการตายของจุลินทรีย์ ทฤษฎีอื่นจะมีข้อกำหนดว่า การเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้ม-เซลล์ จะเป็นการยอมให้มีการแพร่กระจายของส่วนประกอบต่างๆ ภายนอกเซลล์ หรือเป็นการทำลายเมตาบอลิซึมของเซลล์ที่มีอยู่ซึ่งจะนำไปสู่การฆ่าเชื้อโดยใช้คลอรีนผลการทดลองของRudolph.และคณะ (1941) กล่าวว่าการฆ่าแบคทีเรียโดยใช้ไฮโปคลอไรด์จะสมบูรณ์เมื่อ

1. ส่วนผสมของสารที่ใช้ฆ่าเชื้อ มีการเจาะเข้าไปในเซลล์แบคทีเรีย

2. ปฏิกิริยาเคมีของส่วนผสมของสารที่ใช้ฆ่าเชื้อกับโปรโตพลาสซึมของเซลล์ เพื่อสร้างสารประกอบที่เป็นพิษที่ซับซ้อน (สารประกอบ N-Chloro) ซึ่งจะเป็นตัวทำลายจุลินทรีย์

Green.และคณะ (1946) ใช้ประโยชน์จากทฤษฎีการมีอยู่ของเอนไซม์โดยมีหลักฐานว่า เนื่องจากระดับคลอรีนต่ำๆ จะจำเป็นต่อการฆ่าแบคทีเรีย คลอรีนจะยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในเซลล์ พวกเขาพบความสัมพันธ์ระหว่างผลของคลอรีนต่อการเจริญของแบคทีเรีย และผลของมันต่ออัตราการออกซิเดชั่นกลูโคส โดยเซลล์แบคทีเรีย การยับยั้งของการออกซิเดชั่นกลูโคส จะวัดได้โดยใช้ร้อยละของแบคทีเรียที่ถูกฆ่า ต่อมาในภายหลัง Knox.และคณะ (1948) ยืนยันว่าผลกระทบของคลอรีนต่อการฆ่าแบคทีเรียจะเกิดขึ้นโดยการยับยั้ง ระบบเอนไซม์ที่จำเป็นต่อชีวิตและกลไกนี้จะเป็นผลมาจากการเกิดออกซิเดชั่นของคลอรีนบนกลุ่มซัลไฟดริลของเอนไซม์ที่ไวต่อการออกซิเดชั่น ปฏิกิริยานี้ไม่ปรากฏว่าผันกลับได้ เนื่องจากการพยายามทำให้ปฏิกิริยาผันกลับโดยการเติม cysteine หรือ glutathione แล้วไม่สำเร็จ การยับยั้งของปฏิกิริยาเมตาบอลิซึมของไซโตพลาสมิค มีความจำเป็นอย่างมากสำหรับการทำลายเซลล์แบคทีเรีย

Friberg(1956) ใช้การแผ่รังสีของ ^{35}Cl ศึกษาปริมาณการแผ่ขยายของคลอรีนซึ่งจะไปรวมกับแบคทีเรีย เขาได้รายงานว่าไม่มีคลอรีนตัวใดสามารถอยู่ที่ 5 นาทีสุดท้ายของระยะเวลาการใช้คลอรีน และการรวมตัวกันของคลอรีนเข้ากัน แบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น และยังเพิ่มเวลาที่เข้าทำปฏิกิริยาและยังเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของคลอรีน ไม่มีคลอรีนที่ใช้ไปโดยแบคทีเรีย จากการเข้าร่วมกับคลอรีนอิสระที่มีอยู่ เขาสรุปว่าการรวมกับคลอรีนทางเคมีกับโปรโตพลาสซึมของแบคทีเรียเพื่อสร้างคลอรามีน ซึ่งไม่เหมือนกับว่าเป็นการสนับสนุนผลกระทบที่มีต่อการฆ่าแบคทีเรียในช่วงแรก และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นปฏิกิริยาแรกของการรวมตัวกันระหว่างคลอรีนและแบคทีเรีย ลำดับก่อนหลังของการสะสมของผนังเซลล์แบคทีเรียจะขึ้นกับการเกิดการฆ่าแบคทีเรีย ซึ่งสิ่งที่เขาอ้างอิงนี้คล้ายกับที่ Greenและคณะ (1946) และ Knox และคณะ (1948) ได้แสดงไว้ คือที่คลอรีนความเข้มข้นต่ำ สามารถนำไปสู่การทำลายอย่างรวดเร็ว

ความต้านทานคลอไรด์ของจุลินทรีย์

แบคทีเรีย ไวรัส รา และสาหร่ายหลายชนิดจะมีความต้านทานต่อการยับยั้งด้วยไฮโปคลอไรด์แตกต่างกันภายใต้สภาวะทดสอบต่างๆ โดยความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ค่าพีเอชที่ต่ำลง หรืออุณหภูมิที่สูงขึ้น คลอรีนจะต้านทานจุลินทรีย์ (Tonney และคณะ, 1928และ 1930) ในการศึกษาพวกแบคทีเรียที่เจริญแล้วและในรูปสปอร์ สรุปได้ว่าคลอรีนสามารถต้านทานจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน โดยทั่วไป พบว่าพวกเซลล์ที่เจริญแล้วจะต้านทานคลอรีนน้อยกว่ากลุ่มที่อยู่ในรูปสปอร์ ความเข้มข้นของคลอรีน 0.15-0.25 ส่วนในล้านส่วนก็เพียงพอต่อการทำลายพวกเซลล์ที่เจริญแล้ว ภายใน 30 วินาที ซึ่งแบคทีเรียที่เจริญแล้ว *Escherichia coli* เป็นตัวต้านทานคลอรีนดีกว่าจุลินทรีย์ตัวอื่น

ตารางที่ 7 น้ำที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน

การนำไปใช้ประโยชน์	ค่าความเข้มข้นของคลอรีน (ส่วนในล้านส่วน)
น้ำประปา	0.5
ถังเก็บน้ำก่อนส่งจ่าย	20
สระว่ายน้ำ	0.6
น้ำที่ใช้ทำความเย็นในอุตสาหกรรมกระป๋อง	4-5
น้ำที่ใช้ในขบวนการชำแหละสัตว์ปีก	10-20(200 สำหรับ 10 นาที)
โรงฆ่าสัตว์	10
น้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมปลา	40
น้ำที่ใช้เลี้ยงผัก, เนื้อสดและปลา ในการทำสลัด	100(ใช้เวลา 10-15 นาที แล้วล้างออก)
ปลาและหอยที่ได้จากแหล่งน้ำที่เป็นมลพิษ	200-6000
น้ำดื่มที่ใช้บนเครื่องบิน	10(30 นาทีหลังจากนั้นทำการระเหยคลอรีน)
น้ำดื่ม	20-30 (15 นาที)
การควบคุมสาหร่าย	0.2-2.0
อุตสาหกรรมกระดาษ	3-5

ที่มา : Trueman (1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CALCIUM HYPOCHLORITE

สารนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูงและเร็ว ในสภาวะแวดล้อมที่สะอาด จะมีผลต่อสปอร์ได้บ้าง ทั้งยังเข้ากันได้กับพวกไอออนประจุลบ และสารว่องไวที่มีประจุบวก และราคาไม่แพง ข้อเสียของสารประกอบดังกล่าวคือ มีอำนาจการกัดกร่อน ประสิทธิภาพลดลงเมื่อมีสารอินทรีย์อื่นอยู่ด้วยและไม่คงทน การลดค่าพีเอชลง จะทำให้ฤทธิ์การต้านเชื้อเพิ่มขึ้น จนกระทั่งถึงค่าพีเอช 5 แต่ในการลดสภาวะของค่าพีเอชลง ดังกล่าวก็ทำให้สารละลายไม่คงตัวด้วย นิยมนำสารละลายอนินทรีย์คลอรีนมาฆ่าเชื้อในน้ำ โดยเฉพาะน้ำดื่ม สำหรับสารประกอบอินทรีย์คลอรีน เช่น คลอรามีน-ที ไดคลอรามีน-ที ฮาลาโซน เกลือโซเดียมของกรดไดคลอโรไอโซไซยานูริค พวกนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดีเช่นเดียวกับพวกแรก แต่วิถีการออกฤทธิ์ช้ากว่าสารประกอบอินทรีย์คลอรีน นอกจากใช้ฆ่าเชื้อในน้ำดื่มแล้วยังสามารถใช้ฆ่าเชื้อบนผิวหนัง ช่องบุเนื้อเยื่ออ่อน เพราะไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง ความเข้มข้นที่นิยมใช้เพื่อการฆ่าเชื้อประมาณร้อยละ 1-10

แคลเซียมไฮโปคลอไรด์มีอะตอมคลอรีน 2 อะตอมในหมู่ของไอออนไฮโปคลอไรด์ (OCl^-) หรือคลอรีน 4 อะตอมสำหรับโมเลกุลของ $Ca(OCl)_2$ ปฏิกิริยาไฮโปคลอไรท์ ในน้ำตามขั้นตอนดังนี้

$$Ca(OCl)_2 \longrightarrow Ca^{2+} + 2\ OCl^-$$

$$H^+ + OCl^- \longleftrightarrow HOCl$$

คลอรีนจะประยุกต์ใช้ในรูปของแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ไฮโปคลอไรท์เป็นเกลือของกรดไฮโปคลอรัส แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ที่ใช้โดยมากจะอยู่ในรูปแห้ง ในทางการค้าจะอยู่ในรูปผงหรือเม็ด ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้และคลอรีนละลายได้ประมาณร้อยละ 70

$$2\ Ca(OH)_2 + 2Cl_2 \longrightarrow Ca(OCl)_2 + CaCl_2 + 2H_2O$$

ตารางที่ 8 การยับยั้งปฏิกิริยาของแบคทีเรียโดยไฮโปคลอไรท์

เชื้อจุลินทรีย์	อนุมูลคลอรีนอิสระ (ส่วนในล้านส่วน)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้	ร้อยละการยับยั้ง
Aerobacter Aerogenes	0.01	7.0	20	5 min	99.8
Staphylococcus Aureus	0.07	7.0	20	5 min	99.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	อนุมูลคลอรีนอิสระ (ส่วนในล้านส่วน)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้	ร้อยละการยับยั้ง
Escherichia coli	0.01	7.0	20	5 min	99.9
Salmonella dysenteride	0.02	7.0	20	5 min	99.9
Salmonella paratyphi B	0.02	7.0	20	5 min	99.9
Salmonella derby	12.5	7.2	25	15 s	>99.999
Escherichia coli	12.5	7.7	25	15 s	>99.999
Escherichia coli	6	8.6	25	15 s	>99.999
Streptococcus lactis	6	8.4	25	15 s	>99.99
Lactobacillus plantarum	6	8.4	25	300 s	0
Lactobacillus plantarum	6	5.0	25	15 s	>99.99

ที่มา : Dychdala (1960)

ตารางที่ 9 การยับยั้งปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างสปอร์โดยไฮโปคลอไรท์

เชื้อจุลินทรีย์	อนุมูลคลอรีนอิสระ (ส่วนในล้านส่วน)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้	ร้อยละการยับยั้ง
Bacillus cereus	100	8.0	21	5	99
Bacillus subtilis	100	8.0	21	60	99
Bacillus macerans	7.5	6.5	25	8	99.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 (ต่อ)

