



ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเซรีซินที่สกัดจากรังไหมแล้วฉายรังสี
STUDY ON ANTI-BACTERIAL ACTIVITY OF IRRADITED SERICIN
EXTRACTED FROM SILK COCOON

โดย

นาย ไพโรบลย์ ดำรงค์ชัย

ปีการศึกษา 2545

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเซริซินที่สกัดจากรังไหมแล้วฉายรังสี
STUDY ON ANTI-BACTERIAL ACTIVITY OF IRRADITED SERICIN
EXTRACTED FROM SILK COCOON



โดย

นาย ไพโรบลย์ คำรงค์ชัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ว/พ.

พ9837

2545

ปีการศึกษา 2545

เลขหน.

เลขทะเบียน 49832

ฉบับ, เดือน, ปี 1 ส.ค. 2547

Form with fields .b..... and .i.....

0 11.32.11684

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

ปีการศึกษา 2545

ชื่อเรื่อง การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเซริซินที่สกัดจากรังไหม แล้วฉายรังสี

Study on Anti-bacterial Activity of Irradited Sericin Extracted from Silk Cocoon

ชื่อ – สกุล

นายไพโรบลย์ คำรงค์ชัย

สาขาวิชา

อุตสาหกรรมเกษตร

ภาควิชา วิศวกรรมเกษตร

คณะ

ครุศาสตร์อุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.จินตนา บุณนาค

อาจารย์ที่ปรึกษา (ร่วม) อาจารย์ สุชาดา พงษ์พัฒน์

บทคัดย่อ

ได้ทำการสกัดเซริซิน (sericin) จากรังไหมพันธุ์พื้นเมือง เพื่อที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ เซริซินที่สกัดได้ภายหลังการทำให้แห้งแล้ว จะมีสีเหลือง ลักษณะเป็นเกล็ด บางๆ สามารถละลายน้ำได้บางส่วน และได้นำไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำสารละลายเซริซิน 5% ผสมกับสารละลาย 2 ชนิด คือ สารละลาย polyvinyl alcohol (PVA) (9.9%) และสารละลาย carboxy methyl cellulose (CMC) (5%) แล้วฉายรังสีด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0, 20 และ 40 กิโลเกรย์ แล้วทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* โดยใส่ 1 มิลลิลิตร ของจุลินทรีย์ดังกล่าว ในขวดอาหารวุ้น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เชื้อกระจายเกลงานเพาะเชื้อปริมาณ 20 - 25 มิลลิลิตร รองอาหารแข็ง นำแผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จุ่มสารละลาย PVA และสารละลาย CMC ที่ผสมและไม่ผสมสารละลายเซริซิน ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ กัน ทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อโดยวัดบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ทดสอบ ผลพบว่า สารละลาย PVA ที่ผสม สารละลายเซริซิน และสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเซริซิน ที่ไม่ได้ฉายรังสี มีแนวโน้มที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล่าวคือ ความกว้างบริเวณใสจากเชื้อ *E.coli*, *S.aureus* และ *B.subtilis* ของสารละลาย PVA ที่ผสมสารละลายเชริชิน ที่ไม่ได้ฉายรังสี เท่ากับ 0.17, 1 และ 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ความกว้างบริเวณใสจากเชื้อ *E.coli*, *S.aureus* และ *B.subtilis* ของสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเชริชิน ที่ไม่ได้ฉายรังสี เท่ากับ 1.5, 1 และ 1.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ส่วนสารละลาย PVA และสารละลาย CMC ที่ไม่ผสมและที่ผสมกับสารละลายเชริชินที่ผ่านการฉายรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ ไม่พบบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบแต่อย่างใด นั่นแสดงว่าไม่มีฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.จินตนา บุนนาค อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำวิธีการแก้ไขปัญหารวมทั้งข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษ ขอขอบพระคุณ อาจารย์สุชาดา พงษ์พัฒนา ที่กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการสกัดเซรีซินและการฉายรังสีผงไหม

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.กันยา ตันตวิสุทธิกุล และ อาจารย์ ปนิตา ประวิตรวงศ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับ เนื้อหาและเอกสารที่เกี่ยวข้อง และแนะนำเกี่ยวกับผลการทดลอง นอกจากนี้ยังได้รับความอำนวยความสะดวกจากอาจารย์ จันทรพร เจ้าทรัพย์ ที่ได้กรุณาให้ใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ รวมถึงเจ้าหน้าที่ภาควิชาครุศาสตร์เกษตรและเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีเสมอมา

ความดีของปัญหาพิเศษฉบับนี้ ขอมอบให้กับบิดา มารดา พี่ ๆ อาจารย์ทุกท่าน ที่ให้กำลังใจและร่วมแก้ไขปัญหา ตลอดจนผู้ที่มีความเกี่ยวข้องทุกท่านที่กรุณาให้ความสนับสนุนทั้งทางด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์จนทำให้ปัญหาพิเศษครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ไพโรบลย์ คำรงค์ชัย
ตุลาคม 2545

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษ.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตของปัญหา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
2 การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ไหม.....	3
2.1.1 ประวัติ.....	3
2.1.2 ลักษณะโดยทั่วไป.....	3
2.1.3 พันธุ์ไหม.....	4
2.1.4 ชีวิตจักรของไหม.....	4
2.1.5 เส้นใยไหม.....	5
2.1.6 โพรตีนไหม.....	8
2.1.7 กระบวนการผลิตเส้นไหม.....	10
2.1.8 สมบัติทางกายภาพของเส้นไหม.....	11
2.1.9 สมบัติทางเคมีของเส้นไหม.....	12
2.2 การฉายรังสี.....	13
2.3 จุลินทรีย์.....	15
2.3.1 แบคทีเรีย (bacteria).....	15
2.3.2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (microbial cultivation).....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.3 การทำให้ปลอดเชื้อและฆ่าเชื้อ (sterilization and disinfection).....	20
2.3.4 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ (mode of action of antimicrobial agents).....	24
2.3.5 ขอบข่ายการต่อต้านจุลินทรีย์ (spectrum of activity).....	26
2.3.6 สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agents).....	26
2.3.7 ตัวแปรที่มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์.....	26
2.3.8 วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์.....	27
2.4 โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol).....	29
2.5 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxy methyl cellulose).....	30
2.6 ไฮโดรเจล (hydrogel).....	31
3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	32
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	32
3.2 วิธีการ.....	33
3.3 สถานที่ทำการวิจัย.....	37
3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย.....	37
4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	38
5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	47
บรรณานุกรม.....	49
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก.....	52
ภาคผนวก ข.....	54

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	ซีพจักรของไหม..... 5
2	การเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลด้วย amide (peptide) link..... 5
3	ต่อมสร้างเส้นไหม (silk gland)..... 7
4	การกรองน้ำดื่มไหมผ่านเครื่องกรองแบบสูญญากาศ..... 34
5	การผลิตเซริซินให้แห้งและเป็นผงโดยใช้เครื่อง freeze dryer..... 34
6	ลักษณะทั่วไปของโปรตีนไหมเซริซิน (sericin) ที่สกัดจากรังไหม..... 39
7	บริเวณโปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ <i>E. coli</i> 42
8	บริเวณโปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ <i>S.aureus</i> 43
9	บริเวณโปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ <i>B.subtilis</i> 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

ไหมเป็นสัตว์จัดอยู่ใน Phylum Arthropoda มีการเจริญเติบโตเป็นแบบ complete metamorphosis คือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละขั้นตอนของการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างชัดเจน ในช่วงระยะเป็นตัวหนอนจะกินใบหม่อนเป็นอาหาร ตัวหนอนในระยะสุดท้ายจะฟั่นใยทำรังห่อหุ้มตัว ซึ่งเส้นใยไหมนั้นสามารถที่จะนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น การนำมาทอเป็นผ้าไหม การนำมาเป็นเครื่องนุ่งห่ม และนำมาเป็นเครื่องประดับ (กรมวิชาการเกษตร, 2523:61) ในการผลิตหรือนำไหมมาใช้ประโยชน์ในแต่ละครั้งมีเศษวัสดุเหลือทิ้งที่ได้จากไหมจำนวนมาก ซึ่งจะทำให้เกิดการสูญเสียโดยไม่เกิดประโยชน์ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ แต่ถ้าสามารถนำสิ่งเหลือทิ้งโดยเฉพาะโปรตีนจากไหม ซึ่งได้แก่ ไฟโบรอิน (fibroin) และ เซรีซิน (sericin) มาทำเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ที่ให้ประโยชน์กับมนุษย์ได้กว้างขวางมากยิ่งขึ้นรวมทั้งเป็นการลดปัญหาสิ่งแวดล้อม และยังเป็น การเพิ่มมูลค่าของไหมไทยให้มากขึ้นด้วย

ปัจจุบันมีการนำเอาโปรตีนจากไหมไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น ทางด้านการแพทย์ นำมาทำเลนส์สัมผัส (contact lenses) วัสดุตกแต่งบาดแผลจากไฟไหม้ (burn wound dressing) ตลอดจนเคลือบวัสดุที่ต้องนำมาใช้สัมผัสร่างกายเช่น เคลือบอวัยวะภายในร่างกาย ซึ่งได้รับความสนใจมากในทางด้านวงการแพทย์ อีกทั้งยังนำไปผลิตเป็นเครื่องสำอางและส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งยังมีงานวิจัยอีกหลายคนพบว่าโปรตีนไหมชนิดไฟโบรอิน ยังสามารถมีฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ด้วย

ดังนั้น ในการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไหม โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่นำไปใช้ทางด้านการแพทย์จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงคุณสมบัติทางเคมี หรือทางชีววิทยาโดยการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเป็นการลดการใช้ยาและสารเคมีในการที่จะนำผงไหมฉายรังสีไปผลิตเป็นวัสดุทางด้านแพทย์ การทำปัญหาพิเศษนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ เซรีซินที่สกัดจากรังไหม แล้วฉายรังสี

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.เพื่อทราบขั้นตอนและวิธีการสกัดเซริซินจากรังไหม
- 2.เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเซริซินที่สกัดจากรังไหมแล้วฉายรังสี

1.3 ขอบเขตของปัญหา

การสกัดเซริซินจากรังไหมฉายรังสี แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อจุลินทรีย์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.ทราบถึงขั้นตอนและวิธีการสกัดเซริซินจากรังไหม
- 2.ทราบปริมาณความเข้มข้นของเซริซินที่ฉายรังสี ที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์
- 3.เป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ที่ต้องการทำวิจัย หรือผู้ที่จะนำไปประดิษฐ์ไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เกษษกรรม และวิทยาศาสตร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไหม

2.1.1 ประวัติ

ไหมมีประวัติการใช้มานานกว่า 4,500 ปี ชาวจีนเป็นชนชาติแรกที่รู้จักหนอนไหม และใช้ประโยชน์จากไหมมาทอเป็นเครื่องนุ่งห่ม โดยจักรพรรดินี Si – Ling – Chi ของจีนได้ศึกษาเทคนิคและวิธีการสาวไหม เพื่อทอเป็นผืนผ้า ด้วยคุณงามความดีนี้ พระนางได้รับการยกย่องว่า “เจ้าแม่สายไหม” ซึ่งชาวจีนนับถือ

ประวัติการส่งเสริมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในประเทศไทย เริ่มในสมัยรัตนโกสินทร์ เมื่อปี พ.ศ. 2544 โดยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 5) มีพระราชดำริให้มีการส่งเสริมการเลี้ยงไหม โดยจ้างผู้เชี่ยวชาญชาวญี่ปุ่นมาให้คำปรึกษา เพื่อพัฒนาไหมในประเทศไทยให้มีคุณภาพ และใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ปลายปี พ.ศ. 2499 ได้มีการส่งเสริมให้ทำผ้าไหมในระบบอุตสาหกรรมจนถึงปัจจุบัน นักวิชาการไทยได้ค้นคว้าวิจัยและส่งเสริมกิจการไหม จนประเทศไทยสามารถผลิตรังไหมได้มาก จึงมีโรงงานทอผ้าเกิดขึ้นมาก ผ้าไหมไทยและผลิตภัณฑ์ไหมที่ผลิตในปัจจุบัน เป็นสินค้าส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งทำรายได้ให้ประเทศไทยโดยเฉลี่ยปีละ 800 – 1,000 ล้านบาท (จรรยา ปั้นเหน่งเพชร , 2543 : 3 – 7)

2.1.2 ลักษณะโดยทั่วไป

ไหม (silk worm) เป็นสัตว์จำพวกแมลง อยู่ใน Phylum Arthropoda อยู่ในตระกูล Bombycidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* Linn. ไหมมีการเจริญเติบโตแบบ completely metamorphosis คือ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละขั้นของการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยมีวงจรชีวิตแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะที่เป็นไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และผีเสื้อ ลักษณะพิเศษของหนอนไหม คือ ชอบกินใบหม่อนเป็นอาหาร ตัวหนอนระยะสุดท้ายจะพ่นใยออกมาเพื่อทำรังห่อหุ้มตัวเอง แล้วลอกคราบกลายเป็นดักแด้ เส้นใยไหมสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (กรมวิชาการเกษตร , 2523 : 61)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 พันธุ์ไหม

พันธุ์ไหมที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทย ปัจจุบันแบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1. ไหมพันธุ์พื้นเมือง เป็นไหมที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงกันอยู่ทั่วไป รังไหมมีขนาดเล็ก สีเหลือง รูปร่างยาวแบบกระสวย หัวแหลมท้ายแหลม เส้นใยไหมต่อรังยาวประมาณ 500 – 700 เมตร ไหมพื้นเมืองเลี้ยงง่าย ทนต่อโรคและสภาพภูมิอากาศได้ดี
2. ไหมพันธุ์ลูกผสม เป็นไหมที่ได้จากการผสมระหว่างไหมพันธุ์พื้นเมืองกับไหมพันธุ์ต่างประเทศ รังไหมมีขนาดใหญ่ มีทั้งสีเหลืองและสีขาว เส้นใยไหมต่อรังยาว 800 – 1,200 เมตร
3. ไหมพันธุ์ต่างประเทศ เป็นพันธุ์ไหมที่ส่งไข่ไหมโดยตรงมาจากต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และบราซิล รังไหมมีสีขาวขนาดใหญ่กว่าพันธุ์พื้นเมืองมีรูปร่างทรงกลมรี เส้นใยไหมต่อรังยาวประมาณ 1,000 – 1,500 เมตร

2.1.4 ชีพจักรของไหม

ชีพจักรของไหมแบ่งขั้นตอนสำคัญได้ 4 ขั้นตอน ซึ่งได้แสดงไว้ดังภาพที่ 1 คือ

1. ระยะที่เป็นไข่ (eggs) ระยะนี้จะใช้เวลานานน้อยแตกต่างกันตามพันธุ์ไหม โดยแม่ไหมจะวางไข่จนตัวอ่อนฟักออกจากไข่ ซึ่งจะใช้เวลา 9 – 12 วัน
2. ระยะที่เป็นตัวหนอน (larvae) เป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางขนาดและน้ำหนักมากที่สุด โดยหนอนไหมจะมีการเจริญเติบโตเร็วมาก เมื่อเจริญเติบโตไปได้ระยะหนึ่ง ตัวหนอนจะมีขีดจำกัดในการขยายตัว ดังนั้น หนอนไหมจึงมีการลอกคราบเพื่อเพิ่มขนาดลำตัว โดยมีการลอกคราบทั้งหมด 4 ครั้ง
3. ระยะที่เป็นดักแด้ (pupae) หลังจากตัวหนอนไหมลอกคราบกลายเป็นดักแด้อยู่ภายในรัง 6 – 7 วัน ตัวหนอนดักแด้ก็จะลอกคราบอีกครั้งกลายเป็นผีเสื้อ
4. ระยะที่เป็นผีเสื้อ (moth) เมื่อกลายเป็นผีเสื้ออยู่ภายในรังไหมแล้ว ผีเสื้อจะพันสาร Pyrolactin ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างออกมาเพื่อละลายรังไหม แล้วค้นตัวออกมาสู่ภายนอกพร้อมจะทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป ในระยะนี้มีอายุประมาณ 7-10 วัน (กรมวิชาการเกษตร , 2523 : 61)

การสร้างเส้นไหม จะสร้างจากต่อมสร้างเส้นไหม (silk gland) ซึ่งแสดงไว้ดังภาพที่ 3 สารไหมเหลว (liquid silk) จะถูกขับออกทางต่อมสร้างเส้นไหมตอนท้าย (posterior silk gland) ไปยังต่อมส่วนกลาง (middle silk gland) ระหว่างนี้สารไหมเหลวจะกลายเป็นเจลาติน (gelatin) ซึ่งจะกลายเป็น ไฟโบรอิน ให้เหนียวขึ้น

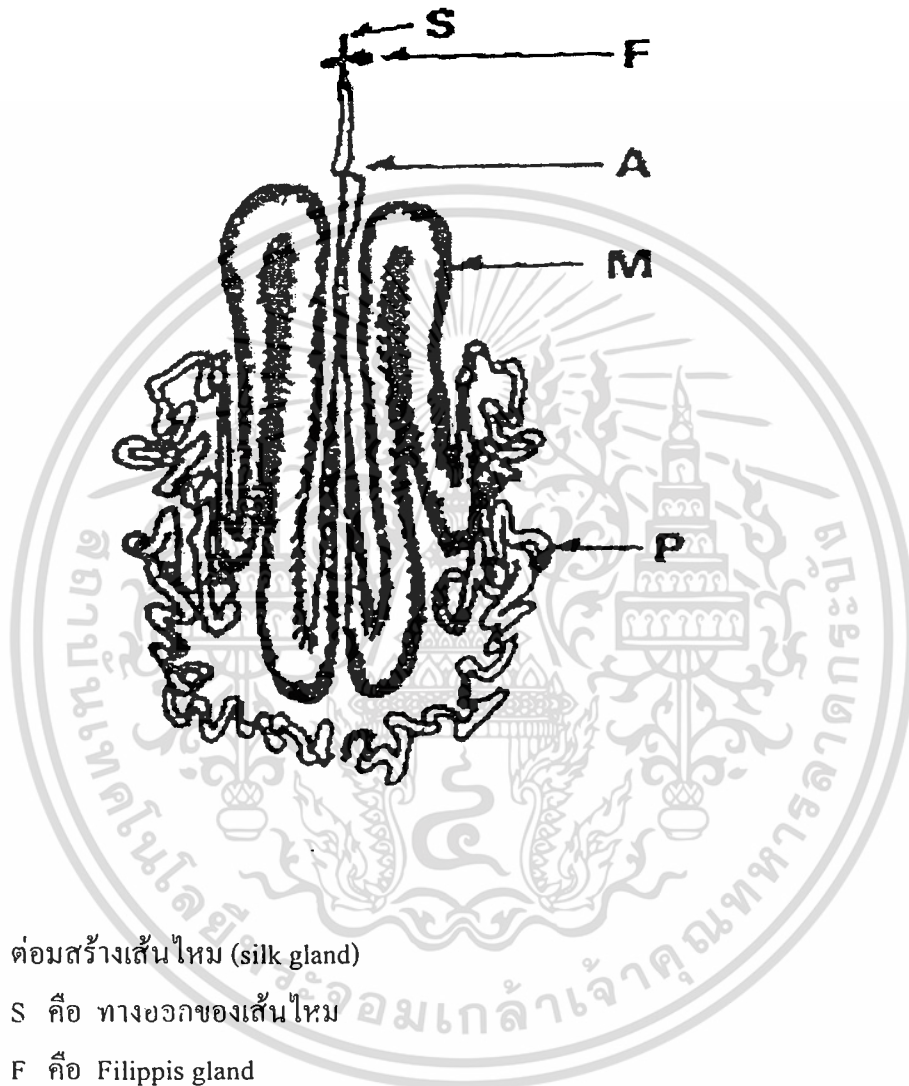
ไฟโบรอินมีอยู่ประมาณ 70 – 80 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นเส้นใย ประกอบด้วยธาตุสำคัญ คือ C, H, O, N : ซึ่งมีรายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของธาตุต่างๆ ในไฟโบรอิน

ธาตุ	เปอร์เซ็นต์
คาร์บอน	48.00 – 49.00
ไฮโดรเจน	6.40 – 6.51
ไนโตรเจน	17.35 – 18.89
ออกซิเจน	26.00 – 27.90

ที่มา : วีระศักดิ์ อุคมกิจเดชา , 2542 : 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ต่อมสร้างเส้นไหม (silk gland)

S คือ ทางออกของเส้นไหม

F คือ Filippis gland

A คือ ต่อมไหมส่วนหน้า

M คือ ต่อมไหมส่วนกลาง

P คือ ต่อมไหมส่วนท้าย

ที่มา : โมโตอิ มินะกาว่า และคณะ อ้างโดย ดาราพร ตั้งสุภาพ , 2544 : 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟโบรอิน มีคุณสมบัติ คือ ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลาย ประกอบด้วย กรดอะมิโนหลัก 4 ชนิด ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 คือ ไกลซีน (glycine) อะลานีน (alanine) เซรีน (serine) และไทโรซีน (tyrosine) โครงสร้างไฟโบรอิน ของไหมเลี้ยงเป็นแบบ G – A – G – A ซึ่ง G คือ glycine และ A คือ alanine ในบางกรณี A เปลี่ยนไปเป็น serine หรือ tyrosine

เซรีซิน มีอยู่ประมาณ 20 – 30 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง (wax) หรือกาวเคลือบ เส้นไหม มีคุณสมบัติ คือ สามารถละลายน้ำได้ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 4 ชนิด ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 2 คือ ไกลซีน , อะลานีน , เซรีน และไทโรซีน เซรีซินเคลือบไฟโบรอินอยู่ มีเซรีน และทรีโอนีน (threonine) ของกรดแอสพาทิก และกรดกลูตามิกของกรดอะมิโนที่เป็น อาจีนิน (arginine) และไลซีน (lysine) ของกรดอะมิโนที่เป็นเบสค่อนข้างมาก

2.1.6 โปรตีนไหม

เป็นโปรตีนพวกไฟโบรอินที่พบในเส้นไหม ประกอบด้วยกรดอะมิโนดังนี้ คือ ไกลซีน 40 เปอร์เซ็นต์ อะลานีน 29 เปอร์เซ็นต์ และเซรีน 12 เปอร์เซ็นต์ และมีโครงสร้างปฐมภูมิที่ซ้ำกัน คือ (Gly – Ser – Gly – Ala – Gly - Ala)_n โครงสร้างไฟโบรอินจะเป็นแผ่นพลิทปีตาชนิดที่มีสายเพปไทด์วิ่งสวนทางกัน ทำให้ไฟโบรอินมีลักษณะเป็นแผ่นพลิทหลายๆ แผ่นมาซ้อนทับกัน ในแผ่นพลิทปีตาเพปไทด์ที่เคียงคู่กัน แขนงข้าง (หมู่ R) จะชี้ออกสู่ด้านล่างและด้านบนของสายเพปไทด์ แขนงข้างที่มีขนาดเล็ก เช่น ไกลซีน เซรีน และอะลานีน จะช่วยทำให้แผ่นพลิทอยู่ตัวได้ดี (สุมิตรา เกษมชัยนันท์ และสุรเกียรติ คำตา, 2542 : 18 -19)

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของกรดอะมิโนของเซรีซินและไฟโบรอิน
(กรดอะมิโนเป็นกรัมใน โปรตีน 100 กรัม)

กรดอะมิโน		เซรีซิน	ไฟโบรอิน
Non – polar Amino acid	Glycine	8.66	41.25
	Alanine	3.51	28.87
	Valine	3.14	2.63
	Leucine	1.02	0.32
	Isoleucine	0.77	0.44
	Proline	0.66	-
	Phenylalanine	0.50	0.58
Acid amino acid	Aspartic acid	17.03	0.76
	Glutamic acid	7.46	0.69
Basic amino acid	Arginine	6.07	0.86
	Histidine	1.88	-
	Lysine	4.95	0.17
Oxy amino acid	Serine	27.32	13.22
	Threonine	7.48	0.81
	Tyrosine	4.43	10.96
Sulfur – complex Amino acid	Methionine	-	-
	Cystine	0.20	-
รวม		95.08	101.56

ที่มา : โมโตอิ มินะกาเว และคณะ อ้างโดย คาราพร ตั้งสุภาพ , 2544 : 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.7 กระบวนการผลิตเส้นไหม

1. การสาวไหม (reeling) เส้นไหมจะถูกสาวจากรังไหม โดยการนำรังไหมไปต้มให้ร้อนนุ่ม และทำให้ผิวภายนอกสะอาด เพื่อให้มองเห็นปลายของเส้นไหมได้ ปลายของเส้นไหมจะถูกนำมามารวมกันเป็นดวนำทางที่จะดึงหรือสาวไหมออกมาจากรังด้วยเครื่องมือ (reel) การสาวไหมต้องการทักษะและความชำนาญเพื่อให้ได้เส้นไหมที่เล็ก ละเอียด และมีขนาดสม่ำเสมอตลอดทั้งเส้น ซึ่งจะทำได้ราคาดี

2. การเข้าเกลียว (throwing) เมื่อสาวเส้นไหมและดึงมาหมุนรวมกันไว้แล้วก็ถึงขั้นนำเส้นไหมมาเข้าเกลียวรวมกันเป็นเส้นด้าย (throwing) ด้วยเครื่องจักรอันเป็นกระบวนการขั้นที่ 2 ต่อจากการสาวไหม

การเข้าเกลียวเส้นด้ายทำได้หลายแบบ แตกต่างกันที่จำนวนเกลียวและวิธีรวมเป็นเส้นด้าย ทำให้ได้ไหมหลายชนิด คือ

- 1) tram silk เป็นเส้นด้ายรวมที่นำเส้นด้ายเดี่ยว 2-3 เส้นมาเข้าเกลียวรวมกันหลวมๆ เส้นด้ายจะเหนียวปานกลาง มักใช้เส้นด้ายพุ่ง
- 2) organize เป็นด้ายรวมชนิด 2 พลายหรือมากกว่ามาเข้าเกลียว แน่นขนาดปานกลาง เป็นเส้นด้ายที่เหนียวมาก ใช้ทำเส้นด้ายยืน ถ้าเข้าเกลียวแน่นและจำนวนเกลียวสูง เรียกว่า เครบอแกนจีน ใช้ทอผ้าไหมкрепและผ้าไหมชีฟอง
- 3) singles หรือด้ายเดี่ยว ประกอบด้วยใยยาวจำนวนมาก นำมาเข้าเกลียว รวมกันในลักษณะเข้าเกลียวต่ำ ปานกลาง หรือสูงก็ได้ ใช้ทำเป็นเส้นด้ายยืน เส้นด้ายยุง และด้ายถักนิต
- 4) grenadine คือ เส้นด้ายรวมที่เกิดจากการรวมเส้นเดี่ยว 2-3 เส้น แล้วนำมาเข้าเกลียวรวมกัน โดยเข้าเกลียวไปในทิศทางตรงกันข้ามกับด้ายเดี่ยวนั้น

3. การปั่น (spinning) การนำรังไหมไปต้มและดึงปลายเส้นไหมจากรังที่ออกมาปั่นรวมกันให้เป็นเส้นด้ายในลักษณะเดียวกันกับการปั่นด้ายฝ้าย

4. การล้างกว (degumming) กวหรือยางเซรีซินจะยังคงติดอยู่ที่เส้นไหม และจำเป็นต้องชำระออกก่อนนำไปย้อมสีและทอ หรือในตอนที่ผลิตเป็นผืนผ้าแล้ว ก่อนที่จะนำไปตกแต่ง โดยการต้มเส้นด้ายหรือผ้าทอแล้วด้วยน้ำสบู่ แต่ถ้าต้องการผ้าเนื้อแข็งก็ไม่ต้องล้างเอากวออกจนหมด (นวลแข ปาลิวนิช , 2542 : 123 - 124)

2.1.8 สมบัติทางกายภาพของเส้นไหม

1. ลักษณะภายนอก ไหมดิบจะมีลักษณะของใยคู่ (brins) เกาะติดกันด้วยกาวเซรีซิน มีความมัน นุ่มนวล โปร่งแสง เป็นแบบอย่างของการทำไหมประดิษฐ์ ผิวนอกดูเรียบแต่ไม่สม่ำเสมอ เมื่อผ่านการฟอกอาเซรีซินออกแล้วจะเป็นเส้นใยเดี่ยว เรียบ และพื้นที่ห้าตัดเป็นรูปสามเหลี่ยม มุมมน เป็นเส้นใยที่มีความละเอียดสูงขนาด 1.25 แคนเนียร์ต่อเส้น

2. ความยาว ไหมมีความยาวมากและเป็นเส้นใยธรรมชาติชนิดเดียวที่เป็นเส้นใยยาว ความยาวโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 390 – 600 เมตร และอาจยาวได้ถึง 1,200 เมตร

3. สี เส้นใยไหมมีสีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีเหลือง

4. ความมัน ภายหลังจากการฟอกแล้ว ไหมมีความมันที่ดีมาก ให้ลักษณะความมันที่อ่อนนุ่ม สวยงาม เป็นรูปแบบของการทำเส้นใยประดิษฐ์

5. ความแข็งแรง ไหมมีความแข็งแรงที่สูงมาก มีความเหนียว 2.4 – 5.1 กรัมต่อเซนติเมตร ซึ่งไหมถูกนำมาใช้ทำร่มชูชีพในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 ความแข็งแรงของไหมจะลดลงประมาณ 15 – 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปียก

6. ความคืนตัว ไหมมีความสามารถในการคืนตัวได้ดี ไม่เกิดการยับย่นง่าย สามารถคืนรูปได้ดีเพียงแฉวนทั้งไว้ระยะหนึ่ง

7. การดูดซึมความชื้น ในภาวะมาตรฐานไหมดูดความชื้นได้ 11 เปอร์เซ็นต์ และอิมตัวที่ 25 - 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้สามารถย้อมสีได้ดี และทำการตกแต่งได้ดี ผ้าไหมเป็นตัวนำความร้อนที่ไม่ดี จึงเหมาะแก่การทำผ้าพันคอหรือชุดสูท นอกจากนี้ไหมยังดูดซึมเอาของเหลวที่ไม่บริสุทธิ์ เช่น กลี้อของโลหะไว้ได้ ซึ่งสารเหล่านี้จะทำลายเส้นใย ทำให้เส้นใยแตกตัวและลดความทนทานลง

8. ความยืดหยุ่นและความยืดได้ ไหมมีความยืดหยุ่นตัวได้ดี เมื่อเส้นใยแห้ง สามารถยืดตัวได้ 10 – 25 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวเดิม และจะยืดมากขึ้นถึง 33 – 35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปียก ถ้าจับเส้นไหมยืดออก 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วปล่อยมือ ใยไหมจะหดกลับที่เดิมได้ประมาณ 92 เปอร์เซ็นต์

9. การทนต่อความร้อน ใยไหมจะไหม้ไฟเมื่อจ่อในเปลวไฟ แต่เมื่อเอาออกจากเปลวไฟจะดับได้เอง ถ้ามีลักษณะเป็นก้อนแข็ง กลิ่นไหม้ไฟเหมือนกลิ่นไหม้ผม ใยไหมสามารถทนความร้อนได้ถึง 171 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาสั้นๆ แล้วจะสลายตัว

10. ความถ่วงจำเพาะ ไหมมีความถ่วงจำเพาะเพียง 1.25 แต่ยังมีภารกิจตัวที่ดี

11. รูปร่างทางกล้องจุลทรรศน์ รูปร่างตามยาวของไหมหลังจากที่ล้างเอากากออก จะมีผิวหยาบและขรุขระ ไหมป่าจะมีขนาดไม่เท่ากัน บางส่วนแคบ และบางส่วนปรากฏเป็นสีเข้ม นอกจากนี้ ยังสามารถจำแนกลักษณะของไหมจากกล้องจุลทรรศน์ได้ดังนี้

1) ลักษณะตามยาว

- ไหมดิบ เห็นเป็นเส้นเดี่ยว มีเส้นสีเข้มอยู่ตรงกลาง เส้นนี้บางตอนจะขาดหายไป
- ไหมฟอก เป็นเส้นเดี่ยว ผิวเรียบเหมือนแท่งแก้วใส
- ไหมป่า ลักษณะค่อนข้างแบน มักบิดเป็นเกลียว บางทีมีรอยแตกเป็นแห่งๆ มีสีค่อนข้างเข้ม