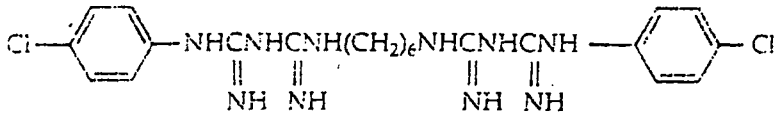
เชื้อจุลินทรีย์	อนุมูลคลอรีนอิสระ (ส่วนในล้านส่วน)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้	ร้อยละการยับยั้ง
Bacillus coagulans	5	6.8	20	27	90
Clostridium botulinum type A	4.5	6.5	25	10.5	99.99
Clostridium botulinum type E	4.5	6.5	25	6.0	99.99
Clostridium perfringens 6719	5	8.3	10	60	0
Clostridium histolyticum	5	8.3	10	10	90
Clostridium tertium	5	8.3	10	20	99.9
Clostridium bifermentans	5	8.3	10	20	99.99
Clostridium sporogenes	5	8.3	10	35	99.9

ที่มา : Dychdala(1960)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CHLORHEXIDINE (HIBITANE)

คือ 1,6-di(4-chlorophenyl-diguanido)hexane เป็นยาฆ่าเชื้อที่มีฤทธิ์แรงที่สุดตัวหนึ่งในกลุ่ม biguanides ที่เป็นประจุบวก มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 สูตรโครงสร้างของ Chlorhexidine

จากการศึกษาความสัมพันธ์กลุ่มของ bisbiguanides ของสารประกอบนี้ ที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบในวงแหวนฟีนอล ซึ่งคลอรีนเป็นสารที่มีความว่องไวสูง (Davies และคณะ,1954) สารคลอเฮกซิดีนเป็นสารที่เป็นเบสแก่ มีบางส่วนที่สามารถละลายน้ำได้ ปฏิกิริยาของกรดจัดตัวอยู่ในรูป RX_2 อาจเป็นไปได้ว่า chlorhexidine จะเป็นสารต่อต้านแบคทีเรียซึ่งถูกค้นพบในระหว่างการค้นคว้าหาสารต่อต้านมาลาเรียตัวใหม่ ซึ่งเกี่ยวกับ proguanil (Davies และคณะ, 1954) โดย chlorhexidine เป็นเกลือที่อยู่ในรูปกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ซึ่ง disulfonate (โดยปกติจะหมายถึง chlorhexidine gluconate) และถูกใช้ประโยชน์ในรูปของสารละลายเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักโดยปริมาตร บางครั้งอาจเจือจางได้ด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์ ซึ่งมีการละลายของ chlorhexidine ที่จะส่งผลต่อพื้นผิวอย่างปานกลาง และ chlorhexidine เป็นสารที่ไม่มีสีและกลิ่น แต่มีรสขม รสชาติไม่เป็นที่พึงปรารถนา

Chlorhexidine ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้รวดเร็วที่ค่าพีเอช 5 - 8 โดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกฉีกขาด ไม่ค่อยมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Pseudomonas* และ *Serratia* ไม่ทำลายเชื้อไวรัส ฤทธิ์ในการฆ่าไม่ถูกทำลายด้วยซีรั่ม หนอง หรือสบู่ ที่ใช้กันแพร่หลายคือ Chlorhexidine gluconate เข้มข้นร้อยละ 4

ตารางที่ 10 ความว่องไวต่อเชื้อจุลินทรีย์

ชนิดของแบคทีเรีย	ระดับความว่องไวของสาร
แบคทีเรียแกรมบวก	ว่องไว
แบคทีเรียแกรมลบ	ปานกลาง
แบคทีเรียชนิดทนกรด	ต้านทาน
สปอร์ของแบคทีเรีย	ต้านทาน
Lipophilic viruses	อาจจะมีความว่องไว
Hydrophilic viruses	ต้านทาน

ที่มา : Davies และคณะ (1954)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 กิจกรรมการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดย Chlorhexidine Gluconate

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	จำนวนสายพันธุ์	MIC (mg/ml)	
		ค่าเฉลี่ย	ช่วงกว้าง
เซลล์รูปร่างกลมแกรมบวก			
Micrococcus flavus	1	0.5	
Staphylococcus aureus	16	1.6	1-4
Staphylococcus epidermidis	41	1.8	0.25-8
Streptococcus faecalis	5	38	32-64
Streptococcus mutans	2	2.5	
Streptococcus pneumoniae	5	11	8-16
Streptococcus pyogenes	9	3	1-8
Streptococcus viridans	5	25	2-32
เซลล์รูปร่างแท่งแกรมบวก			
Bacillus cereus	1	8	
Bacillus subtilis	2	1	
Clostridium difficile	7	16	8-32
Clostridium welchii	5	14	4-32
Corynebacterium sp.	8	1.6	0.5-8
Lactobacillus casei	1	128	
Listeria monocytogenes	1	4	
เซลล์รูปแท่งแกรมลบ			
Acinetobacter anitratus	3	32	16-64
Acinetobactor lwoffi	2	0.5	
Alkaligenes faecalis	1	64	
Bacteroides distastonis	4	16	
Bacteroides fragilis	11	34	8-64
Campylobacter pyloridis	5	17	8-32
Citrobacter freundii	10	18	4-32
Enterobacter cloacae	12	45	16-64
Escherichia coli	14	4	2-32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	จำนวนสายพันธุ์	MIC (mg/ml)	
		ค่าเฉลี่ย	ช่วงกว้าง
Gradnerella vaginalis	1	8	
Haemophilis influenza	10	5	2-8
Klebsiella aerogenes	5	25	16-64
Klebsiella oxytoca	2	32	
Klebsiella pneumoniae	5	64	32-128
Proteus mirabilis	5	115	64->128
Proteus morganii	5	73	16-128
Proteus vulgaris	5	57	32-128
Providencia stuartii	5	102	64-128
Pseudomonas aeruginosa	15	20	16-32
Pseudomonas cepacia	1	16	
Pseudomonas fluorescens	1	4	
Salmonella bredeney	1	16	
Salmonella dublin	1	4	
Salmonella galinarum	1	8	
Salmonella montivideo	1	8	
Salmonella typhimurium	4	13	8-16
Salmonella virchow	1	8	
Serratia marcescens	10	30	16-64

ที่มา : Shaker (1986)

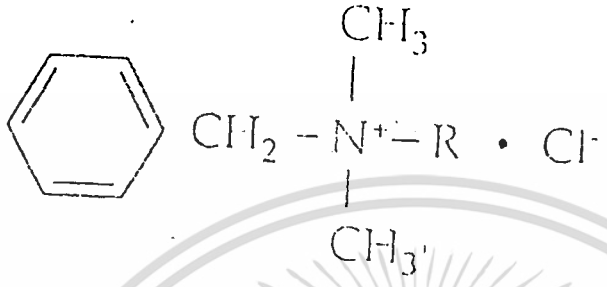
ประโยชน์

- สารฆ่าเชื้อที่ผิว และเป็นสารทำความสะอาดมือ
- ใช้กันแพร่หลายในการฟอกมือ, ผิวหนังและเป็นสารฆ่าเชื้อทั้งตัวก่อนทำการผ่าตัด
- ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียอยู่ได้นานเมื่อใช้ซ้ำๆ เป็นเวลานาน โดยไม่ค่อยทำให้ผิวหนังระคายเคือง
- ใช้อาบน้ำเด็กทารก เพื่อป้องกันการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus*
- ใช้กับบาดแผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BENZALKONIUM CHLORIDE (ZEPHIRAN)

คือ Alkyldimethyl benzylammonium chloride**ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายมีคุณสมบัติคือเป็นสารกึ่งของแข็ง มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 8**



รูปที่ 8 สูตรโครงสร้างของ Benzalkonium chloride

กลไกการออกฤทธิ์

สารประเภทนี้มีคุณสมบัติทำให้ผิวหนังเปียก ซึมผ่านผิวหนังได้ และทำปฏิกิริยากับเคราติน รวมทั้งเป็นสารฆ่าเชื้อจึงออกฤทธิ์ทำลายจุลชีพโดยละลายไขมันและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด

ประโยชน์

Benzalkonium chloride 0.1เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ลดแบคทีเรียที่ผิวหนังน้อยกว่าเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้กับบาดแผลจะอยู่ในลักษณะที่เป็นแผ่นบางๆ คลุมผิวหนังไว้ ในขณะที่ยังมีแบคทีเรียหลงเหลืออยู่ และอาจก่อให้เกิดการระบาดได้ในการแช่เครื่องมือ เครื่องใช้ที่เป็นวัสดุซึ่งสามารถดูดซับสารเอาไว้ เมื่อต้องการใช้น้ำยานี้ซ้ำ จึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ เพราะยาอาจมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลง จะทำให้เกิดการระบาดของแบคทีเรียแกรมลบได้ ยาฆ่าเชื้อชนิดนี้มีผลต่อแบคทีเรียและรา แต่ไม่มีผลต่อไวรัสและสปอร์ของแบคทีเรีย ฤทธิ์ดีขึ้นในสภาวะค่าพีเอชที่เป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย และฤทธิ์ลดลงเมื่อมีสารพวกแอนไอออนิก หรือสารอินทรีย์อยู่ด้วย ยาฆ่าเชื้อพวกดังกล่าวสามารถใช้กับผิวหนังหรือบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนได้ เพราะไม่ก่อความระคายเคือง จึงนิยมใช้ในงานผ่าตัด สูตินรีเวช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. เชื้อ 5 serotype ที่สนใจศึกษา

Salmonella anatum

Salmonella cerro

Salmonella choleraesuis

Salmonella derby

Salmonella rissen

2. อาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ Trypticase Soy Broth (TSB) และ Trypticase Soy Agar (TSA)

3. สารเคมีที่ใช้ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium hypochlorite) เบนซอลโคเนียม-คลอไรด์ (Benzalkonium chloride, Zephiran) คลอเฮกซิดีน (Chlorhexidine, Hibitane) โซเดียมไท-โอซัลเฟต (Sodium thiosulfate)

4. เครื่องมือได้แก่ ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ตู้แช่แข็ง (Freezer) เครื่องเขย่า (Shaker ที่ 180rpm) วอร์เทกซ์ มิกเซอร์ (Vortex mixer) ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven) สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

5. อุปกรณ์ทั่วไปได้แก่ จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ปิเปตต์ เออเลนเมเยอร์ฟลาสต์ 250 มิลลิลิตร ขวดวัดปริมาตร 1.,000 และ 100 มิลลิลิตร ขวดสีชา 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

ก. ขั้นตอนการเตรียม

1. นำเชื้อ *Salmonella* ทั้ง 5 สายพันธุ์ที่ทำการต่อเชื้อเอาไว้ใหม่มาทำ suspension แล้วเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. เตรียมสารละลาย Sanitizer โดยนำสาร Calcium hypochlorite, Benzalkonium chloride และ Chlorhexidine มาละลายให้มีความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ppm แล้วบรรจุไว้ในขวดสีชา
3. เตรียมสารละลาย Neutralizing โดยใช้เตรียม Sodium thiosulfate ให้มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ แล้วบรรจุไว้ในขวดสีชา

ข. ส่วนของทดลอง (จะทำสารเคมีทีละชนิด)