2) ลักษณะตามขวาง

- ไหมดิบ เส้นใยมีรูปเหลี่ยมสองเส้นหุ้มด้วยเยื่อบางๆ ตัดกัน บางทีเยื่อหุ้มบาง
- ตอนจะหลุดไป
- ไหมฟอก มักเป็นรูปสามเหลี่ยมมุมมน บางทีกลมเหมือนไข่
- ไหมป่า เป็นรูปสามเหลี่ยมยาว มุมมน บางทีกลมหรือรูปไข่ (นวลแข ปาลานิซ , 2542 : 128 – 129 และอัจฉราพร ไสละสูตร , 2533 : 140)

2.1.9 สมบัติทางเคมีของเส้นไหม

1. ปฏิกริยาต่อกรด คล้ายขนสัตว์ คือ ไม่ทนต่อกรดของโลหะชนิดเข้มข้น กรดเกลือเข้มข้นจะทำให้ใยไหมละลาย และกรดของโลหะชนิดอื่นๆ ก็จะทำให้ไหมเสื่อมคุณภาพ เพราะการเรียงตัวของโมเลกุลในเส้นไหมจะถูกรบกวนเข้าไปอย่างรวดเร็ว และกรดจะจับแน่นติดอยู่แน่น กรดจะทำลายโปรตีนไฟโบรอิน ส่วนกรดอินทรีย์ไม่ทำลายใยไหม

2. ปฏิกริยาต่อด่าง ไหมอ่อนไหวต่อด่าง แต่ถูกทำลายได้ด้วยด่างที่มีความเข้มข้นสูง ด่างแก่มีผลทำให้ไหมมีความมันลดลง ด่างอย่างอ่อน เช่น สบู่ บอแรกซ์ และแอมโมเนียจะไม่เป็นอันตรายต่อไหมหากไม่ทิ้งไว้นาน

3. กลีออลไรด์ ไหมถูกทำลายได้ด้วยสารที่มีส่วนผสมของกลีออลไรด์ผสมอยู่ ได้แก่ เหนือ น้ำยาดับกลิ่น และน้ำเกลือทั่วไป

4. สารละลายอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ไหมส่วนใหญ่มักใช้การซักแห้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของเส้นไหมและสีที่ใช้อยู่

5. สารซักฟอก ไหมมีความทนต่อสารซักฟอกคล้ายขนสัตว์ ถูกทำลายด้วยสารซักฟอกประเภทออกซิไดซ์

6. ราและแมลง ปกติไหมไม่เกิดราง่าย ยกเว้นทิ้งไว้ในภาวะที่ค่อนข้างเปียกชื้นเป็นเวลานาน ไหมที่สะอาดจะไม่มีปัญหาเรื่องแมลงและรา

7. แสง ผ้าไหมมีความอ่อนไหวต่อแสงแดด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากถูกแสงแดดโดยตรงเป็นเวลานาน จะทำให้ผ้าไหมเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองและความแข็งแรงก็จะลดลงด้วย

8. การย้อมสี ไหมมีความสามารถในการรับสีย้อมได้ดีมาก อาจย้อมด้วยสีที่เป็นแอซิด เบสิกหรือสีไดเรค ผ้าไหมเมื่อย้อมสีแล้วจะมีสีเข้มกว่าขนสัตว์ และสามารถย้อมสีในอุณหภูมิต่ำกว่าด้วย

9. ปฏิกริยาการลุกลไหมของไหม ไหมจะไหม้เหมือนขนสัตว์ มีกลิ่นน้อยกว่า ถ้าเป็นไหมเพิ่มน้ำหนักเข้าจะคงรูปเดิมเหมือนก่อนเผาเพียงเล็กน้อย (วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา , 2542 : 90 – 91 และอัจฉราพร ไสละสูตร , 2533 : 140)

2.2 การฉายรังสี

การฉายรังสี หมายถึง การนำวัสดุที่บรรจุในภาชนะหรือหีบห่อที่เหมาะสมไปผ่านรังสีแกมมาหรือรังสีเอ็กซ์ หรืออิเล็กตรอนในห้องกำบังรังสี ในปริมาณที่เหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการฉายรังสี

การแผ่รังสีสามารถเกิดได้จากปฏิกิริยานิวเคลียร์ โดยการเร่งหรือจากไอโซโทปของธาตุที่แผ่รังสีที่เกิดในธรรมชาติ หรือไอโซโทปที่เกิดจากการสังเคราะห์ แต่แหล่งของการควบคุมการแผ่รังสีคือ ไอโซโทปที่เกิดจากการสังเคราะห์ที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์

รังสีแกมมาเป็นรังสีคลื่นสั้นๆ เป็นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูงมาก แต่ไม่มีประจุ โฟตอนของรังสีแกมมาสามารถทะลุทะลวงแม้ในสสารที่มีความหนาแน่นมากที่สุด ซึ่งเมื่อต้องการที่จะหยุดการทะลุทะลวงของรังสีแกมมานั้น ต้องใช้คอนกรีตที่มีความหนามากกว่า 1 เมตร

ข้อดีของการฉายรังสีแกมมา

1. สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าในกระบวนการทางเคมีปกติ
2. สามารถทะลุทะลวงได้อย่างดี ถึงแม้ว่ารังสีแกมมาจากโคบอลต์ – 60 สามารถทะลุทะลวงได้มากถึง 12 นิ้ว (300 มิลลิเมตร) แต่จะเคลื่อนที่ในอัตราที่ช้าและใช้เวลานาน ขณะที่รังสีอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ในอัตราที่รวดเร็วกว่า แต่สามารถทะลุทะลวงได้ในความหนาเพียง 0.36 นิ้ว (10 มิลลิเมตร) ด้วยเหตุนี้ผลิตภัณฑ์จากการฉายรังสี 90 เปอร์เซนต์จึงถูกผลิตโดยการใส่แหล่งอิเล็กตรอนพลังงานสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไม่จำเป็นต้องใช้สารตัวเติมพวกสารริเริ่ม หรือคะตะลิสต์ ทำให้ปราศจากสิ่งปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสะอาดสูง
4. ใช้ได้กับโมโนเมอร์ หรือ โพลีเมอร์ที่ไม่สามารถเกิด โครงสร้างร่างแหได้โดยตัวริเริ่มทางเคมี
5. ความว่องไวของปฏิกิริยาไม่ลดลง ถึงแม้ว่าจะเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันและเกิด โครงสร้างร่างแหแล้วก็ตาม
6. ขบวนการนี้ควบคุมง่ายและน่าเชื่อถือ จึงทำให้สามารถควบคุมผลิตภัณฑ์ได้
7. หลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิดจากการผสม และการเก็บสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการ
ข้อเสียของการฉายรังสี
 1. ในการติดตั้งเครื่องฉายรังสีแกมมามีราคาแพง
 2. ต้องการการดูแลรักษาและบุคลากรที่มีความชำนาญ โดยเฉพาะในรังสีที่ทำให้เกิด ไอออน
 3. มีศักยภาพในการเกิดอันตรายสูง เนื่องจากเป็นรังสีที่ทำให้เกิดไอออนและเป็นธาตุ กัมมันตรังสี

รังสีแกมมาจัดเป็นรังสีที่ก่อให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออนโดยทางอ้อม การใช้รังสีแกมมาจาก โคบอลต์ - 60 เป็นที่นิยมกันมาก เนื่องจากมีราคาถูก เมื่อเทียบกับไอโซโทปอื่นๆ ที่แผ่รังสีชนิดเดียวกัน และมีครึ่งชีวิตที่พอเหมาะ คือ 5.25 ปี โคบอลต์ - 60 มีความคงทนภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีปริมาณรังสีสูง และสามารถใช้งานได้แม้กระทั่งในอุณหภูมิสูงถึง 1000 องศาเซลเซียส โคบอลต์ - 60 ให้อัตราการสลายตัวหนึ่งนิวเคลียส โดยพลังงานทั้งสองเท่ากับ 1.17 MeV และ 1.33 MeV ตามลำดับ หรือคิดเฉลี่ยให้พลังงานโฟตอน 2.5 MeV ต่อการสลายตัวหนึ่งครั้ง ในกระบวนการฉายรังสีทางอุตสาหกรรมจะใช้ต้นกำเนิดโคบอลต์ - 60 ที่ให้ความแรงรังสีระดับหมื่นหรือแสนคูรี ลักษณะของต้นกำเนิดอาจเป็นแท่งทรงกระบอก เป็นแผ่น เป็นเม็ด บรรจุในท่อเหล็กกล้าไร้สนิม หรือแบบอื่นๆ ตามแต่ความสะดวก กล่าวโดยสรุปความเหมาะสมของการใช้โคบอลต์ - 60 คือ รังสีแกมมามีอำนาจในการทะลุทะลวงสูง ฉายรังสีได้อย่างต่อเนื่อง เสื่อมสภาพได้ช้าและไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนเสริมต้นกำเนิดบ่อยครั้ง (สุมิตรา เกษมชัยนันท์ และ ชูเกียรติ คำตา, 2542 : 19 - 20)

2.3 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีองค์ประกอบเคมีคล้ายกับเซลล์สัตว์ชั้นสูง และสามารถที่จะให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีคล้ายกันหลายปฏิกิริยา สามารถดำรงชีพโดยใช้อาหารอย่างง่าย ๆ เช่น กลีโกลินทรีย์ อย่างเดียวหรือ ผสมน้ำตาลเฮกโซส จึงทำให้มันเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว จุลินทรีย์แต่ละชนิด มีคุณสมบัติแตกต่างกันในช่วงที่กว้างมาก เช่น ความแตกต่างของส่วนประกอบทางเคมี อัตราการเพิ่มจำนวน เป็นต้น (บัญญัติ สุขศิริงาม ,มปป : 507)

2.3.1 แบคทีเรีย (bacteria)

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์พวกโพรคาริโอต (prokaryote) มีเซลล์เดียว ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า สามารถมองเห็นได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ แบคทีเรียส่วนใหญ่มีรูปร่างคงที่แน่นอน มีรูปร่าง 3 แบบ คือ ทรงกลม (sphere) เรียกว่า ค็อกคัส (coccus) หรือค็อกโค (cocci) ทรงกระบอกหรือรูปท่อน (rod) เรียก บาซิลลัส (bacillus) หรือบาซิลโล (bacilli) และรูปเกลียว (spiral) เรียกว่า สไปริลลัม (spirillum) หรือ สไปริลโล (spirilli) แบคทีเรียสามารถพบได้กว้างขวางในธรรมชาติ บางชนิดก่อให้เกิดโรค บางชนิดมีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม การเกษตร และการแพทย์ ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทางขนาด รูปร่าง ลักษณะ และสมบัติด้านต่างๆ ด้วย

โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย ที่มีมาตั้งแต่สมัยโบราณ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมียังแถมบวกและแถมลบ ซึ่งจะทำให้เกิดโรคแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งใกล้เส้นศูนย์สูตร มีอากาศร้อนชื้น ประชาชนมักประสบปัญหาเรื่อง โรคติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนัง ซึ่งแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดที่เป็นสาเหตุของโรคดังกล่าว คือ *Staphylococcus aureus* อาการที่สำคัญที่เกิดขึ้น คือ ผื่นและหนอง พบได้ทั่วไปที่บริเวณผิวหนังของมนุษย์ เช่น รูขุมขนอักเสบ แผลเน่าเปื่อย บริเวณแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก เชื้อดังกล่าวอาจลุกลามไปยังอวัยวะต่างๆ ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้

1. *Escherichia coli*

E. coli อยู่ในตระกูลเอนเทอโรแบคทีเรียซี (Enterobacteriaceae) อยู่ในสกุล *Escherichia* เป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ในลำไส้ ลักษณะสำคัญ คือ

1. มีเซลล์เป็นรูปท่อนตรง เรียงตัวเดี่ยวๆ หรือเป็นคู่
2. มีเซลล์ขนาด 1.1 – 1.5 x 2.0 – 6.0 ไมโครเมตร
3. เซลล์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 – 1.5 ไมโครเมตร

4. เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา
5. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative)
6. เป็นพวกแฟคัลเททีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobe)
7. มีเซลล์แอนติเจนพิเศษ เรียกว่า เอนเทอโรแบคทีเรียลคอมมอนแอนติเจน (entero bacterial common antigen)
8. ไม่ต้องการ Na เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต

เชื้อ *E. coli* เป็น lactose fermentation จัดเป็นแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform) เชื้อ *E. coli* มีหลายซีโรทัยป์ (serotype) และหลายไบโอทัยป์ (biotype) พบมากที่สุดในตลาดค้าปลีกของคน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพของน้ำและอาหาร

เชื้อ *E. coli* สามารถสร้างทอกซิน (toxin) ได้ 2 ชนิด คือ

1. เอนโดทอกซิน (endotoxin)
2. เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ซึ่งเป็นเอ็กโซทอกซิน มีพลาสติกเป็นตัวควบคุมการสร้าง และมีผลต่อการทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1.1 Heat labile enterotoxin (LT)

1.2 Heat stable enterotoxin (BT)

คุณสมบัติของสารพิษทั้ง 2 นี้ แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของสารพิษเอนเทอโรทอกซิน

Heat labile enterotoxin (LT)	Heat stable enterotoxin (BT)
1. เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 86,000 ดาลตัน	1. เป็นสารประกอบโพลีเพปไทด์เล็กๆ ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ราว 18 – 50 โมเลกุล ประมาณ 25,000 – 51,000 ดาลตัน
2. ประกอบด้วย 2 ส่วนย่อย คือ A subunit ซึ่งมีฤทธิ์ในการจับกับเอนไซม์ได้ดี และ B subunit 5 ชิ้น ซึ่งอยู่รายล้อม A subunit ทำหน้าที่ในการจับ receptor ที่ crypt cell	2. สูตรโครงสร้างประกอบด้วย disulfide bond จำนวนมาก จึงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดความทนทานต่อความร้อน
3. Principle receptor คือ GMI – ganglioside	3. ยังไม่ทราบว่า receptor คืออะไร

ที่มา : มหาวิทยาลัยขอนแก่น , 2531 : 122

โรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli*

1. โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น กระเพาะปัสสาวะอักเสบ , กรวยไตอักเสบ และไตอักเสบ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อแบบลามขึ้น (ascending route)
2. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection)
3. โรคติดเชื้อทางกระแสโลหิต (bacterimia) เช่น ไตอักเสบ , ไข้ตั้งอักเสบ , ปอดบวม ฝืนดับ และถุงน้ำดีอักเสบ ซึ่งเกิดจากการเจริญและแบ่งตัวอย่างรวดเร็วภายในอวัยวะนั้นๆ
4. เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกแรกเกิด (neonatal meningitis) เกิดกับทารกช่วงแรกเกิด โดยเฉพาะทารกที่คลอดก่อนกำหนดเนื่องจากภูมิคุ้มกันของเด็กแรกเกิดยังไม่เจริญเต็มที่
5. โรคอุจจาระร่วง (diarrhoeal diseases) เชื้อ *E. coli* ที่ก่อให้เกิด โรคอุจจาระร่วง มี 5 ชนิด คือ
 - 5.1 *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC)
 - 5.2 *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)
 - 5.3 *Enteropathogenic E. coli* (EPEC)
 - 5.4 *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC)
 - 5.5 *Enteraggregative E. coli* (EAEC)

2. *Bacillus subtilis*

B. subtilis เป็นแบคทีเรียตระกูล Bacillaceae จัดอยู่ในตระกูล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สร้างเอนโดสปอร์ (Endospore - Forming , Gram - Positive Bacteria) มีลักษณะสำคัญคือ

1. เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน
2. เซลล์มีขนาด 0.3 – 2.2 x 1.2 – 7.0 ไมโครเมตร
3. สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา
4. เป็นพวกมีโซไฟล์ (mesophile) คือ ชอบอุณหภูมิปานกลาง
5. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (grame positive)
6. เป็นพวกแอโรบ (aerobe) และแฟคัลเททีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobe)
7. สร้างเอกโซเอนไซม์ย่อยแป้งและเคซีน
8. สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ซึ่งทนความร้อน
9. ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียไม่มีโทษ พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. subtilis เป็นแบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อนตรง เป็นแบคทีเรียพวกมีโซไฟล์ อุณหภูมิต่ำที่สุดที่เจริญได้ คือ 5 – 20 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 45 – 55 องศาเซลเซียส ทนต่อความเป็นกรดต่ำ และกรดปานกลาง รวมทั้งความเค็มได้ดี จึงเป็นสาเหตุให้อาหารกระป๋องที่ฆ่าเชื้อไม่เพียงพอเน่าเสียได้ โดยเฉพาะพวกอาหารทะเลกระป๋อง นอกจากนี้แล้ว ยังสามารถสลายเพคตินในเนื้อเยื่อพืช ทำให้พืช เช่น หัวมันฝรั่งเน่าเสียได้ นอกจากนี้ยังผลิตสารเมือกไกลิแคนจากน้ำตาลซูโครสและรฟไฟโนสได้อีกด้วย

3. *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Micro coccaceae ลักษณะทั่วไปดังนี้

1. แกรมบวก (grame positive) ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้
2. รูปร่างกลมมักรวมตัวกันอยู่เป็นกลุ่มๆ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.7 – 1.2 ไมโครเมตร
3. เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) แต่เจริญได้ดีกว่าในที่มีออกซิเจน
4. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 10 – 45 องศาเซลเซียส และดีที่สุดในที่ 37 องศาเซลเซียส
5. พีเอช (pH) ที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 4.5 – 9.3 แต่ดีที่สุดในที่พีเอช 7.0 – 7.5
6. ลักษณะโคโลนีกลม นูน ขอบเรียบเป็นเงา ขนาดประมาณ 1 – 4 มิลลิเมตร สามารถสร้างรงควัตถุสีเหลืองที่เรียกว่า triterpenoid carotenoids ทำให้โคโลนีเป็นสีเหลืองทอง การสร้างรงควัตถุจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (20 – 25 องศาเซลเซียส) แต่เชื้อจะไม่สร้างรงควัตถุในที่ไม่มีออกซิเจนหรือในอาหารเหลว
7. สลายเม็ดเลือดแดงได้เกือบทุกสายพันธุ์ เมื่อเพาะเลี้ยงบน blood agar จะเห็นโซนไลส (β - hemolytic zone) รอบๆ โคโลนี ถ้าเป็นสายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลได้จะมีโคโลนีเหนียว เยิ้ม
8. ย่อยน้ำตาลได้หลายชนิด โดยย่อยได้ทั้งแบบใช้ออกซิเจน (respiration) และแบบการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจนผลผลิตของการหมักย่อยน้ำตาลจะได้กรดแลคติก แต่ไม่ให้อำนาจ
9. ทนความแห้งและความร้อนได้ดี (60 องศาเซลเซียส 30 นาที)
10. เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือความเข้มข้นสูง ถึง 15 เปอร์เซ็นต์

11. ความต้องการน้ำในรูปของค่า water activity (A_w) อยู่ระหว่าง 0.86 – 0.99 การเจริญจะลดลงเมื่อค่า A_w ต่ำกว่า

โดยทั่วไปมักจะพบ *S. aureus* อยู่ตามผิวหนัง เยื่อของร่างกายและระบบทางเดินอาหาร สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก มีชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม คือ บนผิวหนังและในฝุ่น

S. aureus แพร่กระจายได้อย่างกว้างขวางในอากาศ ฝุ่นละอองและสิ่งของต่างๆ แต่เจริญได้ดีที่ผิวหนังและเยื่อของคน พบในบริเวณเยื่อจมูกของคนปกติ ประมาณ 30 – 50 เปอร์เซ็นต์ ผิวหนัง 20 เปอร์เซ็นต์ และอุจจาระ 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังได้บ่อย และมักพบว่าเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อที่แผลผ่าตัด เกิดการติดเชื้อที่กระแสโลหิตหลังผ่าตัด ผื่นหนองและเชื้อเจริญเติบโตบริเวณแผลไหม้ (อะเคื่อ อุณหเลขกะ , 2541 : 38)

S. aureus สามารถสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ได้ถึง 6 ชนิด คือ A , B , C₁ , C₂ , D และ E สารพิษนี้ทนความร้อนได้สูงถึง 100 องศาเซลเซียส 30 นาที โดย *S. aureus* สายพันธุ์ S – 6 และสายพันธุ์ FRI – 913 สามารถสร้างเอนเทอโรทอกซิน A และ B ซึ่งเอนเทอโรทอกซิน ทั้ง 2 ชนิด นี้มักตรวจพบว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ โดยเอนเทอโรทอกซิน A เป็นสารพิษที่มีความสำคัญในการทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ในขณะที่เอนเทอโรทอกซิน B มีส่วนน้อยที่ตรวจพบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (สมแข พิลาสมบัติ , 2540 : 34 - 35 อ้าง โดย ธีรวัฒน์ เศรษฐนันท์ , 2545 :19-20)

2.3.2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (microbial cultivation)

อาหารเลี้ยงเชื้อ (culture medium) หมายถึง ส่วนประกอบของสารอาหารที่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญ และแบ่งเซลล์ (ภาควิชาจุลชีววิทยา , 2536 : 48)

อาหารเลี้ยงเชื้อ ควรมีคุณสมบัติดังนี้

1. มีสารอาหารและความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์
2. มีค่าความเป็นกรดและด่าง (pH) ที่เหมาะสม กับการเจริญของจุลินทรีย์
3. ปราศจากสารพิษ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต
4. ไม่มีการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื่อนั้น

อาหารเลี้ยงเชื่อนั้นที่ใช้ในทางจุลชีววิทยา มีหลายลักษณะ เช่น อาหารเหลว (liquid medium หรือ broth) อาหารแข็ง (solid medium) อาหารที่บรรจุในหลอดทดสอบที่เอียงเป็นแนวลาด (slant agar) อาหารแข็งที่บรรจุในหลอดเป็นแนวตั้งตรง (deep tube agar) อาหารกึ่งแข็ง (semi - solid)

อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการเป็น complete media ได้แก่ nutrient broth (NB) , nutrient agar (NA)

2.3.3 การทำให้ปลอดเชื้อและฆ่าเชื้อ (sterilization and disinfection)

การทำให้ปลอดเชื้อ (sterilization) หมายถึง การทำลายจุลินทรีย์ ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ ให้หมดสิ้นไป

การฆ่าเชื้อ (disinfection) หมายถึง การทำลายจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค แต่ไม่รวมสปอร์ วิธีการทำให้ปลอดเชื้อ หรือฆ่าเชื้อ แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

ก. วิธีทางกายภาพ (physical methods)

ข. วิธีทางเคมี (chemical methods)

ก. วิธีทางกายภาพ

1. การใช้ความร้อน แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1.1 ความร้อนแห้ง (dry heat)

ความร้อนแห้ง เป็นวิธีทำลายจุลินทรีย์โดยทำให้เกิด oxidative destruction ต่อโปรตีนโพลีเมอร์ของแบคทีเรีย สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย วิธีนี้ใช้ความร้อนสูงกว่า และใช้เวลานานกว่าการทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้ความร้อนชื้น

1.1.1 ตู้อบด้วยไอน้ำ (hot air oven)

เป็นวิธีที่ใช้กันแพร่หลาย ใช้อุณหภูมิ 160 – 180 องศาเซลเซียส นาน 1 – 3 ชั่วโมง (นับเวลาดังแต่ 160 องศาเซลเซียส เป็นต้นไป)

วิธีการ ใช้กระแสไฟฟ้าทำให้เกิดความร้อนมีพัดลมเป่าเพื่อให้อุณหภูมิสูงเสมอกันหมด อุณหภูมิภายในตู้ไม่ควรแตกต่างกันเกิน 10 องศาเซลเซียส

1.1.2 การเผา (open flame)

ใช้สำหรับฆ่าเชื้อเข็ม เขี่ยเชื้อ คือ inoculating needle และ inoculating loop ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยเผาด้วยตะเกียงจนแดงร้อนสักครู่หนึ่ง นอกจากนี้ยังใช้ฆ่าเชื้อโดยการผ่านเปลวไฟไปมาโดยไม่ต้องรอให้แดงร้อนเพื่อฆ่าเชื้อที่ปากขวด หลอดเลี้ยงเชื้อ สไลด์ย้อมเชื้อ เป็นต้น

1.1.3 การเผาจนไหม้ (incineration)

วิธีนี้ใช้เครื่องมือที่เรียกว่า incinerator เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการฆ่าเชื้อ

จุลินทรีย์ เพราะไฟจะเผาจุลินทรีย์ให้หมด ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคได้

1.1.4 การกรอง (filtration)

เป็นการแยกแบคทีเรียออกจากของเหลว ใช้สำหรับของเหลวที่อุณหภูมิร้อน หรือสารเคมีแล้วเสีย หรือเสื่อมคุณภาพ เครื่องกรองที่ใช้มีหลายแบบ ได้แก่ Seitz filter , Berkefeld filter , Chamberland filter , Sintered glass filter , Cellulose membrane filter

เครื่องกรองและแผ่นเยื่อกรองทำให้ปลอดเชื้อได้โดยการนั่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.1.5 การฉายรังสี (radiation)

รังสีที่ใช้ คือ ionizing radiation non – ionizing radiation ionizing radiation ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา รังสีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อทุกเซลล์ชนิด รวมทั้งจุลินทรีย์ โดยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงใน ส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ โดยเฉพาะดีเอ็นเอของนิวเคลียส

ประโยชน์ ใช้ในการทำให้ปลอดเชื้อสำหรับกระบอกและเข็มฉีดยา ที่ทำด้วยพลาสติกชนิดใช้ครั้งเดียว ถู่มือยางชนิดใช้แล้วทิ้ง ยาปฏิชีวนะ สอร์โมน เป็นต้น

non - ionizing radiation ได้แก่ แสงอัลตราไวโอเล็ต ช่วงคลื่นแสงที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด และใช้กันมากที่สุด คือ 2.537 อังสตรอม สามารถทำลายแบคทีเรียและไวรัสบางชนิด โดยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในกรดนิวคลีอิก ซึ่งสามารถทำลาย vegetative form ของแบคทีเรียได้มากกว่า สปอร์ พบว่า แบคทีเรียแกรมลบไวต่อแสงนี้มาก ส่วนเชื้อ Staphylococcus และ Streptococcus จะทนต่อแสงได้ดีกว่า ส่วนระยะเวลาในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ intensity ของแสง ระยะทาง ชนิดและสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์

ประโยชน์ ใช้ลดจำนวนจุลินทรีย์ ในน้ำดื่ม ในอากาศ ห้องผ่าตัด ห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ข้อควรระวัง ห้ามใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต ขณะที่มีคนอยู่ในห้อง ซึ่งผู้ที่ได้รับแสงนี้อาจมีผื่นแดงที่ผิวหนัง และเยื่อตาอักเสบได้

1.1.6 คลื่นไมโครเวฟ

คลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อน ได้มากในเวลารวดเร็ว โดยทั่วไปคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายเชื้อโรคต่างๆ ได้ภายใน 1 นาที ยกเว้นสปอร์ของแบคทีเรียที่ต้องใช้เวลานาน 5 นาที

ประโยชน์ ใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟทำผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปนเปื้อน และหลอดทดลองที่ใช้แล้วปลอดเชื้อ

ข้อควรระวัง คือ ไม่ควรใส่ของที่ต้องการทำให้ปลอดเชื้อมากเกินไป และเวลาที่ใช้ต้องนานพอที่จะทำลายเชื้อได้ โดยทั่วไปใช้เวลา 10 นาที

1.1.7 การทำให้แห้ง (dessication)

จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ต้องอาศัยความชื้น ถ้าขาดน้ำจะไม่เจริญและไม่แบ่งตัว ประโยชน์ ใช้ในการถนอมอาหารและผลไม้

1.1.8 การพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization)

เป็นวิธีการทำให้น้ำนมปลอดภัยในการบริโภค โดยไม่ทำให้กลิ่นและรสของนมเสียไป โดยทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทุกชนิด และจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคบางชนิด

1.2 ความร้อนชื้น (moist heat)

การใช้ความร้อนชื้นทำลายจุลินทรีย์โดยทำลายเอนไซม์และโปรตีนในเซลล์เกิดการแข็งตัว (coagulation) ทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่า ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า และเวลาน้อยกว่า ความร้อนแบบแห้ง เพราะเมื่อมีความชื้นอยู่ด้วยโปรโตพลาสซึมจะแข็งตัวได้ดีกว่า

1.2.1 การนึ่งฆ่าเชื้อ (steam under pressure , autoclave)

ใช้ไอน้ำความดันสูง เป็นวิธีทำให้ปลอดเชื้อได้รวดเร็วและ ทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ ตามปกติใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 – 30 นาที

ข้อควรระวังในการใช้ autoclave

1. ต้องไล่อากาศออกให้หมดโดยให้ไอน้ำเข้าไปแทนที่
2. ควรใช้ความดันไอน้ำภายใน autoclave ไม่ต่ำกว่า 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
3. อุณหภูมิการคงที่อยู่ที่ 121 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 15 นาที
4. หลังจากครบเวลาแล้ว ควรเปิดวาล์วให้ความดันค่อยๆ ลดลงจนถึงศูนย์ทิ้งไว้ประมาณ 2 – 3 นาที จึงเปิดฝาม้อหนึ่ง เพื่อป้องกันของ

เหลวพุ่งขึ้นทำให้จุกเป็ยก หรือการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่เร็วเกินไป ทำให้เครื่องแก้วแตกได้

5. วัสดุที่ใช้ต้องปราศจากไขมันหรือน้ำมัน
6. ห่อของต้องมีขนาดไม่เกิน 12 x 12 x 20 นิ้ว และไม่ควรใส่ของแน่นเกินไป การวาง ควรวางให้ขนานกัน อย่าวางซ้อนทับกัน
7. ถ้าเป็นขวดที่มีจุกหรือฝาเกลียว ควรคลายเกลียวเสียก่อน
8. ควรใช้แถบเทปสำหรับตรวจสอบประสิทธิภาพของ autoclave ประโยชน์ ใช้ในการทำของที่ไม่เสื่อมคุณภาพเมื่อถูกความร้อน เช่น เครื่องแก้ว ถูมมือยาง จุกยาง อาหารเลี้ยงเชื้อ กระบอกลดึกษา เป็นต้น
ไม่ควรใช้กับของชนิดต่อไปนี้

1. ของมีคม เช่น ใบมีด กรรไกร เพราะไอน้ำจะทำให้เสียความคม
2. ของที่ถูกไอน้ำแล้วเสีย เช่น ผงแป้ง
3. ของที่ถูกความร้อนแล้วเสีย เช่น เอนไซม์
4. ของที่ไม่ละลายน้ำ เช่น น้ำมัน จี๊ตัง

1.2.2 การต้มเคือด (boiling)

ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 5–10 นาที วิธีง่ายและสะดวก แต่มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ วิธีนี้ใช้กับสิ่งของที่ไม่จำเป็น ต้องฆ่าสปอร์ของแบคทีเรียให้ตายหมด จุดประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคส่วนใหญ่เท่านั้น

1.2.3 fractional sterilization

ใช้สำหรับฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิด ซึ่งถูกความร้อนโดยวิธีนี้ไม่ได้ เช่น อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต เจลาติน หรือซีรัม

2. การใช้ความเย็น (cold)

มี 3 วิธีการดังนี้

2.1 ตู้เย็น (refrigeration) ใช้ตู้เย็นธรรมดาอุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ แต่แบคทีเรียที่เจริญได้ในที่เย็นก็ยังคงสามารถเจริญได้

2.2 แช่แข็ง (deep - freezing) อุณหภูมิ - 50 ถึง - 95 องศาเซลเซียส ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อ

2.3 แช่แข็งแบบแห้ง (freeze – drying) (lyophilization) ใช้ในการเก็บรักษา จุลินทรีย์ โดยทำให้แห้งในขณะที่เป็นน้ำแข็งโดยวิธีการทำให้เกิดสุญญากาศ และมีสารดูดความชื้น

ข. วิธีทางเคมี (chemical methods)

ได้แก่ การใช้สารเคมีที่เป็น disinfectants และ antiseptics กลไกการออกฤทธิ์ของ สารเคมีที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อจุลินทรีย์ มีดังนี้ การก่อให้เกิดกระบวนการ coagulation หรือ การเสียธรรมชาติ (d - 7 naturetion) ของโปรตีน การละลายไขมัน การเกิดความเสียหาย ต่อกรดนิวคลีอิก การเพิ่ม permeability ของผนังเซลล์และเยื่อหุ้ม เซลล์ซึ่งอาจทำให้เซลล์แตกและเกิดกระบวนการ alkylation oxidation เป็นต้น