1. นำสารละลาย Sanitizer ตัวที่จะทดสอบมา 99 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรทั้งสามความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 5 ฟลาสต์ รวมเป็นจำนวน 15 ฟลาสต์ (3x5)
2. นำ Neutralizing มาใส่ในหลอดทดลอง 30 หลอด สำหรับ *Salmonella* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ที่ทั้งสองเวลา และสามความเข้มข้น (5x2x3)
2. ดูด suspension ที่มีเชื้อ $3x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงใน Sanitizer 99 มิลลิลิตรที่เตรียมไว้
3. เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็วเมื่อครบ 1 นาที จะดูดสารละลายเชื้อมา 1 มิลลิลิตรเติมลงใน Neutralizing solution 9 มิลลิลิตรแล้วเขย่า
4. จับเวลาต่อจนครบ 5 นาทีแล้วนำสารละลายเชื้อ 1 มิลลิลิตรเติมลงใน Neutralizing solution 9 มิลลิลิตรแล้วเขย่า
5. ทำการเจือจางสารละลายเชื้อจากข้อ 4 และข้อ 5
6. นำไปทำการ spread plate บนอาหาร TSA
7. นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง
8. นับจำนวนโคโลนีที่ได้
9. ชุดควบคุมทำโดยใช้สารละลาย Buffer Phosphate 9 มิลลิลิตร แล้วใส่เชื้อโดยไม่ต้องเติม Sanitizer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการที่ได้ทำการทดลองหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยที่ใช้สารเคมี 3 ตัวคือ Calcium hypochlorite , Chlorhexidine , Benzalkonium chloride การวัดเชื้อเริ่มต้นโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ซึ่งจะได้เชื้อเริ่มต้น 3×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และทำการทดลองที่ 3 ความเข้มข้นได้แก่ 25 ppm , 50 ppm ,100 ppm โดยจับเวลาที่ 1นาที และ5 นาที โดยทำการเกลี่ยเชื้อ (spead plate) บนอาหาร TSA ได้ผลการทดลองโดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย

1. Calcium hypochlorite

ตารางที่ 12 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่เหลือจากการถูกยับยั้งโดย Calcium hypochlorite

	จำนวนเซลล์(เซลล์/มิลลิลิตร)					
	1 (นาที)			5 (นาที)		
สายพันธุ์	25 (ppm)	50 (ppm)	100(ppm)	25 (ppm)	50 (ppm)	100(ppm)
S.anatum	9.4×10^5	6.7×10^4	0	5.6×10^5	0	0
S.cerro	7.2×10^5	2.1×10^5	0	3.8×10^5	0	0
S.choleraesuis	9.3×10^5	6.0×10^4	0	4.7×10^5	0	0
S.derby	1.5×10^7	4.2×10^6	0	9.3×10^6	0	0
S.rissen	8.5×10^5	9.0×10^4	0	5.6×10^5	0	0

จากตารางผลการทดลองจะเห็นว่า Calcium hypochlorite มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ได้ดีโดยใช้เวลาเพียง 1 นาทีที่ความเข้มข้น 100 ppm. ก็สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ทั้ง 5 สายพันธุ์เหลือเป็น 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่เวลา 5 นาทีที่ความเข้มข้นเพียง 50 ppm. ก็สามารถยับยั้งเชื้อได้หมดเช่นกัน ยังสังเกตได้ว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีมากขึ้น

ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่ทั้งสองช่วงเวลา Calcium hypochlorite จะสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella cerro* ได้ดีที่สุด ส่วนที่ความเข้มข้น 50 ppm. เวลา 1 นาทีจะสามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salmonella choleraesuis ได้ดีที่สุด และที่ 5 นาทีของความเข้มข้น 50 ppm. และทั้งสองช่วงเวลาของที่ความเข้มข้น 100 ppm. จะสามารถยับยั้งเชื้อได้หมดทุกสายพันธุ์

ส่วนเชื้อที่ Calcium hypochlorite สามารถยับยั้งได้น้อยที่สุดได้แก่ *Salmonella derby* คือจะเหลือเชื้อมากที่สุดซึ่งจะสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จาก Dychdala (1960) ในตารางที่ 8

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

จากผลการทดลองนำค่าเฉลี่ยของ Calcium hypochlorite แต่ละความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ จะนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นโดยใช้ Ducan Multiple Range Test (DMRT) พบว่าค่าเฉลี่ยทั้งสามความเข้มข้นของ Calcium hypochlorite ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนค่าเฉลี่ยเป็นโคโลนีของแต่ละความเข้มข้นเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาที่ความเข้มข้น 25 ppm. และ 50 ppm. จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนที่ 100 ppm. จะไม่แตกต่างกัน

2. Chlorhexidine

ตารางที่ 13 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่เหลือจากการถูกยับยั้งโดย Chlorhexidine

	จำนวนเซลล์(เซลล์/มิลลิลิตร)					
	1 (นาที)			5 (นาที)		
สายพันธุ์	25(ppm)	50 (ppm)	100(ppm)	25 (ppm)	50 (ppm)	100(ppm)
S.anatum	$1.2x10^7$	$6.4x10^6$	$7.6x10^5$	$7.6x10^6$	$4.5x10^6$	$2.4x10^5$
S.cerro	$9.6x10^6$	$6.3x10^6$	$2.8x10^5$	$5.1x10^6$	$3.9x10^6$	$2.0x10^5$
S.choleraesuis	$1.3x10^7$	$7.6x10^6$	$5.4x10^5$	$5.3x10^6$	$3.3x10^6$	$8.3x10^4$
S.derby	$1.1x10^7$	$6.3x10^6$	$4.2x10^5$	$7.1x10^6$	$4.2x10^6$	$9.3x10^4$
S.rissen	$9.8x10^6$	$5.4x10^6$	$1.9x10^5$	$4.1x10^6$	$3.1x10^6$	$1.4x10^5$

จากตารางแสดงผลการทดลองจะเห็นว่า Chlorhexidine โดยส่วนมากจะสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella rissen* ได้ดีที่สุดและสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella anatum* ได้น้อยที่สุด และจะสังเกตุได้ว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาทีจะทำให้ Chlorhexidine มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด คือสามารถที่จะยับยั้งเชื้อ *Salmonella derby* ได้เหลือ 9.3 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยับยั้งเชื้อ *Salmonella choleraesuis* ได้เหลือเพียง 8.3 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

จากผลการทดลองนำค่าเฉลี่ยของ Chlorhexidine แต่ละความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ จะนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นโดยใช้ Ducan Multiple Range Test (DMRT) พบว่าค่าเฉลี่ยทั้งสามความเข้มข้นของ Chlorhexidine ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนค่าเฉลี่ยเป็นโคโลนีของแต่ละความเข้มข้นเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาที่ความเข้มข้น 25 ppm. และ 50 ppm. จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนที่ 100 ppm. จะไม่แตกต่างกัน

3. Benzalkonium chloride

ตารางที่ 14 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่เหลือจากการถูกยับยั้งโดย Benzalkonium chloride

	จำนวนเซลล์(เซลล์/มิลลิลิตร)					
	1 (นาที)			5 (นาที)		
สายพันธุ์	25(ppm)	50 (ppm)	100(ppm)	25 (ppm)	50 (ppm)	100(ppm)
S.anatum	$1.1x10^7$	$8.0x10^6$	$6.0x10^6$	$1.1x10^7$	$5.9x10^6$	$1.9x10^6$
S.cerro	$1.7x10^7$	$4.7x10^6$	$4.3x10^6$	$1.3x10^7$	$3.4x10^6$	$0.4x10^6$
S.choleraesuis	$1.1x10^7$	$6.6x10^6$	$5.5x10^6$	$1.0x10^7$	$5.1x10^6$	$1.2x10^6$
S.derby	$1.7x10^7$	$9.6x10^6$	$4.9x10^6$	$1.4x10^7$	$6.9x10^6$	$1.2x10^6$
S.rissen	$1.2x10^7$	$6.4x10^6$	$7.6x10^6$	$8.6x10^6$	$4.3x10^6$	$1.3x10^6$

จากตารางแสดงผลการทดลองจะเห็นว่า Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 50 ppm. และ 100 ppm. และทั้งสองช่วงเวลา จะสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella cerro* ได้ดีที่สุด และสังเกตุได้เช่นเดียวกับ Calcium hypochlorite และ Chlorhexidine ว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก็จะดีมากขึ้นด้วย แต่สำหรับที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่ 1 นาทีของ Benzalkonium chloride จะสามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้พอ ๆ กัน คือจะเหลือเชื้อประมาณ 1.4 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และประสิทธิภาพที่ 5 นาทีของความเข้มข้น 25 ppm. แทบจะไม่แตกต่างกับที่เวลา 1 นาทีเลย ยกเว้นสำหรับเชื้อ *Salmonella rissen*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

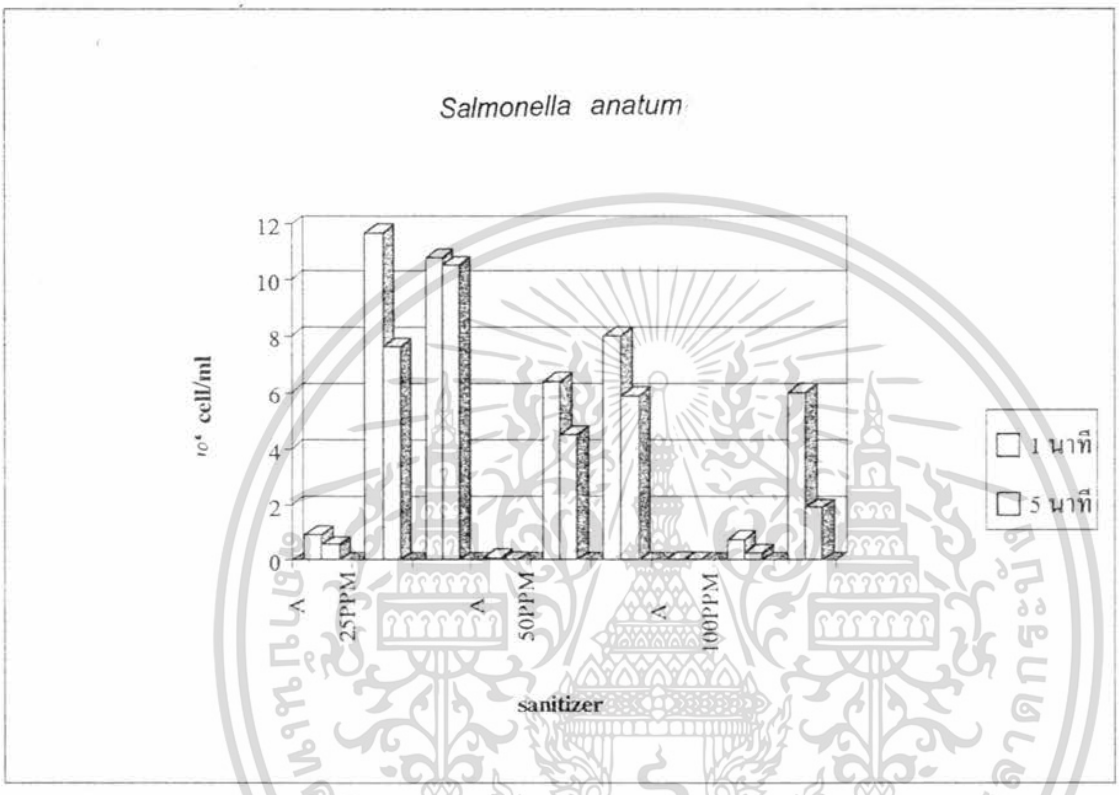
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

จากผลการทดลองนำค่าเฉลี่ยของ Benzalkonium chloride แต่ละความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ จะนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นโดยใช้ Ducan Multiple Range Test (DMRT) พบว่าค่าเฉลี่ยทั้งสามความเข้มข้นของ Benzalkonium chloride ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนค่าเฉลี่ยเป็นโคโลนีของทั้งสามระดับความเข้มข้นคือ 25 ppm., 50 ppm. และ 100ppm. เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับเวลาจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เมื่อนำผลการทดลองทั้ง 3 ตารางมาทำการเปรียบเทียบกับจะเห็นได้ว่าสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากที่สุดได้แก่ Calcium hypochlorite ส่วนสารเคมีที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ Chlorhexidine และ Benzalkonium chloride ตามลำดับ ส่วนที่เวลา 5 นาทีก็จะสามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่าที่เวลา 1 นาที และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นก็จะสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีขึ้นคือ 100 ppm. 50 ppm. และ 25 ppm. ตามลำดับ