สารเคมีที่เป็น disinfectants และ antiseptics สามารถแบ่งได้ตามประสิทธิภาพ โดย แบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้

- high level disinfectants (HLD) มีความสามารถในการฆ่าจุลินทรีย์ต่างๆ รวมทั้งสามารถทำลายสปอร์ได้
- intermediate level disinfectants (MLD) มีความสามารถในการฆ่าจุลินทรีย์ ต่างๆ ได้ แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้
- low level disinfectants (LLD) ทำลายแบคทีเรียที่เป็นเซลล์ปกติ รวมทั้ง แบคทีเรียที่มีความไวในการถูกทำลาย บางชนิด และไม่สามารถทำลายสปอร์ได้

2.3.4 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ (mode of action of antimicrobial agents)

กระบวนการที่จุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือทำลายด้วยวิธีการต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้วมีสาเหตุมา จากการทำลายส่วนต่างๆ ของเซลล์ของจุลินทรีย์ คือ

1. ทำลายผนังเซลล์หรือยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

พบว่า ผนังเซลล์ของแบคทีเรียถูกทำลายได้ด้วยเอนไซม์ ไลโซโซม (lysozome) ที่พบ ใน น้ำตา เม็ดเลือดขาว เมือก เป็นต้น โดยเอนไซม์นี้จะไปย่อยสลายโครงสร้างของ ผนังเซลล์ ทำให้เซลล์แตก (lysis)

สารเคมีบางชนิดอาจไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโต มีผลทำให้โพรโทพลาส (protoplast) ซึ่งทำให้เซลล์แตกในที่สุด สารเคมีชนิดนี้ ได้แก่ Penicillins , Cephalosporins , D – cycloserine , Bacitracin , Vancomycin , Fosfomycin

2. เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยชั้น โปรตีน – ไลปิด – โปรตีน ซึ่งห่อหุ้ม

ไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร สารต้านจุลินทรีย์ชนิดนี้จะเข้าแทรกระหว่างชั้นโปรตีนกับไลปิด ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายที่เกิดการรั่วของสารในไซโทพลาสซึมออกมาทำให้เซลล์ตาย สารเคมีชนิดนี้ได้แก่ ฟีนอล (phenol) สารซักฟอก สบู่ และยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Polymyxin B , Colistin

3. เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีน

เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์ประกอบด้วย โปรตีน ถ้ามีสารเคมีหรือสภาพใดๆ ทำให้โปรตีนเปลี่ยนไปจากสภาพธรรมชาติ (denature) จะมีผลทำลายเซลล์ไม่ให้เจริญเติบโต หรือทำลายจุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิสูง ทำให้โปรตีนตกตะกอน และแข็งตัว สารเคมีชนิดนี้ได้แก่ กรด ต่าง แอลกอฮอล์ ยาได้แก่ Chloramphenicol , Tetracyclines , Erythromycin , Lincomycin เป็นต้น

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์ต่างๆ จำเป็นในปฏิกิริยาเคมีของกระบวนการเมทาบอลิซึมในเซลล์ ดังนั้นถ้ามีตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) จะมีผลต่อกระบวนการต่างๆ เช่น กระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) วัฏจักรเครปส์ (Kreb's tricarboxylic acid cycle) และระบบไซโตโครม (Cytochrome system) สารชนิดนี้ได้แก่ ไซยาไนด์ ยับยั้งไซโตโครม ออกซิเดสฟลูออไรด์ ยับยั้งไกลโคไลซิส เป็นต้น สารที่เป็นออกซิไดซิง เอเจนต์ (oxidizing agent) เช่น ฮาโลเจน (halogens) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ยา เช่น Sulfonamides , Trimethoprim , P - Aminosalicylic acid นอกจากนี้ยังมีไอออนของโลหะ เช่น เงิน ทองแดง และปรอท ซึ่งในสารเหล่านี้ ไอออนของโลหะมีฤทธิ์รุนแรงที่สุด โดยเฉพาะปรอท

5. การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (nucleic acid)

สารบางอย่างมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA โดยสารนั้นจะไปขัดขวางการสร้างหน่วยพื้นฐานของกรดนิวคลีอิก คือ พิวรีนและพิริมิดีน และไปขัดขวางการรวมตัวของนิวคลีโอไทด์ โดยการยับยั้งการนำ thymine ทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบูรณ์ ซึ่งมีผลให้กระบวนการเมทาบอลิซึม ผิดปกติและทำให้เซลล์ถูกทำลาย สารเคมีชนิดนี้ได้แก่ Nalidixic acid ยาได้แก่ Actinomycin Rifampicin , Quinolone และ Novobiocin

2.3.5 ขอบข่ายการต่อต้านจุลินทรีย์ (spectrum of activity)

หมายถึง ความสามารถของสารเคมีชนิดหนึ่งในการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้มาก หรือน้อยชนิด สารเคมีที่ออกฤทธิ์ได้กว้าง (broad spectrum) หมายถึง สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทุกชนิด เช่น Tetracyclines , Chloramphenicol เป็นต้น สารเคมีที่ออกฤทธิ์ได้แคบ (narrow spectrum) หมายถึง สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้น้อยชนิด ซึ่งจะให้ได้ผลกับแบคทีเรียประเภทแกรมบวก (gram positive) เช่น Penicillins เป็นต้น

2.3.6 สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agents)

1. แบ่งตามแหล่งที่มาได้ 3 ประเภท คือ

1.1 สารเคมี (chemicals) ใช้สำหรับฆ่า หรือยับยั้งจุลินทรีย์นอกร่างกาย (antiseptics) ฆ่าเชื้อบนสิ่งของ (disinfectants) หรือใช้เป็นสารรักษาสภาพ (preservatives) เช่น แอลกอฮอล์ ไอโอดีน เป็นต้น

1.2 สารปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารที่สร้างจากสิ่งมีชีวิต สามารถฆ่า หรือยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เช่น Tetracyclines , Penicillins เป็นต้น

1.3 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural products) หมายถึง สารที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช , สมุนไพร , สัตว์ หรือแหล่งแร่ธาตุ เป็นต้น

2. การออกฤทธิ์ต่อต้านจุลินทรีย์

แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

2.1 แบบยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (bacteriostatic drug) หมายถึง ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ แต่ทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต

2.2 แบบฆ่าทำลายแบคทีเรีย (bactericidal drug) หมายถึง สารที่ฆ่าแบคทีเรีย โดยไม่สามารถเจริญและแพร่พันธุ์ได้ โดยจะทำลายส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ ได้แก่ DNA หรือผนังเซลล์ ซึ่งเป็นการทำลายอย่างถาวร

2.3.7 ตัวแปรที่มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

1. ความเข้มข้นของสารทำลายเชื้อ (concentration)

ความเข้มข้นของสารทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทำลายโดยทั่วไป สารทำลายเชื้อที่มีความเข้มข้นสูง จะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ความเข้มข้นต่ำจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่านั้น มีข้อยกเว้นในบางกรณี เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น

2. ระยะเวลา (time)

ระยะเวลาที่สารทำลายสัมพันธ์กับเชื้อ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมี รวมทั้งชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์

3. อุณหภูมิ (temperature)

ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราเร็วของปฏิกิริยาทางเคมีจะเพิ่มขึ้นด้วย และสารทำลาย เชื้อจะออกฤทธิ์ได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกว่าเดิม

4. สภาพแวดล้อม

เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในหนอง เลือด เสมหะ อุจจาระ หรือสารอินทรีย์ต่างๆ จะห่อหุ้มจุลินทรีย์เอาไว้ มีผลให้สารทำลายเชื้อไม่สามารถเข้าถึงตัวจุลินทรีย์ได้ และสารเคมีบางชนิดเมื่อรวมตัวกับสารอินทรีย์จะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้ออ่อนลง

2.3.8 วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ สามารถทำได้หลายวิธี โดยมีวิธีหลัก 2 วิธี คือ diffusion test และ dilution test ซึ่งในการทดสอบจำเป็นต้องคำนึงถึงผลกระทบจากสิ่งต่อไปนี้ คือ การเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวนของ inoculum ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ และชนิดของเชื้อที่ต้องการทดสอบ

1. diffusion test

คือ การทดสอบโดยการให้สารต้านจุลินทรีย์ซึมเข้าไปในเนื้อวุ้น แล้วดูการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรียซึ่งอยู่บนผิววุ้น หรือผสมอยู่ในเนื้อวุ้น สารต้านจุลินทรีย์ที่ใส่อาจอยู่ในรูปของ disc คือ ใช้กระดาษกรองชุบสารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งนิยมทำเป็นรูปกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หรืออยู่ในรูปเม็ดยา หรือเจาะเป็นหลุมในวุ้นแล้วหยอดสารต้านจุลินทรีย์ลงไป สารต้านจุลินทรีย์จะซึมเข้าวุ้น แผ่รัศมีโดยรอบ โดยมีปริมาณลดลงตามสัดส่วนกับระยะห่างจากจุดเริ่มต้น แบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วย ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่ไม่มีแบคทีเรียเจริญ ตั้งแต่บริเวณนั้นจะเกิดเป็นวงว่าง เรียกว่า zone of inhibition การทดสอบโดยหลักการนี้ มีใช้อย่างกว้างขวางอยู่ 2 วิธี คือ disc diffusion method เป็นวิธีที่นำมาใช้สำหรับวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ทราบปริมาณในรูปของ disc หรือ tablet และ agar diffusion method เป็นวิธีที่นำมาใช้สำหรับวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์จากแหล่งอื่นๆ เช่น จากชีรุ่ม ปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง หรือตรวจสารต้านจุลินทรีย์ เพื่อวัตถุประสงค์อื่นที่ไม่เกี่ยวกับผู้ป่วย วิธีนี้สิ่งที่ต้องตรวจ คือ สารต้านจุลินทรีย์ซึ่งจะใส่ลงในหลุม และแบคทีเรียที่จะนำมาใช้ต้องเป็นที่ทราบความไวแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. dilution method

หลักการของวิธีนี้ คือ เจือจางสารต้านจุลินทรีย์เป็นปริมาณจากมากไปหาน้อย ใช้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (minimum inhibitory concentration , MIC) อาจทำได้ 2 วิธี คือ

2.1 วิธีเจือจางในอาหารเหลว (tube dilution method) ทำโดยเจือจางสารเคมีเป็น 2 เท่า (two – fold dilution) ในอาหารเหลว แล้วเติมเชื้อทดสอบลงไปเท่าๆ กัน ทุกหลอด นำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 – 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดความขุ่นด้วย nephelometer

2.2 วิธีเจือจางในอาหารแข็ง (agar dilution method) ทำโดยการเจือจางสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วผสมกับอาหารวุ้นขณะที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45–55 องศาเซลเซียส แล้วเทลงจานแก้วให้สารเคมีและวุ้นผสมเข้าด้วยกัน สามารถผสมสารเคมีกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นตามต้องการ เมื่อวุ้นแข็งแล้ว นำเชื้อที่ต้องการมาทดสอบ โดยใช้ loop หรือ multipoint inoculator มาแตะเป็นจุดๆ โดยให้มีความห่างพอสมควร ให้เริ่มเพาะเชื้อในงานที่มีความเข้มข้นต่ำก่อน ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนจานอาหารเดียวกันได้

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยานั้น ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ทั้งทางเคมีและกายภาพที่มีผลต่อกิจกรรม (activities) ของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโต ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญและมีอิทธิพลต่อจุลินทรีย์ ได้แก่

1. อุณหภูมิ มีผลต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์คือ ที่อุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ (maximum temperature) ปฏิกริยาเคมีและเอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์จะเกิดในอัตราที่เร็วขึ้น แต่ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และ ส่วนประกอบของเซลล์ซึ่งไวต่ออุณหภูมิอาจถูกทำลาย ส่วนอุณหภูมิต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ (minimum temperature) ปฏิกริยาเอนไซม์ในเซลล์จุลินทรีย์หลายชนิดจะลดลง อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) จะช่วยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและเพิ่มจำนวนได้มากที่สุด
2. ความเป็นกรด – ด่าง (pH) ค่าความเป็นกรด – ด่าง จะมีความสำคัญต่อ การทำงานของเอนไซม์ โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วง pH ของการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH 5 – 9
3. ออกซิเจน จุลินทรีย์มีการใช้หรือทนต่อออกซิเจนได้แตกต่างกัน สามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็นกลุ่มๆ ได้ดังนี้

3.1 แอนแอโรบ (anaerobes) คือ จุลินทรีย์ที่มีระบบหายใจที่ไม่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (terminal electron acceptor) แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

3.1.1 facultative anaerobe จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะทนต่อออกซิเจน แม้ว่าจะไม่สามารถใช้พลังงานจากการหมัก (fermentation)

3.1.2 obligate anaerobes จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะถูกทำลาย โดยออกซิเจน

3.2 แอโรบ (aerobes) เป็นจุลินทรีย์ที่ได้พลังงานจากการหายใจ โดยใช้ออกซิเจนไปรับอิเล็กตรอนในกระบวนการ oxidative phosphorylation แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

3.2.1 obligate aerobes จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะเจริญเติบโตได้ในบริเวณที่มีออกซิเจนเท่านั้น

3.2.2 facultative aerobes เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการหรือไม่ต้องการออกซิเจน แต่เจริญเติบโตได้ดีในปริมาณที่มีออกซิเจน

3.2.3 microaerophile เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในระดับต่ำกว่าบรรยากาศ (ธีรชัย รัตนันต์ , 2540 : 32 - 42 อ้างโดย คารภาพ ตั้งสุภาพ , 2544 : 16-25)

2.4 โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol)

โพลีไวนิลแอลกอฮอล์เป็นตัวอย่างหนึ่งของโพลิเมอร์ที่เตรียมขึ้นโดยอาศัยปฏิกิริยาโพลิเมอร์ เพราะไวนิลแอลกอฮอล์ไม่สามารถสกัดออกมาจากปฏิกิริยาได้ เมื่อเกิดขึ้นจะเปลี่ยนไปเป็น คีโต เทาโทเมอร์ (Keto tautomer) ที่เสถียรกว่า

คุณสมบัติและการนำไปใช้ประโยชน์

สมบัติทางกายภาพของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ขึ้นกับปริมาณของแอลกอฮอล์ลิซิส โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ - OH 100% มีแรงเทนไซล์สูงกว่าและสามารถทนทานต่อการฉีกขาดได้ดีกว่า โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ - OH ไม่ถึง 100% เพราะโพลิเมอร์ที่มีหมู่ - OH 100% มีความเป็นผลึกสูงกว่าและเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลมากกว่า นอกจากนี้แล้วสมบัติทางกายภาพยังขึ้นกับความชื้นของสิ่งแวดล้อมด้วย เพราะน้ำทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์สำหรับโพลิเมอร์นี้ เช่น เมื่ออากาศมีความชื้น 50% แรงเทนไซล์ของโพลิเมอร์นี้จะลดลงแต่ความสามารถในการยึดตัวออกจะเพิ่มมากขึ้นเปรียบเทียบกับโพลิเมอร์ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นต่ำ

โพลีไวนิลแอลกอฮอล์จะสลายตัวลงก่อนอุณหภูมิหลอมตัว เมื่อให้ความร้อนกับโพลิเมอร์นี้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส จะเริ่มสูญเสีย H - O - H จากหมู่ - OH ที่อยู่เคียงข้างกันในโมเลกุลก่อให้เกิดความไม่อึดตัวขึ้น ถ้ามีพันธะคู่เกิดขึ้นมาก โพลีไวนิลแอลกอฮอล์จะเกิดมีสีขึ้นได้

สมบัติพิเศษอย่างหนึ่งของโพลิไวนิลแอลกอฮอล์คือโพลิเมอร์นี้สามารถละลายในน้ำได้โดยละลายอย่างช้าๆ ในน้ำเย็นแต่จะละลายเร็วขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ และทั่วไปจะสามารถละลายได้หมดที่อุณหภูมิสูงกว่า 90 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลายในน้ำของแอลกอฮอล์ก็ขึ้นกับปริมาณของหมู่ - OH 88% ในโมเลกุล แต่ถ้ามีร้อยละของหมู่ - OH สูงกว่านี้ ความสามารถในการละลายก็ลดลงตามลำดับเพราะเกิดพันธะไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นตามลำดับ