เราจึงนำข้อมูลในตารางมาแสดงผลในรูปของแผนภูมิแท่ง 5 แผนภูมิของแต่ละสายพันธุ์ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นคือ 25 ppm. 50 ppm. และ 100 ppm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



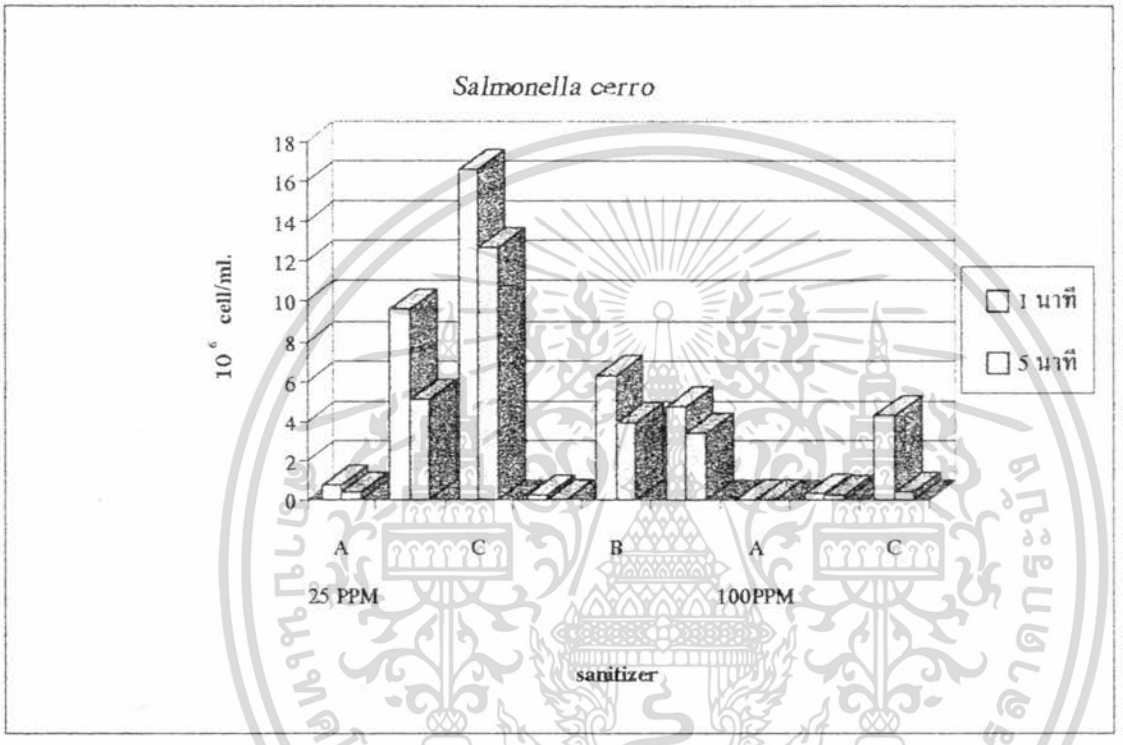
รูปที่ 6. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella anatum*

โดยที่ A : Calcium hypochlorite

B : Chlorhexidine

C : Benzalkonium chloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



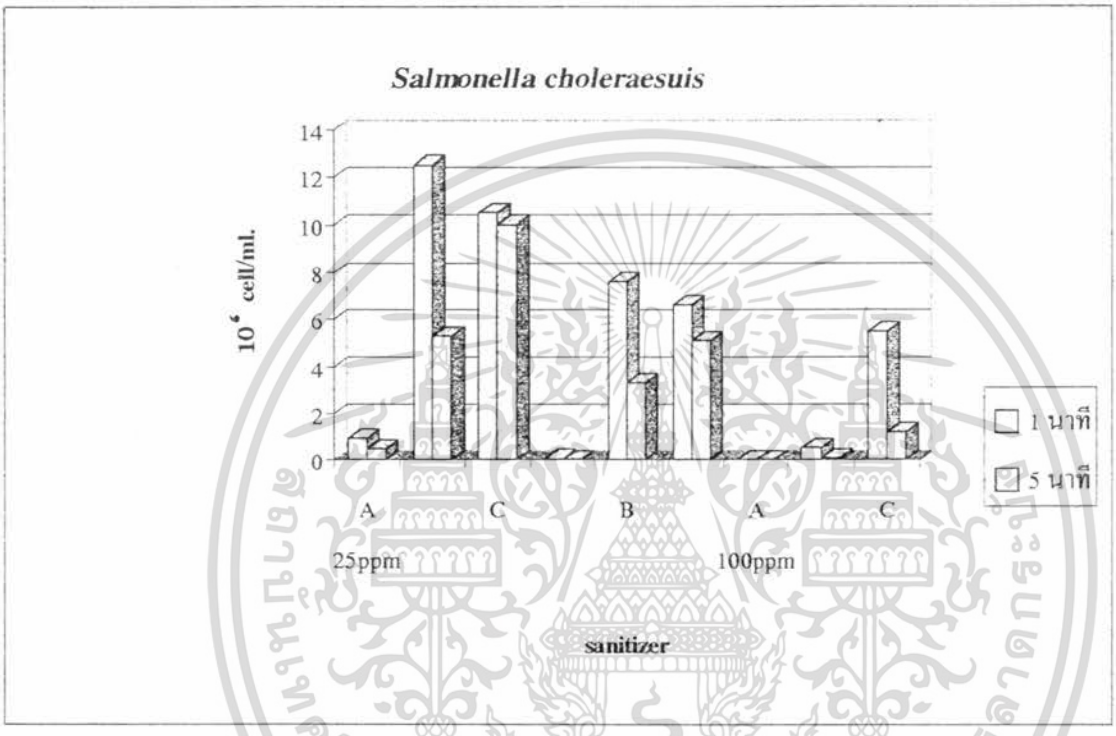
รูปที่ 7. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella cerro*

โดยที่ A : Calcium hypochlorite

B : Chlorhexidine

C : Benzalkonium chloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



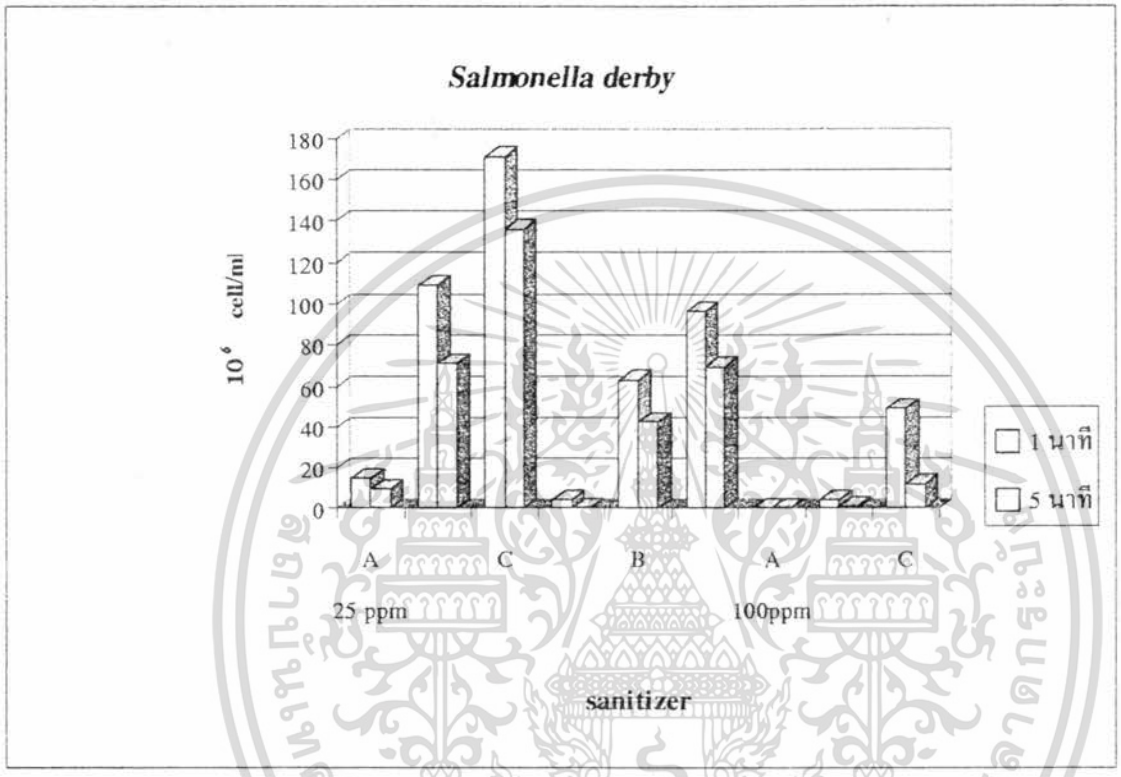
รูปที่ 8. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella choleraesuis*

โดยที่ A : Calcium hypochlorite

B : Chlorhexidine

C : Benzalkonium chloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



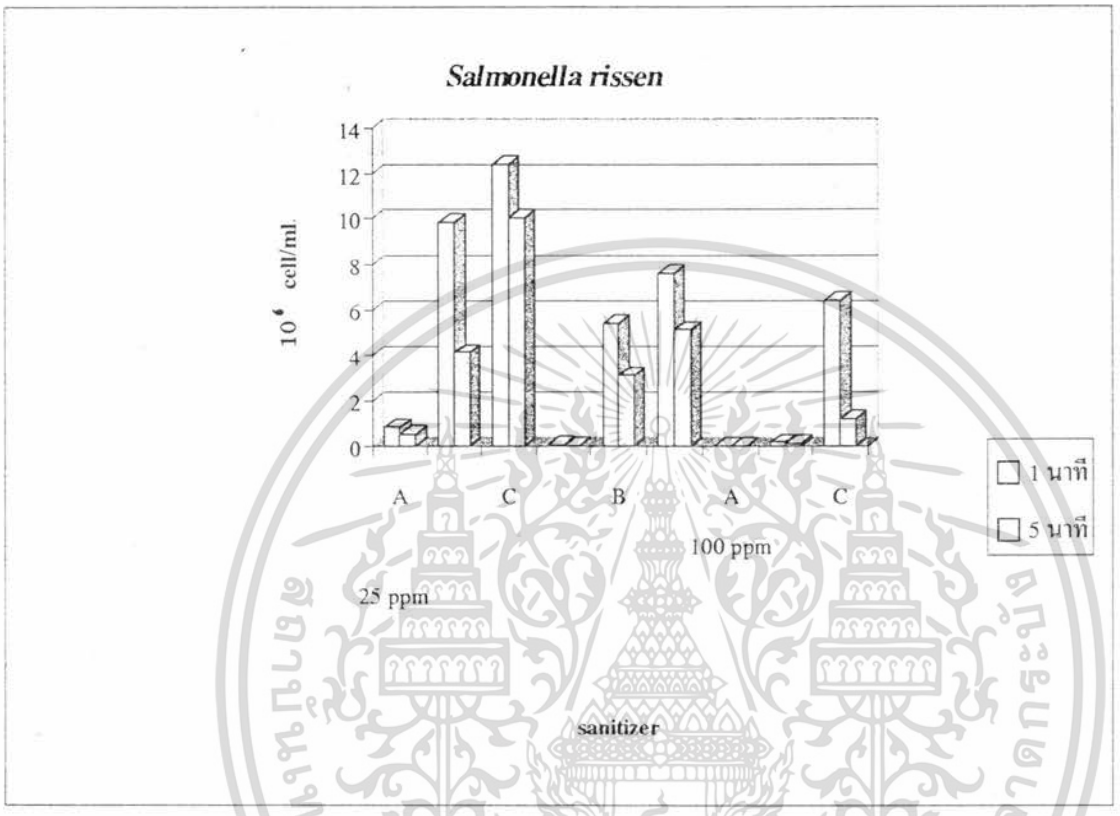
รูปที่ 9. แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella derby*