การใช้งานของโพลิไวนิลแอลกอฮอล์แบ่งกว้างๆ ได้เป็น 2 ลักษณะ ลักษณะแรกอาศัยสมบัติการละลายได้ในน้ำของโพลิเมอร์นี้ เช่น ใช้เป็นตัวช่วยทำให้ระบบอิมัลชันและแขวนลอยต่างๆ ขึ้นขึ้น (เรียกว่าใช้เป็น thickening agent) และใช้เป็น adhesives ลักษณะที่สองอาศัยความไม่สามารถละลายในน้ำของโพลิเมอร์นี้ไปเป็นโพลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้

โพลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ฟอร์มัลอยู่ด้วยนี้สามารถดูดน้ำและความชื้นเป็นอย่างดี (ประมาณ 30 % โดยน้ำหนัก) และดีกว่าโพลิเมอร์ทั่วไปอื่นๆ จึงใช้เป็นเส้นใยแทนฝ้ายได้ ฝ้ายที่ทำด้วยเส้นใยโพลิไวนิลแอลกอฮอล์นี้ สวมใส่สบาย ซักง่าย แห้งง่าย ทนต่อการสึกหรอ และสามารถคงรูปได้เป็นอย่างดี (ชัยวัฒน์ เจนวานิชย์ , 2527 : 328-330)

2.5 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxy methyl cellulose)

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) จัดเป็นโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ สาร CMC มีคุณสมบัติคือ เป็นสารเพิ่มความหนืด และช่วยในการยึดเกาะ ละลายได้ในน้ำ ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ ไม่เปลี่ยนแปลงความหนืดเมื่อทิ้งนานๆ ทำหน้าที่เป็นตัวคงสภาพ สารแขวนลอยและสารยึดเกาะ ให้ฟิล์มที่ใสและแข็งแรง ไม่ละลายในน้ำมัน ไขมันและสารอินทรีย์ มีความคงทนต่อสารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าสารธรรมชาติ ไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติแม้เก็บไว้เป็นเวลานาน และเป็นสารที่มีแคลอรีต่ำ

ปัจจุบันพบว่ามีคนนำ CMC ไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ดังนี้ อุตสาหกรรมผงซักฟอกอาหาร การขูดเจาะ สิ่งทอ กระดาษ ยาและเวชภัณฑ์ สีทา เซรามิก กาว และมีแนวโน้มที่จะขยายตัว ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะอาหารและเครื่องดื่ม ที่มีแคลอรีต่ำเพื่อการลดน้ำหนัก นอกจากนี้ยังนำ CMC ไปใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีก เช่น อุตสาหกรรมไม้อัด ซีเมนต์ ลวดเชื่อมไฟฟ้า ดินสอ วัตถุระเบิด บุหรี่ หนังกาย เครื่องสำอาง ของใช้ประจำวัน ได้แก่ ยาสีฟัน โฟมล้างหน้า โลชั่นและอื่นๆ (ศิริไลน ขุนทน และคณะ , 2541)

2.6 ไฮโดรเจล (hydrogel)

ไฮโดรเจล เป็นวัสดุที่สามารถดูดซับน้ำไว้ภายในโครงสร้างได้ โดยไม่เกิดการละลาย ซึ่งอาจเรียกรูปแบบของวัสดุประเภทนี้ในสถานะแห้งว่า xerogels (Giuliano , F. et.al. , 1999) ภายในโครงสร้างของไฮโดรเจล จะมีพันธะเชื่อมโยง 3 มิติ เป็นร่างแห ทำให้ไฮโดรเจลสามารถดูดซับน้ำโดยไม่เกิดการละลาย ไฮโดรเจลที่ได้จากธรรมชาติ เช่น วุ้น (agar) เจลาติน หรือได้จากการสังเคราะห์ เช่น โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) สามารถดูดน้ำเข้าไปอยู่ภายในโครงร่างตาข่ายได้ 90 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่า ไฮโดรเจลยังได้จากการสังเคราะห์ โพลีเมอร์หรือโมโนเมอร์

คุณสมบัติของไฮโดรเจลและการนำไปใช้งาน

ไฮโดรเจลสามารถดูดซับน้ำและไอออนได้ โดยสมบัติเชิงกลและรูปร่างไม่เปลี่ยนแปลงซึ่งสมบัติดังกล่าวคล้ายคลึงกับอวัยวะบางส่วนในร่างกายคน เช่น กล้ามเนื้อ เอ็น ลำไส้เล็ก เป็นต้น นอกจากนี้ไฮโดรเจลยังมีคุณสมบัติเข้ากันได้ดีกับสารชีวภาพ เช่น เลือด น้ำเหลือง เนื้อเยื่อ จึงสามารถนำมาทำเลนส์สัมผัส วัสดุตกแต่งบาดแผลจากไฟไหม้ ตลอดจนใช้เคลือบวัสดุที่ต้องนำมาใช้สัมผัสกับร่างกายใช้เคลือบอวัยวะเทียมที่ใช้ในร่างกาย



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัสดุ

1. รังไหมพันธุ์พื้นเมืองที่เหลือจากการสาวไหม
2. เชื้อจุลินทรีย์
 - *Escherichia coli*
 - *Bacillus subtilis*
 - *Staphylococcus aureus*
3. สารเคมีและวัสดุอื่นๆ
 - nutrient agar (NA)
 - nutrient broth (NB)
 - polyvinyl alcohol (PVA)
 - carboxy methyl cellulose (CMC)
 - แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
 - กระดาษกรอง (blank paper discs) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.1.2 อุปกรณ์

1. หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว (tube)
2. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร (pipett)
3. บีกเกอร์ (beaker)
4. ขวด + ฝาเกลียว ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. เข็มเขี่ยเชื้อ (loop)
6. จานเพาะเชื้อ (plate)
7. ไมโครปิเปต (micropipett)
8. เครื่องเขย่าหลอด (vortex mixer)

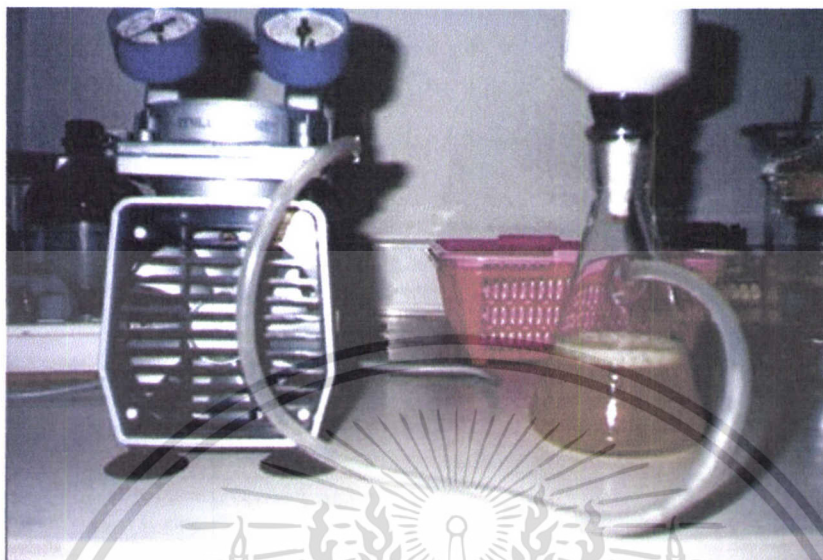
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
10. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
11. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
12. เครื่องวัดความขุ่น (spectrophotometer)
13. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3.2 วิธีการ

3.2.1 ขั้นตอนการสกัดเซริซิน (sericin)

- 3.2.1.1 เลือกรังไหมที่สะอาดไม่มีฝุ่นละออง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนัก 25 กรัม นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 1 ครั้ง
- 3.2.1.2 นำรังไหมที่สะอาดแล้วใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:20 แช่ไว้ ประมาณ 20 นาที
- 3.2.1.3 นึ่ง ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 3.2.1.4 นำน้ำสกัดรังไหมที่ได้ มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และเบอร์ 4 โดยใช้ เครื่องกรองแบบสุญญากาศ และจะต้องกรองในขณะที่น้ำสกัดยังร้อน (แสดง ไว้ดังภาพที่ 4)
- 3.2.1.5 แบ่งน้ำสกัดรังไหมที่ผ่านการกรองใส่ในขวดก้นกลม ความจุ 250 - 300 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นห่อด้วยกระดาษฟอยล์ (foil) จึงนำไปแช่แข็งที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วนำไปทำให้แห้งและเป็นผงด้วยเครื่อง freeze dryer เป็นเวลา 3-5 วัน จึงจะได้เซริซินที่สกัดจากรังไหม วิธีการกรองและการทำให้เซริซินแห้งและเป็นผง (แสดงไว้ดังภาพที่ 5)



ภาพที่ 4 การกรองน้ำต้มใหม่ผ่านเครื่องกรองแบบสุญญากาศ



ภาพที่ 5 การผลิตเซริซินให้แห้งและเป็นผงโดยใช้เครื่อง freeze dryer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 ขั้นตอนการเตรียม polyvinyl alcohol (PVA) ผสม เซลลูโลส

- 3.2.2.1 ชั่ง PVA 10 กรัม ผสมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (9.9%) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อน 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที
- 3.2.2.2 ชั่ง เซลลูโลส 2 กรัม ละลายน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร (5%) แล้วใช้ปิเปตดูด 20 มิลลิลิตร เพื่อนำไปผสมกับสารละลาย PVA
- 3.2.2.3 นำสารละลาย PVA และ เซลลูโลส ผสมรวมกันในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 20 มิลลิลิตร จำนวน 4 หลอด
- 3.2.2.4 นำสารละลาย PVA ที่ได้ผสม เซลลูโลส ทั้ง 4 หลอด พ่นก๊าซไนโตรเจน 5 นาที เพื่อไล่ฟองอากาศ แล้วจึงนำไปฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0, 20 และ 40 กิโลเกรย์
- 3.2.2.5 นำไปตรวจผลทางกายภาพ และทดสอบพฤติกรรมการต้านเชื้อของจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่าง PVA และ เซลลูโลส

3.2.3 ขั้นตอนการเตรียม carboxy methyl cellulose (CMC) ผสม เซลลูโลส

- 3.2.3.1 ชั่ง CMC 5 กรัม ละลายน้ำอุ่น 95 มิลลิลิตร (5%) จนเป็นเนื้อเดียวกัน
- 3.2.3.2 นำสารละลาย CMC (จากข้อ 3.2.3.1) ผสมกับสารละลายเซลลูโลส ที่เตรียมไว้ 20 มิลลิลิตร (จากข้อ 3.2.2.2) จากนั้นจึงแบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 20 มิลลิลิตร จำนวน 4 หลอด
- 3.2.3.3 นำสารละลายที่ได้ (จากข้อ 3.2.3.2) ไปพ่นก๊าซไนโตรเจน นาน 5 นาที แล้วนำไปฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0, 20 และ 40 กิโลเกรย์
- 3.2.3.4 นำไปตรวจผลทางกายภาพ และทดสอบพฤติกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารผสมระหว่าง CMC และเซลลูโลส

3.2.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.2.4.1 การเตรียมอาหารแข็ง (NA) ชั่ง nutrient agar 4 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ต้มจนละลายโดยใช้ไมโครเวฟ จากนั้นบรรจุลงในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาณขวดละ 100 มิลลิลิตร จำนวน 4 ขวด

- 3.2.4.2 การเตรียมอาหารเหลว (NB) ชั่ง nutrient broth 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร นำส่วนผสมทั้งหมดต้มจนละลายโดยใช้ ไมโครเวฟ จากนั้นถ่ายใส่หลอดทดลอง ปริมาตรหลอดละ 9 มิลลิลิตร
- 3.2.4.3 นำอาหารแข็ง (NA) (จากข้อ 3.2.4.1) และ อาหารเหลว (NB) (จากข้อ 3.2.4.2) นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2.5 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบเป็นเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* เตรียมโดยการ subculture เชื้อจาก stock แล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีค่าเท่ากับ 1.6×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยนำเชื้อมาวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ต้องอยู่ระหว่าง 0.01-0.02

3.2.6 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

- 3.2.6.1 คูณ 1 มิลลิลิตร ของเชื้อที่เตรียมได้ (จากข้อ 3.2.5) ใส่ในขวดอาหารแข็ง (NA) (ในข้อ 3.2.4.1) แล้วปิดฝาขวดเขย่าให้เชื้อกระจายทั่ว จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาณ 20-25 มิลลิลิตรต่อจาน รอจนอาหารแข็ง
- 3.2.6.2 กำหนดตำแหน่งการวางแผ่น disk ที่จุ่มตัวอย่างสารละลายที่ต้องการ ทดสอบวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้
- ตำแหน่ง a คือ สารละลาย PVA หรือ สารละลาย CMC
 - ตำแหน่ง b คือ สารละลาย PVA ผสม สารละลายเซริซิน หรือ สารละลาย CMC ผสม สารละลายเซริซิน โดยไม่ได้ฉายรังสี
 - ตำแหน่ง c คือ สารละลาย PVA ผสม สารละลายเซริซิน หรือ สารละลาย CMC ผสม สารละลายเซริซิน ที่ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์
 - ตำแหน่ง d คือ สารละลาย PVA ผสม สารละลายเซริซิน หรือ สารละลาย CMC ผสม สารละลายเซริซิน ที่ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์
- ให้วางตัวอย่างที่จะใช้ในการทดสอบตามลำดับของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด

3.2.6.3 จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อที่วางแผ่น disk ที่จุ่มสารต่างๆ (ในข้อ3.2.6.2) ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง แล้วทำการวัดบริเวณโปร่งใส (clear zone) ที่เกิดจากฤทธิ์การต้านเชื้อชนิดนั้นๆ

3.2.7. ขั้นตอนการตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

นำจานเพาะเชื้อที่ผ่านการบ่ม (incubate) (จากข้อ3.2.6.3) มาตรวจวัดบริเวณใสที่เกิดขึ้นในวงรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความกว้างของบริเวณใส จากสูตร

$$W = (T-D) / 2$$

เมื่อ W คือ ความกว้างของบริเวณใส (clear zone) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

T คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมดของตัวอย่างรวมกับบริเวณใส มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

D คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาจุลศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และอาคารปฏิบัติการกองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2545 – ตุลาคม 2545

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. จากการศึกษาขั้นตอนและวิธีการสกัดเซริซินจากรังไหม เพื่อที่จะใช้ในการทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยได้นำรังไหมพันธุ์พื้นเมืองมาทำการสกัด ดึงได้กล่าวขั้นตอนและวิธีการสกัดไว้ในวิธีดำเนินการทดลอง (จากข้อ 3.2.1)

ผลการสกัดพบว่าภายหลังการทำให้แห้งและเป็นผงโดยใช้เครื่อง freeze dryer จะได้เซริซินที่มีลักษณะเป็น เก็ดตต่างๆ น้ำหนักเบา สีเหลืองเข้ม สามารถละลายน้ำได้บางส่วน ลักษณะทั่วไปของเซริซินที่สกัดได้จากรังไหม แสดงไว้ในภาพที่ 6

2. ผลของรังสีแกมมาต่อสารละลาย PVA ผสม สารละลายเซริซิน และสารละลาย CMC ผสม สารละลายเซริซิน

จากการนำเซริซินที่สกัดได้จากรังไหม ผสมกับสารละลาย polyvinyl alcohol (PVA) และ carboxy methyl cellulose (CMC) เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และได้ทำการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ ผลการตรวจสอบของสารละลายทั้ง 2 ชนิด ทั้งก่อนและหลังการฉายรังสี จะเห็นได้ว่าลักษณะทั่วไปจะมีความแตกต่างกันมาก โดยเฉพาะสารละลาย PVA ที่ผสมสารละลายเซริซิน ที่ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์ จะมีลักษณะเป็นเจลหนืดมีรูปทรงตามหลอดทดลองที่ใส่ มีฟองอากาศเล็กน้อย มีความข้น และยืดหยุ่นได้ ส่วนสารละลาย PVA ที่ผสมสารละลายเซริซิน ที่ไม่ได้ฉายรังสี จะมีสีเหลืองขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย และ ที่ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์ จะมีความหนืดมาก แต่ไม่จับตัวกันเป็นก้อนสามารถเทออกจากหลอดทดลองได้