โดยที่ A : Calcium hypochlorite

B : Chlorhexidine

C : Benzalkonium chloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารเคมีที่ 1 นาที และ 5 นาที ทั้งสามความเข้มข้นของเชื้อ *Salmonella rissen*

โดยที่ A : Calcium hypochlorite

B : Chlorhexidine

C : Benzalkonium chloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากมาตรฐานสาธารณสุขกำหนดไว้ว่า *Salmonella* เป็นเชื้อที่ห้ามตรวจพบโดยเด็ดขาด ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เพราะว่าเป็นเชื้อที่อันตรายเราจึงทำการทดลองเพื่อที่จะหาวิธีที่จะยับยั้งเชื้อนี้ โดยเราได้ทำการทดลองโดยการใช้สารประกอบคลอรีนที่สนใจ 3 ชนิดคือ Calcium hypochlorite, Chlorhexidine, Benzalkonium chloride สรุปโดยรวมได้คือยิ่งความเข้มข้นมาก หรือการที่เวลาสัมผัสเชื้อของสารเคมีที่นานกว่าก็จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ดีกว่า ซึ่งจากการทดลองพบว่า Calcium hypochlorite เป็นสารตัวที่ดีที่สุด คือสามารถยับยั้งเชื้อได้หมด โดยที่ไม่ต้องใช้เวลานานคือที่ความเข้มข้น 100 ppm ที่ระยะเวลาที่สารสัมผัสกับเชื้อเพียง 1 นาที โดยที่สารเคมีที่มีประสิทธิภาพดีรองลงมาได้แก่ Chlorhexidine คือความสามารถยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 100 ppm ใช้เวลา 5 นาที จะดี โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella choleraesuis* และ *Salmonella derby* เหลือเชื้อเพียง 2.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 9.3×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ส่วน Benzalkonium chloride เป็นตัวที่สามารถยับยั้งเชื้อได้น้อยที่สุดคือ ที่ทุกๆความเข้มข้น ทั้งสองช่วงเวลาไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ต่ำกว่า 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเลย

จากการทดลองสังเกตุได้ว่าโดยส่วนมากสารเคมีสามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ *Salmonella derby* ได้น้อยที่สุด คือเชื้อนี้จะทนสาร Chlorhexidine และ Benzalkonium chlorine ได้ดีและเมื่อใช้สาร Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 25 ppm เป็นเวลา 1 นาทีจะเหลือเชื้อมากถึง 1.5×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

จะเห็นได้ว่า Calcium hypochlorite มีประสิทธิภาพดีทั้งยังมีราคาถูกกว่าสารอื่น แต่ก็จะมีข้อเสียคือมีฤทธิ์กัดกร่อนได้ ส่วน Benzalkonium chloride ในการทดลองแม้จะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้น้อยที่สุดและมีราคาแพง แต่ก็เป็นสารที่ใช้กับผิวหนังหรือบริเวณเนื้อเยื่ออ่อนได้ เพราะไม่ก่อความระคายเคือง ใช้ในงานผ่าตัด สูตินรีเวช ส่วน Chlorhexidine ก็เป็นที่นิยมใช้ฟอกผิวหนังก่อนผ่าตัดเมื่อใช้ซ้ำๆ จะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออยู่ได้เป็นเวลานาน ดังนั้นเมื่อเราจะใช้สารใดเราจึงต้องพิจารณาหลายๆ ด้านทั้งข้อดีข้อเสีย และการนำไปใช้ โครงงานนี้จึงมีไว้เพื่อเป็นแนวทางในการหาสารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อ *Salmonella* sp. และแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB)

Peptone 140	17.0 กรัม
Peptone 110	3.0 กรัม
Dextrose	2.5 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Dibasic potassium phosphate	2.5 กรัม
Distilled water	1,000.0 มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้เป็น 7.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
ข้อมูลดิบ

1. Calcium hypochlorite

ตารางที่ 15 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	83	96	104	12	8	20
Salmonella cerro	64	45	107	7	15	6
Salmonella choleraesuis	92	84	102	13	7	24
Salmonella derby	+	+	+	112	173	154
Salmonella rissen	77	65	112	34	19	4

ตารางที่ 16 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	44	52	73	11	7	6
Salmonella cerro	30	24	59	3	6	8
Salmonella choleraesuis	60	42	39	7	0	1
Salmonella derby	+	+	+	110	73	95
Salmonella rissen	87	26	54	4	9	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	11	4	5	0	0	0
Salmonella cerro	15	8	20	4	1	4
Salmonella choleraesuis	3	10	5	0	0	0
Salmonella derby	+	+	+	37	54	36
Salmonella rissen	10	5	12	1	1	1

ตารางที่ 18 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	0	0	0	0	0	0
Salmonella cerro	0	0	1	0	0	0
Salmonella choleraesuis	3	2	3	0	0	0
Salmonella derby	7	2	-	0	0	0
Salmonella rissen	1	0	2	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	0	0	0
Salmonella cerro	0	0	0
Salmonella choleraesuis	0	0	0
Salmonella derby	0	9	19
Salmonella rissen	0	0	0

ตารางที่ 20 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Calcium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	0	0	0
Salmonella cerro	0	0	0
Salmonella choleraesuis	0	0	0
Salmonella derby	0	0	2
Salmonella rissen	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Chlorhexidine

ตารางที่ 21 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	253	+	278	115	111	127
Salmonella cerro	+	+	+	107	96	84
Salmonella choleraesuis	+	+	+	124	135	117
Salmonella derby	+	+	+	110	104	114
Salmonella rissen	+	+	+	93	102	98

ตารางที่ 22 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	243	218	+	82	66	79
Salmonella cerro	+	+	+	57	47	50
Salmonella choleraesuis	85	71	68	72	48	40
Salmonella derby	+	+	+	92	65	56
Salmonella rissen	+	233	-	58	12	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	161	200	115	59	56	77
Salmonella cerro	250	241	+	71	66	51
Salmonella choleraesuis	283	259	278	96	51	-
Salmonella derby	+	+	+	70	51	69
Salmonella rissen	204	293	247	58	67	38

ตารางที่ 24 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	112	135	116	32	58	45
Salmonella cerro	178	239	165	45	58	45
Salmonella choleraesuis	142	115	151	16	30	36
Salmonella derby	+	+	+	39	51	47
Salmonella rissen	211	200	207	-	32	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 25 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	86	59	84
Salmonella cerro	25	27	31
Salmonella choleraesuis	65	42	55
Salmonella derby	72	15	38
Salmonella rissen	28	11	17

ตารางที่ 26 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Chlorhexidine ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	25	31	16
Salmonella cerro	21	32	6
Salmonella choleraesuis	10	8	7
Salmonella derby	6	12	10
Salmonella rissen	13	23	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Benzalkonium chloride

ตารางที่ 27 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	+	+	+	127	103	102
Salmonella cerro	+	+	+	156	182	172
Salmonella choleraesuis	+	+	+	112	98	113
Salmonella derby	+	+	+	174	179	160
Salmonella rissen	+	+	+	115	140	107

ตารางที่ 28 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 25 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	+	+	+	124	100	99
Salmonella cerro	+	+	+	121	153	127
Salmonella choleraesuis	+	+	+	107	96	97
Salmonella derby	+	+	+	133	152	135
Salmonella rissen	+	+	+	71	94	93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 29 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	67	77	96	7	13	15
Salmonella cerro	43	50	48	6	9	18
Salmonella choleraesuis	60	73	65	11	10	16
Salmonella derby	103	95	90	11	17	10
Salmonella rissen	72	68	52	5	14	17

ตารางที่ 30 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 50 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}			10^{-5}		
	1	2	3	1	2	3
Salmonella anatum	62	71	44	14	22	24
Salmonella cerro	30	35	39	30	25	28
Salmonella choleraesuis	46	61	46	14	18	29
Salmonella derby	55	74	78	22	27	19
Salmonella rissen	37	45	47	29	26	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 31 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 1 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	52	67	61
Salmonella cerro	40	39	49
Salmonella choleraesuis	54	47	64
Salmonella derby	43	54	50
Salmonella rissen	75	81	70

ตารางที่ 32 จำนวน *Salmonella* (โคโลนี) ที่เหลือจากการยับยั้งโดย Benzalkonium chloride ที่ความเข้มข้น 100 ppm. ที่เวลา 5 นาที

เจือจาง / สายพันธุ์	10^{-4}		
	1	2	3
Salmonella anatum	19	17	22
Salmonella cerro	3	1	7
Salmonella choleraesuis	11	9	16
Salmonella derby	10	13	11
Salmonella rissen	14	17	10

หมายเหตุ : + = จำนวนเชื้อในจานเพาะเชื้อมีมากกว่า 300 โคโลนี

- = ไม่สามารถนับจำนวนเชื้อในจานเพาะเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

จากผลการทดลอง สามารถนำมาคำนวณทางสถิติได้โดยใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้ Duncan Multiple Range Test (DMRT) ได้ออกมาดังแสดงในตารางโดยที่ให้

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

1. Calcium hypochlorite

ตารางที่ 33 analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Calcium hypochlorite

Source of variation (SV)	Degree of freedom (DF)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F - Value
REP (R)	2	896.07	448.03	2.83 ns
Treatment	29	140341.09	4839.34	30.58 **
Spicies(S)	4	8464.07	2116.02	13.37 **
Time (T)	1	7164.54	7164.54	45.28 **
Conc (C)	2	109104.07	54552.03	344.73 **
SXT	4	851.84	212.96	1.35 ns
SXC	8	7762.60	970.32	6.13 **
TXC	2	6262.29	3131.14	19.79 **
SXTXC	8	731.49	91.44	<1
Error	57	9019.93	158.24	
Total	88	150257.90		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 34. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Calcium hypochlorite

ความเข้มข้น	เวลา		ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น	ความแตกต่าง
	1 นาที	5 นาที		
25 ppm.	98.00 a	57.87 a	77.93	40.13 **
50 ppm.	15.67 b	2.27 b	8.97	13.40 **
100 ppm.	0.00 c	0.00 b	0.00	0.00 ns
ค่าเฉลี่ยของเวลา	37.89	20.04	28.97	17.86

ตารางที่ 35. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นเมื่อใช้ Calcium hypochlorite

สายพันธุ์	ความเข้มข้น			ค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
	25 ppm.	50 ppm.	100 ppm.	
Salmonella anatum	75.33 b	3.33 b	0.00 a	26.22
Salmonella cerro	54.83 c	7.33 b	0.00 a	20.72
Salmonella choleraesuis	69.83 b	4.33 b	0.00 a	24.72
Salmonella derby	119.50 a	24.50 a	0.00 a	48.00
Salmonella rissen	70.17 b	5.33 b	0.00 a	25.17
ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น	77.93	8.97	0.00	28.97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Chlorhexidine

ตารางที่ 36 analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Chlorhexidine

Source of variation (SV)	Degree of freedom (DF)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F - Value
REP (R)	2	473.87	236.93	2.22 ns
Treatment	29	128869.60	4443.78	41.70 **
Spicies(S)	4	2208.16	552.04	5.18 **
Time (T)	1	15946.71	15946.71	149.63 **
Conc (C)	2	98586.67	49293.33	462.53 **
SXT	4	1208.51	302.13	2.83 *
SXC	8	1628.78	203.60	1.91 ns
TXC	2	8594.76	4297.38	40.32 **
SXTXC	8	696.02	87.00	< 1
Error	56	5968.13	106.57	
Total	87	135311.60		

ตารางที่ 37. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Chlorhexidine

ความเข้มข้น	เวลา		ค่าเฉลี่ยของ ความเข้มข้น	ความแตกต่าง
	1 นาที	5 นาที		
25 ppm.	109.13 a	58.33 a	83.73	50.80 **
50 ppm.	63.47 b	37.33 b	50.40	26.13 **
100 ppm.	4.53 c	1.60 c	3.07	2.93 ns
ค่าเฉลี่ยของเวลา	59.04	32.42	45.73	26.58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 38. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และเวลาเมื่อใช้ Chlorhexidine

สายพันธุ์	เวลา		ค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์	ความแตกต่าง
	1 นาที	5 นาที		
Salmonella anatum	63.11 ab	41.11 a	52.11	22.00 **
Salmonella cerro	53.78 bc	30.89 ab	42.33	22.89 **
Salmonella choleraesuis	68.00 a	27.22 b	47.61	40.78 **
Salmonella derby	59.00 abc	38.11 a	48.56	20.89 **
Salmonella rissen	51.33 c	24.78 b	38.06	26.56 **
ค่าเฉลี่ยของเวลา	59.04	32.42	45.73	26.58

3. Benzalkonium chloride

ตารางที่ 39 analysis of variance ของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อโดย Benzalkonium chloride

Source of variation (SV)	Degree of freedom (DF)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F - Value
REP (R)	2	351.80	175.90	< 1
Treatment	29	163978.93	5654.45	26.19 **
Spicies(S)	4	6256.82	1564.21	7.24 **
Time (T)	1	19536.40	19536.40	90.48 **
Conc (C)	2	117530.47	58765.23	272.17 **
SXT	4	1742.16	435.54	2.02 ns
SXC	8	14735.64	1841.96	8.53 **
TXC	2	1984.07	992.03	4.59 *
SXTXC	8	2193.38	274.17	1.27 ns
Error	58	12522.87	215.91	
Total	89	176853.60		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 40. ตารางเปรียบเทียบระหว่างเวลาและความเข้มข้นเมื่อใช้ Benzalkonium chloride

ความเข้มข้น	เวลา		ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น	ความแตกต่าง
	1 นาที	5 นาที		
25 ppm.	134.93 a	108.13 a	121.53	26.80 **
50 ppm.	70.67 b	51.13 b	60.90	19.53 **
100 ppm.	56.40 c	14.33 c	35.37	42.07 **
ค่าเฉลี่ยของเวลา	87.33	57.87	72.60	29.43

ตารางที่ 41. ตารางเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นเมื่อใช้ Benzalkonium chloride

สายพันธุ์	ความเข้มข้น			ค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
	25 ppm.	50 ppm.	100 ppm.	
Salmonella anatum	106.67 b	69.67 ab	39.50 ab	71.94
Salmonella cerro	139.17 a	40.50 c	23.33 b	67.67
Salmonella choleraesuis	102.83 b	58.50 b	39.33 ab	66.89
Salmonella derby	153.83 a	82.50 a	30.33 ab	88.89
Salmonella rissen	105.17 b	53.33 bc	44.33 a	67.61
ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น	121.53	60.90	35.37	72.60

หมายเหตุ : เมื่อใช้ DMRT **เป็นวิธีเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยใดที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกัน จะแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น** 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
1	05	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	246	248	249	250	251	252	253	253	254	254	254
	01	4052	4999	5403	5625	5764	5859	5928	5981	6022	6056	6082	6106	6142	6169	6208	6234	6258	6286	6302	6323	6334	6352	6361	6366
2	05	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.36	19.37	19.38	19.39	19.40	19.41	19.42	19.43	19.44	19.45	19.46	19.47	19.47	19.48	19.49	19.49	19.50	19.50
	01	98.49	99.00	99.17	99.25	99.30	99.33	99.34	99.36	99.38	99.40	99.41	99.42	99.43	99.44	99.45	99.46	99.47	99.48	99.48	99.49	99.49	99.49	99.50	99.50
3	05	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.84	8.81	8.78	8.76	8.74	8.71	8.69	8.66	8.64	8.62	8.60	8.58	8.57	8.56	8.54	8.54	8.53
	01	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.34	27.23	27.13	27.05	26.92	26.83	26.69	26.60	26.50	26.41	26.35	26.27	26.23	26.18	26.14	26.12
4	05	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.93	5.91	5.87	5.84	5.80	5.77	5.74	5.71	5.70	5.68	5.66	5.65	5.64	5.63
	01	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14.80	14.66	14.54	14.45	14.37	14.24	14.15	14.02	13.93	13.83	13.74	13.69	13.61	13.57	13.52	13.48	13.46
5	05	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.78	4.74	4.70	4.68	4.64	4.60	4.56	4.53	4.50	4.46	4.44	4.42	4.40	4.38	4.37	4.36
	01	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.45	10.27	10.15	10.05	9.96	9.89	9.77	9.68	9.55	9.47	9.38	9.29	9.24	9.17	9.13	9.07	9.04	9.02
6	05	5.59	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.96	3.92	3.87	3.84	3.81	3.77	3.75	3.72	3.71	3.69	3.68	3.67
	01	13.74	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98	7.87	7.79	7.72	7.60	7.52	7.39	7.31	7.23	7.14	7.09	7.02	6.99	6.94	6.90	6.88
7	05	5.99	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.63	3.60	3.57	3.52	3.49	3.44	3.41	3.38	3.34	3.32	3.29	3.28	3.25	3.24	3.23
	01	12.25	9.55	8.45	7.85	7.46	7.19	7.00	6.84	6.71	6.62	6.54	6.47	6.35	6.27	6.15	6.07	5.98	5.90	5.85	5.78	5.75	5.70	5.67	5.65
8	05	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.34	3.31	3.28	3.23	3.20	3.15	3.12	3.08	3.05	3.03	3.00	2.98	2.96	2.94	2.93
	01	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.19	6.03	5.91	5.82	5.74	5.67	5.56	5.48	5.36	5.28	5.20	5.11	5.06	5.00	4.96	4.91	4.88	4.86
9	05	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.13	3.10	3.07	3.02	2.98	2.93	2.90	2.86	2.82	2.80	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71
	01	10.56	8.02	6.99	6.42	6.06	5.80	5.62	5.47	5.35	5.26	5.18	5.11	5.00	4.92	4.80	4.73	4.64	4.56	4.51	4.45	4.41	4.36	4.33	4.31

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
10	05	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.97	2.94	2.91	2.86	2.82	2.77	2.74	2.70	2.67	2.64	2.61	2.59	2.56	2.55	2.54
	01	10.04	7.56	6.55	5.99	5.64	5.39	5.21	5.06	4.95	4.85	4.78	4.71	4.60	4.52	4.41	4.33	4.25	4.17	4.12	4.05	4.01	3.96	3.93	3.91
11	05	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.86	2.82	2.79	2.74	2.70	2.65	2.61	2.57	2.53	2.50	2.47	2.45	2.42	2.41	2.40
	01	9.65	7.20	6.22	5.67	5.32	5.07	4.88	4.74	4.63	4.54	4.46	4.40	4.29	4.21	4.10	4.02	3.94	3.86	3.80	3.74	3.70	3.66	3.62	3.60
12	05	4.75	3.88	3.49	3.26	3.11	3.00	2.92	2.85	2.80	2.76	2.72	2.69	2.64	2.60	2.54	2.50	2.46	2.42	2.40	2.36	2.35	2.32	2.31	2.30
	01	9.33	6.93	5.95	5.41	5.06	4.82	4.65	4.50	4.39	4.30	4.22	4.16	4.05	3.98	3.86	3.78	3.70	3.61	3.56	3.49	3.46	3.41	3.38	3.36
13	05	4.67	3.80	3.41	3.18	3.02	2.92	2.84	2.77	2.72	2.67	2.63	2.60	2.55	2.51	2.46	2.42	2.38	2.34	2.32	2.28	2.26	2.24	2.22	2.21
	01	9.07	6.70	5.74	5.20	4.86	4.62	4.44	4.30	4.19	4.10	4.02	3.96	3.85	3.78	3.67	3.59	3.51	3.42	3.37	3.30	3.27	3.21	3.18	3.16
14	05	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.77	2.70	2.65	2.60	2.56	2.53	2.48	2.44	2.39	2.35	2.31	2.27	2.24	2.21	2.19	2.16	2.14	2.13
	01	8.86	6.51	5.56	5.03	4.69	4.46	4.28	4.14	4.03	3.94	3.86	3.80	3.70	3.62	3.51	3.43	3.34	3.26	3.21	3.14	3.11	3.06	3.02	3.00
15	05	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.70	2.64	2.59	2.55	2.51	2.48	2.43	2.39	2.33	2.29	2.25	2.21	2.18	2.15	2.12	2.10	2.08	2.07
	01	8.68	6.36	5.42	4.89	4.56	4.32	4.14	4.00	3.89	3.80	3.73	3.67	3.56	3.48	3.36	3.29	3.20	3.12	3.07	3.00	2.97	2.92	2.89	2.87
16	05	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.45	2.42	2.37	2.33	2.28	2.24	2.20	2.16	2.13	2.09	2.07	2.04	2.02	2.01
	01	8.53	6.23	5.29	4.77	4.44	4.20	4.03	3.89	3.78	3.69	3.61	3.55	3.45	3.37	3.25	3.18	3.10	3.01	2.96	2.89	2.86	2.80	2.77	2.75
17	05	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.62	2.55	2.50	2.45	2.41	2.38	2.33	2.29	2.23	2.19	2.15	2.11	2.08	2.04	2.02	1.99	1.97	1.96
	01	8.40	6.11	5.18	4.67	4.34	4.10	3.93	3.79	3.68	3.59	3.52	3.45	3.35	3.27	3.16	3.08	3.00	2.92	2.86	2.79	2.76	2.70	2.67	2.65
18	05	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.29	2.25	2.19	2.15	2.11	2.07	2.04	2.00	1.98	1.95	1.93	1.92
	01	8.28	6.01	5.09	4.58	4.25	4.01	3.85	3.71	3.60	3.51	3.44	3.37	3.27	3.19	3.07	3.00	2.91	2.83	2.78	2.71	2.68	2.62	2.59	2.57
19	05	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.55	2.48	2.43	2.38	2.34	2.31	2.26	2.21	2.15	2.11	2.07	2.02	2.00	1.96	1.94	1.91	1.90	1.88
	01	8.18	5.93	5.01	4.50	4.17	3.94	3.77	3.63	3.52	3.43	3.36	3.30	3.19	3.12	3.00	2.92	2.84	2.76	2.70	2.63	2.60	2.54	2.51	2.49