ส่วนสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเซริซินที่ ไม่ได้ฉายรังสี จะมีความเหลว สีเหลืองขุ่น และที่ฉายรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น ด้านล่างหลอดทดลองมีตะกอนสีเหลือง โดยสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลาย เซริซิน ที่ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์ จะมีความหนืดมากกว่าที่ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์ เล็กน้อย และสามารถเทออกจากหลอดทดลองได้ ลักษณะทางกายภาพของสารผสมทั้ง 2 ชนิด แสดงไว้ในตารางที่ 4 และตารางที่ 5



ภาพที่ 6 ลักษณะทั่วไปของ โปรตีนไหมเซรีซิน (sericin) ที่สกัดจากรังไหม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของสารผสมระหว่างสารละลาย PVA และสารละลายเซริซิน ก่อนและหลัง จากการฉายรังสีในปริมาณที่ต่างกัน

dose (kGy)	สารผสม PVA และ เซริซิน ก่อนการฉายรังสี	สารผสม PVA และ เซริซิน หลังการฉายรังสี
0	สีเหลืองขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	สีเหลืองขุ่น มีความหนืดเล็กน้อยและมีตะกอนสีเหลือง
20	สีเหลืองขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	มีลักษณะเป็นเจลหนืดมาก แต่ไม่จับตัวเป็นก้อน มีความหนืดมากขึ้น ค่อนข้างไหลได้ดี และมีการตกตะกอนสีเหลือง
40	สีเหลืองขุ่น มีความหนืดเล็กน้อย	มีลักษณะเป็นเจลหนืดมีรูปทรงตามหลอดทดลองที่ได้ มีฟองอากาศเล็กน้อย มีความข้นและสามารถยืดหยุ่นได้

ตารางที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของสารผสมระหว่างสารละลาย CMC และสารละลายเซริซิน ก่อนและหลัง จากการฉายรังสีในปริมาณที่ต่างกัน

dose (kGy)	สารผสม CMC และ เซริซิน ก่อนการฉายรังสี	สารผสม CMC และ เซริซิน หลังการฉายรังสี
0	สีเหลืองขุ่น มีความเหลว และไหลได้	สีเหลืองขุ่น มีความเหลวสามารถเทไหลออกได้ดี และมีตะกอนสีเหลือง
20	สีเหลืองขุ่น มีความเหลว และไหลได้	มีลักษณะเป็นเจลใส มีความหนืดเล็กน้อย ด้านล่างหลอดทดลองมีตะกอนสีเหลือง
40	สีเหลืองขุ่น มีความเหลว และไหลได้	มีลักษณะเป็นเจล ไม่มีความหนืด ด้านล่างหลอดทดลองมีตะกอนสีเหลือง

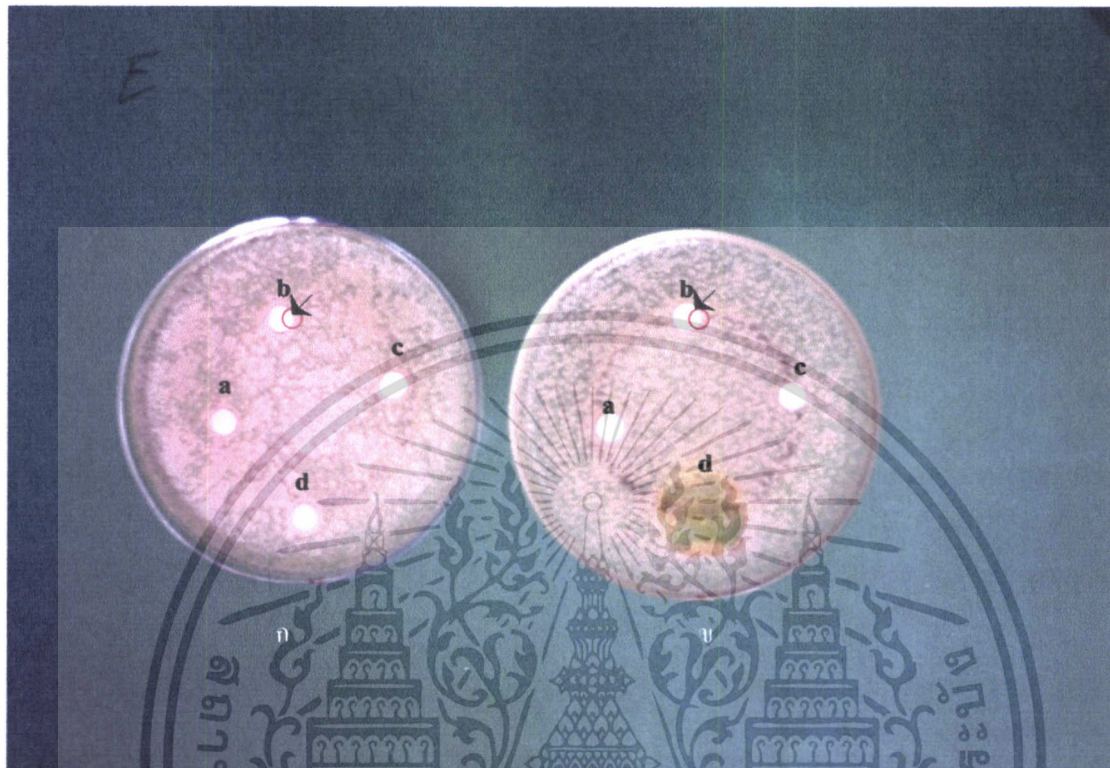
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยได้ทดสอบสารต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E.coli* , *B.subtilis* และ *S.aureus* ซึ่งในการทดสอบได้แบ่งตัวอย่างสารละลายที่ใช้ในการทดสอบออกเป็น 2 ชุด คือ สารละลาย polyvinyl alcohol (PVA) ผสมสารละลายเชริซิน และ carboxy methyl cellulose (CMC) ผสมสารละลายเชริซิน และได้้นำสารละลายทั้ง 2 ตัวอย่าง ฉายรังสีด้วยรังสีแกมมาที่มีปริมาณรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ เพื่อที่จะเปรียบเทียบกับสารละลายที่ไม่ได้ฉายรังสี ดังที่ได้กล่าวไว้ในวิธีดำเนินการทดลอง (จากข้อ 3.2.6)

ผลจากการตรวจสอบประสิทธิภาพการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนำงานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ซึ่งได้ผลการทดลองดังภาพที่ 7 , 8 และ 9

ผลจากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ของสารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน และสารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซิน โดยดูจากบริเวณใส พบว่า ตัวอย่างสารละลายชุดที่ 1 สารละลาย PVA และสารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน ที่ฉายรังสีปริมาณรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ ดังตำแหน่ง a c และ d ตามลำดับ ไม่พบบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ นั้นแสดงว่า สารละลาย PVA และสารละลาย PVA ที่ผสม สารละลายเชริซิน ที่ฉายรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ ไม่มีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ส่วนสารละลาย PVA ที่ผสม สารละลายเชริซิน ที่ไม่ฉายรังสี ดังตำแหน่ง b ผลการตรวจสอบพบว่า มีบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ นั้นแสดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นได้ทำการวัดและคำนวณความกว้างบริเวณใส ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 และ 8

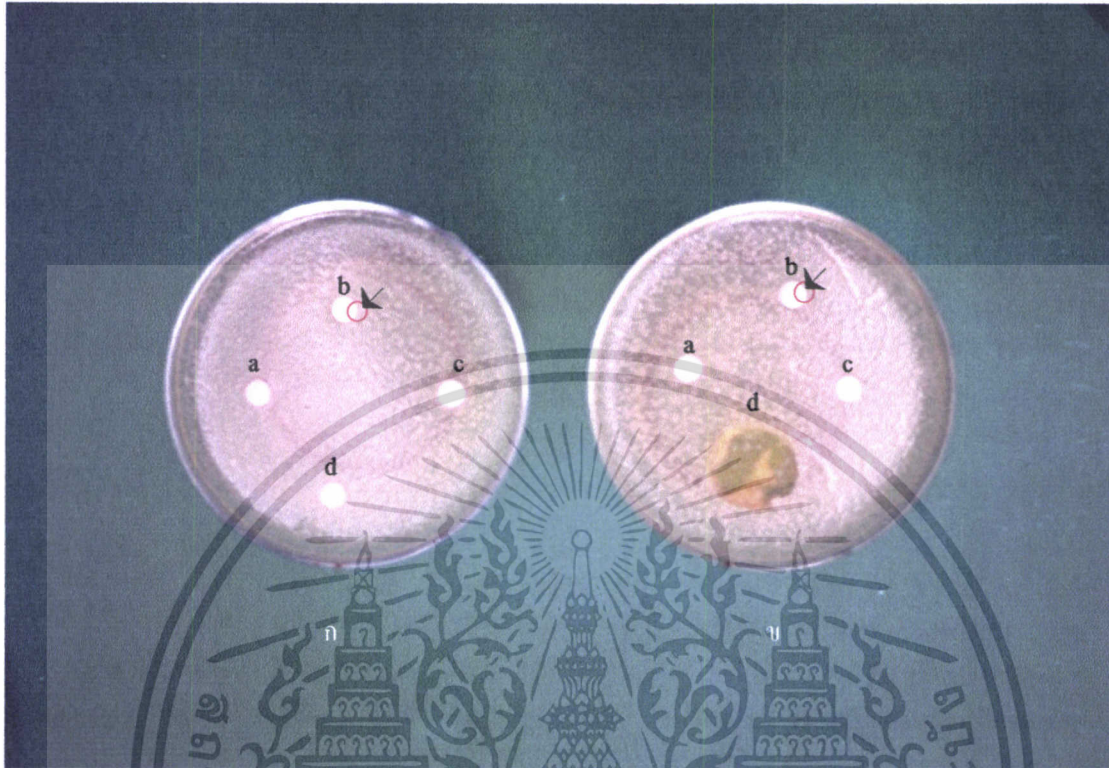
ตัวอย่างสารละลายชุดที่ 2 โดยใช้ตัวอย่างสารละลาย CMC โดยได้ทำการทดสอบและกำหนดการวางแผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ เหมือนชุดที่ 1 ผลการตรวจสอบพบว่าสารละลาย CMC และ สารละลาย CMC ที่ผสม สารละลายเชริซิน ที่ปริมาณรังสี 20 และ 40 กิโลเกรย์ ดังตำแหน่ง a c และ d ตามลำดับ ไม่พบบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ แสดงให้เห็นว่า ไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ส่วนสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเชริซิน ที่ไม่ฉายรังสี ดังตำแหน่ง b ผลการตรวจสอบพบว่า มีบริเวณใสรอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ จากนั้นได้ทำการวัดและคำนวณความกว้างบริเวณใส ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 และ 8



ภาพที่ 7 บริเวณโปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ *E.coli*

- ก : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซิน
- a : สารละลาย CMC
- b : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซิน
- c : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์
- d : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์
- ข : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน
- a : สารละลาย PVA
- b : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน
- c : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์
- d : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเชริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 บริเวณ โปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ *S.aureus*

ก : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน

a : สารละลาย CMC

b : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน

c : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์

d : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์

ข : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน

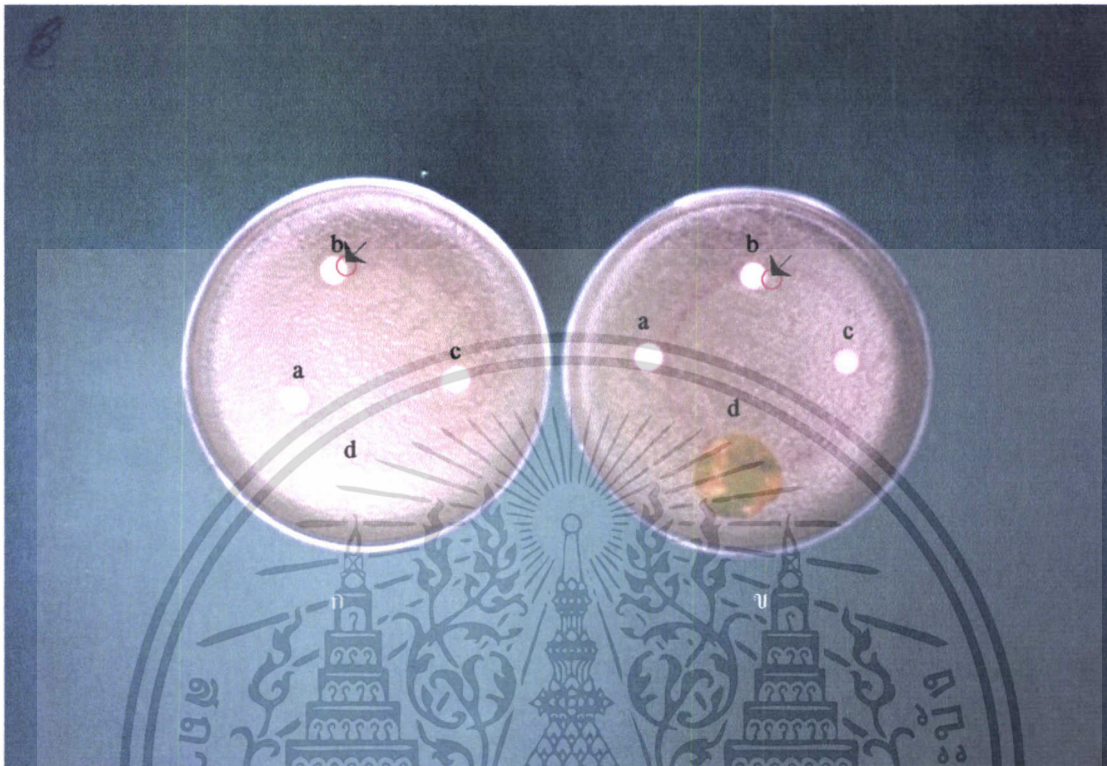
a : สารละลาย PVA

b : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน

c : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์

d : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 บริเวณ โปร่งใส (clear zone) ของเชื้อ *B.subtilis*

ก : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน

a : สารละลาย CMC

b : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน

c : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์

d : สารละลาย CMC ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์

ข : ผลการออกฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน

a : สารละลาย PVA

b : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน

c : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 20 กิโลเกรย์

d : สารละลาย PVA ผสมสารละลายเซริซิน ฉายรังสี 40 กิโลเกรย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลการวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมด ของตัวอย่างร่วมกับบริเวณใส (clear zone) ของสารผสมระหว่างสารละลาย PVA และสารละลายเชริซัน มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ตัวอย่าง	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>		<i>B.subtilis</i>	
	T	D	T	D	T	D
PVA	-	-	-	-	-	-
PVA / เชริซัน	7.5	6	8.0	6	7.0	6
PVA / เชริซัน 20 kGy	-	-	-	-	-	-
PVA / เชริซัน 40 kGy	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 7 ผลการวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมด ของตัวอย่างร่วมกับบริเวณใส (clear zone) ของสารผสมระหว่างสารละลาย CMC และสารละลายเชริซัน มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ตัวอย่าง	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>		<i>B.subtilis</i>	
	T	D	T	D	T	D
CMC	-	-	-	-	-	-
CMC / เชริซัน	9	6	8.0	6	8.5	6
CMC / เชริซัน 20 kGy	-	-	-	-	-	-
CMC / เชริซัน 40 kGy	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

- คือ ไม่พบบริเวณใส (clear zone)
- T คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมดของตัวอย่างร่วมกับบริเวณใส มีหน่วยเป็น มิลลิเมตร
- D คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

ตารางที่ 8 ความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อของสารละลาย PVA และสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเชริซัน ที่ไม่ได้ฉายรังสี

ตัวอย่าง	ความกว้างบริเวณใส (มิลลิเมตร)		
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
PVA / เชริซัน	0.75	1	0.5
CMC / เชริซัน	1.5	1	1.25

จากตารางที่ 6 , 7 และ 8 แสดงว่า สารละลาย PVA ที่ผสมสารละลายเชริซัน และสารละลาย CMC ที่ผสมสารละลายเชริซัน ที่ไม่ได้ฉายรังสี มีฤทธิ์ในการต่อต้านและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E.coli* , *S.aureus* , และ *B.subtilis* ได้ ซึ่งผลการวัดความกว้างบริเวณใสของสารละลาย CMC ผสมสารละลายเชริซัน จะมีความกว้างมากกว่าสารละลาย PVA ที่ผสมสารละลายเชริซัน นั้นแสดงว่า สารละลาย CMC จะต้องมีความสัมพันธ์ที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อที่ดีกว่าสารละลาย PVA