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
20	.05	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.52	2.45	2.40	2.35	2.31	2.28	2.23	2.18	2.12	2.08	2.04	1.99	1.96	1.92	1.90	1.87	1.85	1.84
	.01	8.10	5.85	4.94	4.43	4.10	3.87	3.71	3.56	3.45	3.37	3.30	3.23	3.13	3.05	2.94	2.86	2.77	2.69	2.63	2.56	2.53	2.47	2.44	2.42
21	.05	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.20	2.15	2.09	2.05	2.00	1.96	1.93	1.89	1.87	1.84	1.82	1.81
	.01	8.02	5.78	4.87	4.37	4.04	3.81	3.65	3.51	3.40	3.31	3.24	3.17	3.07	2.99	2.88	2.80	2.72	2.63	2.58	2.51	2.47	2.42	2.38	2.36
22	.05	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.47	2.40	2.35	2.30	2.26	2.23	2.18	2.13	2.07	2.03	1.98	1.93	1.91	1.87	1.84	1.81	1.80	1.78
	.01	7.94	5.72	4.82	4.31	3.99	3.76	3.59	3.45	3.35	3.26	3.18	3.12	3.02	2.94	2.83	2.75	2.67	2.58	2.53	2.46	2.42	2.37	2.33	2.31
23	.05	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.45	2.38	2.32	2.28	2.24	2.20	2.14	2.10	2.04	2.00	1.96	1.91	1.88	1.84	1.82	1.79	1.77	1.76
	.01	7.88	5.66	4.76	4.26	3.94	3.71	3.54	3.41	3.30	3.21	3.14	3.07	2.97	2.89	2.78	2.70	2.62	2.53	2.48	2.41	2.37	2.32	2.28	2.26
24	.05	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.43	2.36	2.30	2.26	2.22	2.18	2.13	2.09	2.02	1.98	1.94	1.89	1.86	1.82	1.80	1.76	1.74	1.73
	.01	7.82	5.61	4.72	4.22	3.90	3.67	3.50	3.36	3.25	3.17	3.09	3.03	2.93	2.85	2.74	2.66	2.58	2.49	2.44	2.36	2.33	2.27	2.23	2.21
25	.05	4.24	3.38	2.99	2.76	2.60	2.49	2.41	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.11	2.06	2.00	1.96	1.92	1.87	1.84	1.80	1.77	1.74	1.72	1.71
	01	7.77	5.57	4.68	4.18	3.86	3.63	3.46	3.32	3.21	3.13	3.05	2.99	2.89	2.81	2.70	2.62	2.54	2.45	2.40	2.32	2.29	2.23	2.19	2.17
26	.05	4.22	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.10	2.05	1.99	1.95	1.90	1.85	1.82	1.78	1.76	1.72	1.70	1.69
	.01	7.72	5.53	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.17	3.09	3.02	2.96	2.86	2.77	2.66	2.58	2.50	2.41	2.36	2.28	2.25	2.19	2.15	2.13
27	.05	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.30	2.25	2.20	2.16	2.13	2.08	2.03	1.97	1.93	1.88	1.84	1.80	1.76	1.74	1.71	1.68	1.67
	.01	7.68	5.49	4.60	4.11	3.79	3.56	3.39	3.26	3.14	3.06	2.98	2.93	2.83	2.74	2.63	2.55	2.47	2.38	2.33	2.25	2.21	2.16	2.12	2.10
28	.05	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.44	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.06	2.02	1.96	1.91	1.87	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69	1.67	1.65
	.01	7.64	5.45	4.57	4.07	3.76	3.53	3.36	3.23	3.11	3.03	2.95	2.90	2.80	2.71	2.60	2.52	2.44	2.35	2.30	2.22	2.18	2.13	2.09	2.06
29	.05	4.18	3.33	2.93	2.70	2.54	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.05	2.00	1.94	1.90	1.85	1.80	1.77	1.73	1.71	1.68	1.65	1.64
	.01	7.60	5.42	4.54	4.04	3.73	3.50	3.33	3.20	3.03	3.00	2.92	2.87	2.77	2.68	2.57	2.49	2.41	2.32	2.27	2.19	2.15	2.10	2.06	2.03

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
30	.05	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.34	2.27	2.21	2.16	2.12	2.09	2.04	1.99	1.93	1.89	1.84	1.79	1.76	1.72	1.69	1.66	1.64	1.62
	.01	7.56	5.39	4.51	4.02	3.70	3.47	3.30	3.17	3.06	2.98	2.90	2.84	2.74	2.66	2.55	2.47	2.38	2.29	2.24	2.16	2.13	2.07	2.03	2.01
32	.05	4.15	3.30	2.90	2.67	2.51	2.40	2.32	2.25	2.19	2.14	2.10	2.07	2.02	1.97	1.91	1.86	1.82	1.76	1.74	1.69	1.67	1.64	1.61	1.59
	01	7.50	5.34	4.46	3.97	3.66	3.42	3.25	3.12	3.01	2.94	2.86	2.80	2.70	2.62	2.51	2.42	2.34	2.25	2.20	2.12	2.08	2.02	1.98	1.96
34	05	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.30	2.23	2.17	2.12	2.08	2.05	2.00	1.95	1.89	1.84	1.80	1.74	1.71	1.67	1.64	1.61	1.59	1.57
	01	7.44	5.29	4.42	3.93	3.61	3.38	3.21	3.08	2.97	2.89	2.82	2.76	2.66	2.58	2.47	2.38	2.30	2.21	2.15	2.08	2.04	1.98	1.94	1.91
36	.05	4.11	3.26	2.86	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15	2.10	2.06	2.03	1.98	1.93	1.87	1.82	1.78	1.72	1.69	1.65	1.62	1.59	1.56	1.55
	01	7.39	5.25	4.38	3.89	3.58	3.35	3.18	3.04	2.94	2.86	2.78	2.72	2.62	2.54	2.43	2.35	2.26	2.17	2.12	2.04	2.00	1.94	1.90	1.87
38	05	4.10	3.25	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14	2.09	2.05	2.02	1.96	1.92	1.85	1.80	1.76	1.71	1.67	1.63	1.60	1.57	1.54	1.53
	.01	7.35	5.21	4.34	3.86	3.54	3.32	3.15	3.02	2.91	2.82	2.75	2.69	2.59	2.51	2.40	2.32	2.22	2.14	2.08	2.00	1.97	1.90	1.86	1.84
40	.05	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.07	2.04	2.00	1.95	1.90	1.84	1.79	1.74	1.69	1.66	1.61	1.59	1.55	1.53	1.51
	.01	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.88	2.80	2.73	2.66	2.56	2.49	2.37	2.29	2.20	2.11	2.05	1.97	1.94	1.88	1.84	1.81
42	.05	4.07	3.22	2.83	2.59	2.44	2.32	2.24	2.17	2.11	2.06	2.02	1.99	1.94	1.89	1.82	1.78	1.73	1.68	1.64	1.60	1.57	1.54	1.51	1.49
	.01	7.27	5.15	4.29	3.80	3.49	3.26	3.10	2.96	2.86	2.77	2.70	2.64	2.54	2.46	2.35	2.26	2.17	2.08	2.02	1.94	1.91	1.85	1.80	1.78
44	.05	4.06	3.21	2.82	2.58	2.43	2.31	2.23	2.16	2.10	2.05	2.01	1.98	1.92	1.88	1.81	1.76	1.72	1.66	1.63	1.58	1.56	1.52	1.50	1.48
	.01	7.24	5.12	4.26	3.78	3.46	3.24	3.07	2.94	2.84	2.75	2.68	2.62	2.52	2.44	2.32	2.24	2.15	2.06	2.00	1.92	1.88	1.82	1.78	1.75
46	.05	4.05	3.20	2.81	2.57	2.42	2.30	2.22	2.14	2.09	2.04	2.00	1.97	1.91	1.87	1.80	1.75	1.71	1.65	1.62	1.57	1.54	1.51	1.48	1.46
	.01	7.21	5.10	4.24	3.76	3.44	3.22	3.05	2.92	2.82	2.73	2.66	2.60	2.50	2.42	2.30	2.22	2.13	2.04	1.98	1.90	1.86	1.80	1.76	1.72
48	.05	4.04	3.19	2.80	2.56	2.41	2.30	2.21	2.14	2.08	2.03	1.99	1.96	1.90	1.86	1.79	1.74	1.70	1.64	1.61	1.56	1.53	1.50	1.47	1.45
	.01	7.19	5.08	4.22	3.74	3.42	3.20	3.04	2.90	2.80	2.71	2.64	2.58	2.48	2.40	2.28	2.20	2.11	2.02	1.96	1.88	1.84	1.78	1.73	1.70
50	.05	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.02	1.98	1.95	1.90	1.85	1.78	1.74	1.69	1.63	1.60	1.55	1.52	1.48	1.46	1.44
	.01	7.17	5.06	4.20	3.72	3.41	3.18	3.02	2.88	2.78	2.70	2.62	2.56	2.46	2.39	2.26	2.18	2.10	2.00	1.94	1.86	1.82	1.76	1.71	1.68

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

d.f. ตัวหาร		d.f. ตัวตั้ง																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
55	.05	4.02	3.17	2.78	2.54	2.38	2.27	2.18	2.11	2.05	2.00	1.97	1.93	1.88	1.83	1.76	1.72	1.67	1.61	1.58	1.52	1.50	1.46	1.43	1.41
	.01	7.12	5.01	4.16	3.68	3.37	3.15	2.98	2.85	2.75	2.66	2.59	2.53	2.43	2.35	2.23	2.15	2.06	1.96	1.90	1.82	1.78	1.71	1.66	1.64
60	.05	4.00	3.15	2.76	2.52	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.95	1.92	1.86	1.81	1.75	1.70	1.65	1.59	1.56	1.50	1.48	1.44	1.41	1.39
	.01	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72	2.63	2.56	2.50	2.40	2.32	2.20	2.12	2.02	1.93	1.87	1.79	1.74	1.68	1.63	1.60
65	.05	3.99	3.14	2.75	2.51	2.36	2.24	2.15	2.08	2.02	1.98	1.94	1.90	1.85	1.80	1.73	1.68	1.63	1.57	1.54	1.49	1.46	1.42	1.39	1.37
	.01	7.04	4.95	4.10	3.62	3.31	3.09	2.93	2.79	2.70	2.61	2.54	2.47	2.37	2.30	2.18	2.09	2.00	1.90	1.84	1.76	1.71	1.64	1.60	1.56
70	.05	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.01	1.97	1.93	1.89	1.84	1.79	1.72	1.67	1.62	1.56	1.53	1.47	1.45	1.40	1.37	1.35
	.01	7.01	4.92	4.08	3.60	3.29	3.07	2.91	2.77	2.67	2.59	2.51	2.45	2.35	2.28	2.15	2.07	1.98	1.88	1.82	1.74	1.69	1.62	1.56	1.53
80	.05	3.96	3.11	2.72	2.48	2.33	2.21	2.12	2.05	1.99	1.95	1.91	1.88	1.82	1.77	1.70	1.65	1.60	1.54	1.51	1.45	1.42	1.38	1.35	1.32
	.01	6.96	4.88	4.04	3.56	3.25	3.04	2.87	2.74	2.64	2.55	2.48	2.41	2.32	2.24	2.11	2.03	1.94	1.84	1.78	1.70	1.65	1.57	1.52	1.49
100	.05	3.94	3.09	2.70	2.46	2.30	2.19	2.10	2.03	1.97	1.92	1.88	1.85	1.79	1.75	1.68	1.63	1.57	1.51	1.48	1.42	1.39	1.34	1.30	1.28
	.01	6.90	4.82	3.98	3.51	3.20	2.99	2.82	2.69	2.59	2.51	2.43	2.36	2.26	2.19	2.06	1.98	1.89	1.79	1.73	1.64	1.59	1.51	1.46	1.43
125	.05	3.92	3.07	2.68	2.44	2.20	2.17	2.08	2.01	1.95	1.90	1.86	1.83	1.77	1.72	1.65	1.60	1.55	1.49	1.45	1.39	1.36	1.31	1.27	1.25
	.01	6.84	4.78	3.94	3.47	3.17	2.95	2.79	2.65	2.56	2.47	2.40	2.33	2.23	2.15	2.03	1.94	1.85	1.75	1.68	1.59	1.54	1.46	1.40	1.37
150	.05	3.91	3.06	2.67	2.43	2.27	2.16	2.07	2.00	1.94	1.89	1.85	1.82	1.76	1.71	1.64	1.59	1.54	1.47	1.44	1.37	1.34	1.29	1.25	1.22
	.01	6.81	4.75	3.91	3.44	3.14	2.92	2.76	2.62	2.53	2.44	2.37	2.30	2.20	2.12	2.00	1.91	1.83	1.72	1.66	1.56	1.51	1.43	1.37	1.33
200	.05	3.89	3.04	2.65	2.41	2.26	2.14	2.05	1.98	1.92	1.87	1.83	1.80	1.74	1.69	1.62	1.57	1.52	1.45	1.42	1.35	1.32	1.26	1.22	1.19
	.01	6.76	4.71	3.88	3.41	3.11	2.90	2.73	2.60	2.50	2.41	2.34	2.28	2.17	2.09	1.97	1.88	1.79	1.69	1.62	1.53	1.48	1.39	1.33	1.28
400	.05	3.86	3.02	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.90	1.85	1.81	1.78	1.72	1.67	1.60	1.54	1.49	1.42	1.38	1.32	1.28	1.22	1.16	1.13
	.01	6.70	4.66	3.83	3.36	3.06	2.85	2.69	2.55	2.46	2.37	2.29	2.23	2.12	2.04	1.92	1.84	1.74	1.64	1.57	1.47	1.42	1.32	1.24	1.19
1000	.05	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.10	2.02	1.95	1.89	1.84	1.80	1.76	1.70	1.65	1.58	1.53	1.47	1.41	1.36	1.30	1.26	1.19	1.13	1.08
	.01	6.66	4.62	3.80	3.34	3.04	2.82	2.66	2.53	2.43	2.34	2.26	2.20	2.09	2.01	1.89	1.81	1.71	1.61	1.54	1.44	1.38	1.28	1.19	1.11
∞	.05	3.84	2.99	2.60	2.37	2.21	2.09	2.01	1.94	1.88	1.83	1.79	1.75	1.69	1.64	1.57	1.52	1.46	1.40	1.35	1.28	1.24	1.17	1.11	1.00
	.01	6.64	4.60	3.78	3.32	3.02	2.80	2.64	2.51	2.41	2.32	2.24	2.18	2.07	1.99	1.87	1.79	1.69	1.59	1.52	1.41	1.36	1.25	1.15	1.00

เอกสารอ้างอิง

นิตยา ภูไพรัชพงษ์. "ยาฆ่าเชื้อ ยาทำให้ปราศจากเชื้อ" เภสัชวิทยา pp. 566-579, 2539

มาลิน จุลศิริ. "การทำให้ปลอดเชื้อ การกำจัดเชื้อและการกันเสีย"เภสัชจุลชีววิทยา pp. 276,2531

ศิวาพร ศิวเวชช. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร pp. 94-95 , 249-293., 2536

อรุณี สาระยา "ยาต้านจุลชีพ" เภสัชจุลชีววิทยาpp. 295, 2531

Amy, B.R. and Amy, C.L. Wong. " Biofilm Development and Sanitizer Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on Stainless Steel and Buna - n Rubber." J. Food Prot. 56 (1993) : 750-758.

Andrewes, F.W., and Orton, K.S.P. " Disinfectant action of hypochlorous acid." Zentrabl. Bakteriol. (Orig. A) 35 (1904) : 645-651, 811- 815

Asbury, E.D. Disinfection, sterilization and Preservation., 3rd ed., 1983

Baker, R.J. "Chlorine in sewage and waste disposal." Can. Engr., Wtr. Sew. 50 (1926) : 127-128

Baker, R.J. "Types and significance of chlorine residuals." J. Am. Water Works Assoc. 51 (1959) : 1185-1190

Berg, G., Sanjaghsaz, H., and Wangwongwatana, S. "Potentiation of the virucidal effectiveness of free chlorine by substances in drinking water." Appl. Environ.Microbiol. 55(2) (1989) : 390-393

Bernarde, M.A., Israel, B.M., Olivieri, V.P., and Granstram, M.L. "Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide." Appl. Microbiol. 13 (1965) : 776.

Bernarde, M.A., Snow, W.B., and Olivieri, V.P., "Chlorine dioxide disinfection temperature effects." J. Appl. Bacteriol. 30 (1967a) : 159

Bernarde, M.A., Snow, W.B., and Olivieri, V.P., and Davidson, B. "Kinetics and mechnism of vacterial disinfection by chlorine dioxide." Appl. Microbiol. 15 (1967b) : 257

Bowmer, E.J. "The challenge of salmonellosis : major public health problem." Am. J. Med. Sci. 247 (1964) : 467-501.

Bowmer, E.J. "Salmonellae in food. A review." J. Milk Food Technol. 28 (1965) : 74-86.

Boyd, R.F. General Microbiology pp. 118, 1988

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buchanan, R.E., N.E. Gibbsons, S.T. Cowan, J.G. Holt, J. Liston, R.G.E. Murray, C.F. Niven, A.W. Ravin, andR.Y. Stanler. Bergey's Manual of Determinative Bacteriolgy, 8th. Ed., The Williams and Wilkins Company, 1974

Cellaham,S.W. "Effect of bacterial endotoxin on carbohydrate metabolism of animals." J. Bacteriology. 77 (1959) : 811.

Chang, S.L., "Destruction of micro-organisms." J. Am. Water Works Assoc. 36 (1994) : 1192-1206.

Chang, S.L., and Berg, G. "Chlormelamine and iodized chlormelamine germicidal rinse formulations." U.S. Armed Forces Med., J. 10 (1959) : 33-49.

Chang, S.L., Berg, G., Clarke, N.A., and Kabler, P.W. "Survival and protection against chlorination of human enteric pathogens in free-living nematodes isolated from water supplies."Am. J. Trop. Med. Hyg. 9 (1960) : 136-142

Chung, K..C., and I.M. Geopfert. "Growth of samonellae at low pH." J. Fd. Sci. 35 (1970) : 326.

Dakin, H.D., and Cohen, J.B. "On chloramine antiseptics." Br. Med. J. 1 (1916) : 160-162

Dakin, H.D., and Dunham, E.K. "The disinfection of drinking water." Br. Med. J. 1 (1917) : 682-684

Douglas, L., Paric, Sam,M., Rua,J.R., and Rpbert, F.A. "Direct Application at a New Hypochlorite Sanitizer for Reducing Bacterial Contamination on food." J. Food Prot. 54 (1991) : 960- 965

Dychdala, G.R. "Calcium hypochlorite product and process for producing same." U.S. Patent 3 (1970) : 544,267

Dychdala, G.R. "Studies on bactericidal effectiveness of calcium hypochlorite stabilizers for 1 swimming pool use." Pennwalt Corp., unpublished., 1960

Fair, G.M., et al. "The behavior of chlorine as a water disinfectant." J.Am. Water Works Assoc. 40 (1948) : 1051-1061.

Foster, F.M. "The problem of Salmonellae in food." Food Technol. 23 (1969) : 1178-1179.

Friberg, L. Further quantitative studies on the reaction of chlorine with bacteria in water disinfection. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 40 (1957) : 67-80.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Friberg, L.,"Quantitative studies on the reaction of chlorine with bacteria in water disinfection": Acta Pathol. Microbiol. Scand.38 (1956) : 135-144

Friberg,L., and Hammerstrom, E. "The action of free available chlorine on bacterial viruses." Acta Pathol. Microbiol. Scand. 38 (1956) : 127-134

Galton,M.M., and G.H. Steele. "Laboratory and epidemiological aspects of food borne disease." J.Milk and Food Technol. 24 (1961) : 104-114.

Green, D.E., and Stumpf, P.K. "The mode of action of chlorine." J. Am. Water Works Assoc. 38 (1946) : 1301-1305.

Grunnet K., and B.B. Nielson. "Salmonella types isolated from the gulf of Aarhus compared with from infected human being, animals and feed products in Denmark." App. Microbiol. 18 (1969) : 985-990.

Haas, C. N., and Engelbrecht, R. S. "Physiological alterations of vegetative microorganisms resulting from chlorination." J. Water Pollut. Control Fed. 52 (1980) : 1976.

Hadfield, W.A. "Chlorine and chlorine compounds." Antiseptics, Disinfectants. Fungicides, Chemical and Physical Sterilization.2nd ed.,pp. 558-580, Philadelphia, Lea & Febiger, 1957.

John, A.T. Sanitation in Food Processing. 2nd ed.,1993.

Kauffmann, F. The Bacteriology of Enterobacteriaceae. Baltimore: The Williams and Wilkins Company,1966

Knox, W.E., Stumpf, P.K., Green, D.E., and Auerbach, V.H. "The inhibition of sulfhydryl enzymes as the basis of the bactericidal action of chlorine." J. Bacteriol., 55 (1948) : 451-458

Kelly A. steven, Brain W. sheldon, N.Arlee Klapes and Todd. R.Klaen hammer, "Nisin Treatment for Inactivation of *Salmonella* Species and Other Gram-negative Bacteria" Appplied and Environmental Microbiology. 57 (12) (1991) : 3613-3615.

Lee, J.A. "Recent trends inhuman salmonellosis in England and Wales: the epidemiology of prevalent serotypes other *Samonella typhimurium.*" J. Hyg. 72(2) (1974) : 185-195.

Mellor, J.W. Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry. pp.20, New York, Longmans Green & Co., 1927.

Morris, J.C. Future of chlorination. J. Am. Water Works Assoc. 58 (1966) : 1475-1482.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nowell, K.W. "The investigation and control of salmonellosis." Bull. WHO. 21 (1959) : 279-297

Petrocci, A.N. Disinfection, Sterilization and Preservation. 3rd edition. (1983)

Prost, E., and H. Riemann. "Food-borne salmonellosis." Annu. Rev. Microbiol. 21 (1967) : 495-528.

Rosenkranz, H.S. "Sodium hypochlorite and sodium perborate: Preferential inhibitors of DNA polymerase deficient bacteria." Mutat. Res. 21 (1973) : 171

Rudolph, A.S., and Levine, M. "Factors affecting the germicidal efficiency of hypochlorite solutions." Bull. (1941) : 150

Said, S.S. and Catherine, W.D. "Destruction, Injury and Repair of *Listeria* Species Exposed to Sanitizing Compounds." J. Food Prot. 55 (1992) : 771-776

Sykes, G. Disinfection and Sterilization. 2nd edition. (1972)

Taylor, J., and J.H. Mc Coy. "Food-Borne Infections and Intoxications." H. Riemann, Editor, New York and London : Academic Press (1969)

Tonney, F.O., Greer, F.E., and Danforth, T.F. "The minimal chlorine death points of bacteria." Am. J. Public Health. 18 (1928) : 1259-1263.

Tonney, F.O.,Greer, F.E., and Liebig, G.F., Jr., "The minimal chlorine death points of bacterial. II. Vegetative forms. III. Sporebearing organisms." Am. J. Public HealtH, 20 (1930) : 503-508.

Trueman, J.R. "The halogens. In Inhibition and Destruction of the Microbial Cell." edited by W.B. Hugo, Academic, New York, (1971) : 137-183.

Wyatt, L.R., and Waites, W.M. "The effects of chlorine on spores of *Clostridium bifermentans*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus.*" J.Gen. Microbiol. 89 (1975) : 337.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้