ส่วนสารละลาย PVA และสารละลาย CMC ที่เป็น control และที่ผสมสารละลายเชริซันแล้วฉายรังสีที่ 20 และ 40 กิโลเกรย์ ไม่มีฤทธิ์ในการต่อต้านและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ เนื่องจากปริมาณ dose ของรังสีที่ฉายและความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการทดสอบอาจจะมีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ การออกฤทธิ์การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ อีกหลายประการ เช่น ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ที่เหมาะสม ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ อัตราการซึมผ่านของสารละลายที่ต้องการทดสอบ และความเข้มข้นของสารละลายหรือสารที่ต้องการทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น (มาลิน จุลศิริ : 2540,84)

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากการศึกษาการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย ของสารละลาย 2 ชนิด ได้แก่ สารละลาย PVA และ สารละลาย CMC ที่มีการผสมสารละลายโปรตีนไหมชนิดเซริซิน (sericin) แล้วทำการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0 , 20 และ 40 กิโลเกรย์ โดยทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E.coli* , *S.aureus* และ *B.subtilis* หลังจากทดสอบการต้านเชื้อของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยดูบริเวณใส (clear zone) รอบๆ แผ่น disk ที่ใช้ในการทดสอบ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. สารละลายผสมของ PVA (9.9%) และ เซริซิน (5%) ที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *E.coli* , *S.aureus* และ *B.subtilis* โดยความกว้างของบริเวณใส เท่ากับ 0.75 , 1 และ 0.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายผสมดังกล่าว ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 20 และ 40 กิโลเกรย์ ไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด

2. สารละลายผสมของ CMC (5%) และ เซริซิน (5%) ที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อ *E.coli* , *S.aureus* และ *B.subtilis* ได้ดีกว่าสารละลายผสมของ PVA และเซริซิน โดยความกว้างของบริเวณใส เท่ากับ 1.5 , 1 และ 1.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ในขณะที่สารละลายผสมดังกล่าว ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 20 และ 40 กิโลเกรย์ ไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียจากผงไหมเพื่อที่จะนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ อาจต้องมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย CMC ที่ผสมกับสารละลาย เซริซิน หรือปริมาณรังสีที่ฉายและปริมาณผงไหมที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งทดลองกับสารละลายตัวอื่นๆ และควรมีการเปรียบเทียบระยะเวลาในการตรวจผลเพื่อที่จะเปรียบเทียบผลในการทดลองได้

2. ผงไหมที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นผงไหมที่สกัดจากรังไหมสายพันธุ์เดียว จึงควรมีการเปรียบเทียบกับผงไหมที่สกัดจากรังไหมสายพันธุ์อื่น หรือวัสดุเหลือทิ้งอื่นที่เกี่ยวกับไหม เพื่อที่จะได้ข้อมูลมากยิ่งขึ้น

3. จากผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ที่ต้องการทำวิจัย หรืออาจนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ต่อไปได้



บรรณานุกรม

- เกษตรและสหกรณ์,กระทรวง สถาบันวิจัยหม่อนไหม.2538.เอกสารวิชาการผลิตไหมใหม่.กรุงเทพฯ :
กรมวิชาการเกษตร.53 น.
- ขอนแก่น,มหาวิทยาลัย.2531.จุลชีววิทยาคลินิก:แบคทีเรียวิทยาคลินิก.ขอนแก่น.มหาวิทยาลัย
ขอนแก่น.370 น.
- จรรยา ปิ่นแห่งเพชร.2543.กระบวนการผลิตเส้นไหมคุณภาพ.แพร่ : ศูนย์วิจัยหม่อนไหมแพร่. 139
น.
- ชัยวัฒน์ เจนวนิชย์.2527.เคมีโพลิเมอร์พื้นฐาน.กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.358 น.
- ดาราทพร ตั้งสุภาพ.2544.การศึกษาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การ
ต้านเชื้อแบคทีเรีย.กรุงเทพฯ: ปัญหาพิเศษปริญญาครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.56 น.
- ธีรวิจน์ เสรมฐนันท์.2545.การศึกษาการละลายและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของวัสดุเหลือทิ้งจาก
การสาวไหม.กรุงเทพฯ:ปัญหาพิเศษปริญญาครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิตสถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.50 น.
- นवलแข ปาลิวนิช.2542.ความรู้เรื่องผ้าและเส้นใย.กรุงเทพฯ : ซีเอ็ดยูเคชั่น.352 น.
- บัญญัติ สุขศิริงาม.มปป.จุลชีววิทยาทั่วไป.(พิมพ์ครั้งที่ 3).กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.507 น.
- วิชาการเกษตร,กรม.2523.หม่อน-ไหม.กรุงเทพฯ : วรอุดมการพิมพ์.295 น.
- วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา.2542.วิทยาศาสตร์เส้นใย.กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.314 น.
- วีระ สังคมพิทักษ์.2543.เทคนิคการทำธุรกิจเกษตรหม่อนไหมแผนใหม่.นนทบุรี : วัชรินทร์การ
พิมพ์.237 น.
- ศรีไฉล ขุนทน และคณะ .2541 .การสังเคราะห์คาร์บอซีเมททิลเซลลูโลสจากขานอ้อย .กรุงเทพฯ :
สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุมิตรา เกษมชัยนันท์ และสุรเกียรติ คำตา.2542.การสังเคราะห์ไฮโดรเจลของโพลีไวนิลแอลกอฮอล์
(PVA) และพอลิอะคริลิกแอซิด (PAA) ด้วยการฉายรังสีและทำการปรับปรุงคุณสมบัติโดย
การเติมผงไหม (silk protein) . กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.40 น.

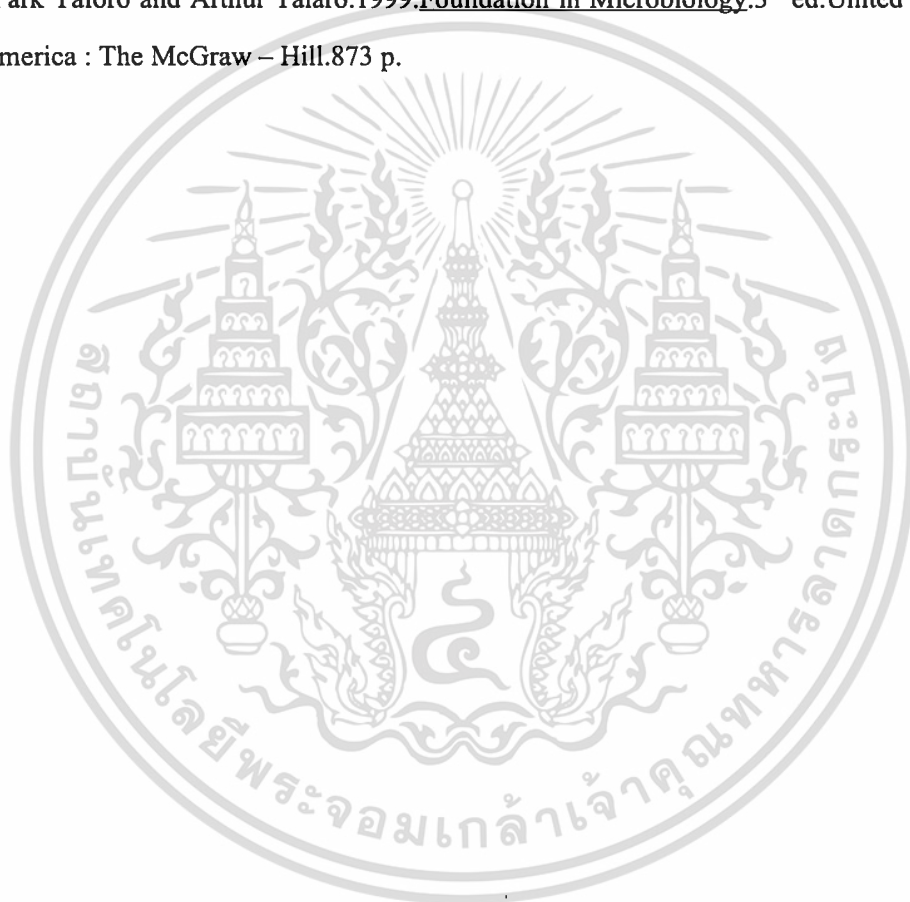
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัจฉราพร ไสละสูตร.2533.ความรู้เรื่องผ้า.กรุงเทพฯ : คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.409 น.

Gerard j. tortora, Berdell R .Funke and Christina L. Case.1992.Microbiology An Introduction. 3rd ed.California : The Benjamin / Cummings.810 p.

Frobishet.1974.Fundamentals of Micibiology.japan : Toppan. 330 p.

Kathleen Park Taloro and Arthur Taloro.1999.Foundation in Microbiology.3rd ed.United State of America : The McGraw – Hill.873 p.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การประเมินการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer

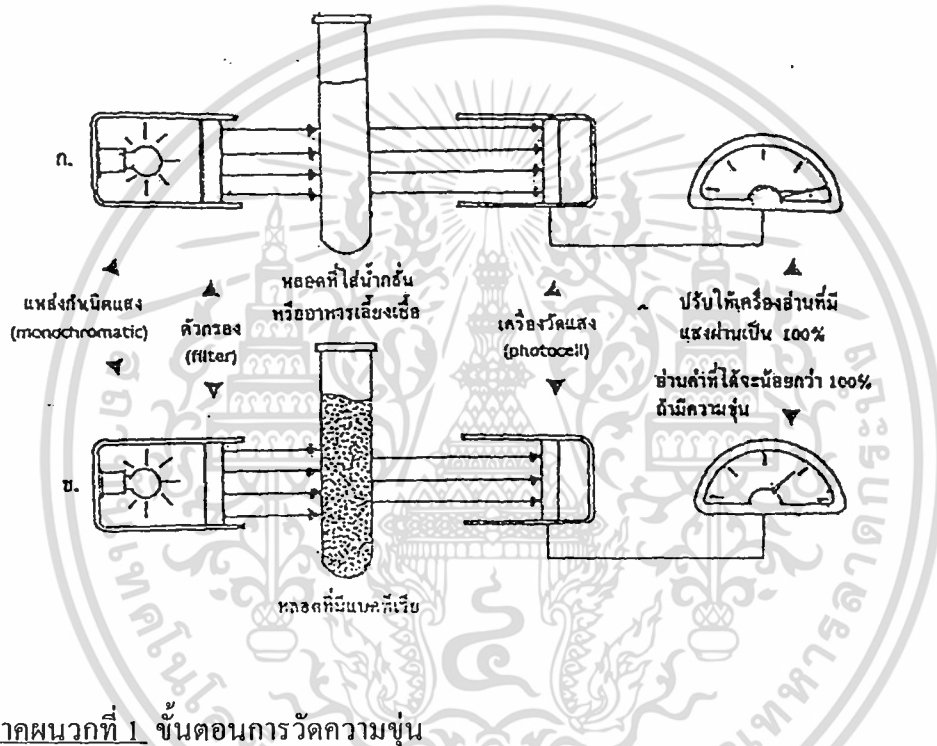
หลักการทำงานของเครื่อง spectrophotometer

spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดปริมาณแสงที่ผ่านทะลุตัวอย่างที่เป็นของเหลว ซึ่งก็คือ อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (liquid medium) ที่ความยาวคลื่นของแสงที่กำหนด และปริมาณแสงนี้จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างสูงขึ้น ซึ่งหมายถึง เมื่อจำนวนเซลล์ในอาหารเหลวเพิ่มขึ้นนั่นเอง องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องแสดงไว้ดังภาพที่ 14

1. แหล่งกำเนิดแสง เป็นแสงจากหลอดไฟซึ่งอาจเป็นทั้งสแตน หรือคิวทิเรียม
2. ปริซึม หรือ diffraction grating เพื่อแยกแสงจากแหล่งกำเนิดออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ เช่น 100–400 นาโนเมตร อยู่ในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต และความยาวคลื่น 400–800 นาโนเมตร อยู่ในช่วงแสงที่มองเห็นได้ (visible region)
3. slit แยกแสงเฉพาะที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับตัวอย่างมากที่สุด
4. cuvette เป็นหลอดหรือภาชนะที่ใช้ใส่ตัวอย่างที่จะวัด อาจทำด้วยแก้วหรือควอทซ์ โดยความกว้างของ cuvette เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งต่อปริมาณแสงที่ผ่านทะลุตัวอย่างออกมา
5. photocell หรือ phototube จะรวบรวมแสงที่ผ่านทะลุ cuvette
6. galvanometer เปลี่ยนแสงที่รวบรวมจาก phototube ให้เป็นพลังงานไฟฟ้าและแสดงบนหน้าปัดในหน่วยสากล

เมื่อใส่ตัวอย่างลงใน cuvette ในช่องวางตัวอย่าง (sample holder) แสงจากแหล่งกำเนิดจะถูกแยกเฉพาะความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับตัวอย่างโดยปริซึม ซึ่งความยาวคลื่นที่เลือกใช้จะต่างกันตามสีของเหลวตัวอย่าง เช่น ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ใช้สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อพวก nutrient broth เพราะแสงที่มีความยาวคลื่นนี้จะทะลุผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสีนี้ได้เกือบหมดและมากที่สุด แสงที่ผ่านทะลุ cuvette และตัวอย่างนี้จะถูกรวบรวมโดย phototube และ galvanometer จะทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานแสงทั้งหมดให้เป็นพลังงานไฟฟ้า และแสดงบนหน้าปัดโดยใช้หน่วยสากลคือ transmittance (%) และ optical density (OD)

เนื่องจากเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นตัวปิดกั้นแสง ดังนั้น แสงที่ผ่านปริซึมมาแล้วบางส่วนไม่อาจผ่านเซลล์จุลินทรีย์ในตัวอย่างได้ และกระจัดกระจายหรือสะท้อนออกไป ทำให้เหลือแสงที่ผ่านทะลุน้อยลงและค่า transmittance ก็ต่ำลงด้วย หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า “ความขุ่น” เพิ่มขึ้น (ภาควิชาจุลชีววิทยา , 2538 : 105 อ้างโดย ธีรวิจน์ เศรษฐพันธ์ , 2545 : 29-30)



ภาพภาคผนวกที่ 1 ขั้นตอนการวัดความขุ่น

- ขั้นแรกต้องปรับค่า optical density (OD) เป็น 0 หรือมีการผ่านของแสงเป็น 100 % โดยใช้หลอดที่ใส่น้ำกลั่นหรืออาหารเลี้ยงเชื้อ
- การวัดหลอดที่มีแบคทีเรีย ค่า OD จะเพิ่มขึ้น อ่านค่าเป็นตัวเลขที่ได้

ที่มา : Gerard j. Tortora , Berdell R. Funke and Christina L. Case , 1992 : 162

ภาคผนวก ข

วิธีการคำนวณความกว้างของบริเวณใส (clear zone)

คำนวณความกว้างบริเวณใส จากสูตร

$$W = (T - D) / 2$$

เมื่อ W คือ ความกว้างของบริเวณใส มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

T คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมดของตัวอย่างรวมกับบริเวณใส

D คือ ความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอย่าง

ความกว้างบริเวณใส จากสารละลาย PVA ผสม สารละลายเชริซิน ที่ไม่ฉายรังสี

เชื้อ *E.coli*

$$= (7.5 - 6) / 2 = 0.75 \text{ มิลลิเมตร}$$

เชื้อ *S.aureus*

$$= (8.0 - 6) / 2 = 1.0 \text{ มิลลิเมตร}$$

เชื้อ *B.subtilis*

$$= (7.0 - 6) / 2 = 0.5 \text{ มิลลิเมตร}$$

ความกว้างบริเวณใส จากสารละลาย CMC ผสม สารละลายเชริซิน ที่ไม่ฉายรังสี

เชื้อ *E.coli*

$$= (9 - 6) / 2 = 1.5 \text{ มิลลิเมตร}$$

เชื้อ *S.aureus*

$$= (8.0 - 6) / 2 = 1.0 \text{ มิลลิเมตร}$$

เชื้อ *B.subtilis*

$$= (8.5 - 6) / 2 = 1.25 \text{ มิลลิเมตร}$$