ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

Study to a minimum inhibitory concentration to bacteria of irradiated silk powder

โดย

นางสาวดาราพร ตั้งสุภาพ

ปีการศึกษา 2544

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตรอุตสาหกรรมบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

Study to a minimum inhibitory concentration to bacteria of irradiated silk powder

โดย

นางสาวดาราพร ตั้งสุภาพ

วศ.
ด425 ก
2544

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....47224
วัน, เดือน, ปี 24 มิ.ย. 2546

.b.....
.i.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตรอุตสาหกรรมบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

ปีการศึกษา 2544

ชื่อเรื่อง การศึกษาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

Study to a minimum inhibitory concentration to bacteria of irradiated silk powder

ชื่อ- สกุล นางสาวดาราพร ตั้งสุภาพ

สาขาวิชา อุตสาหกรรมเกษตร **ภาควิชา** ครุศาสตร์เกษตร

คณะ ครุศาสตร์อุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์จินตนา บุนนาค

อาจารย์อารักษ์ วิทิตธีรานนท์

บทคัดย่อ

ได้ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดคือ *Escherichia coli* ,*Bacillus subtilis* ,*Staphylococcus aureu*และ *Staphylococcus epidermidis* ของผงไหมฉายรังสี 500 และ 1,000 กิโลเกรย์ โดยใช้ 100 มิลลิลิตรของแบคทีเรียดังกล่าวใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว(Nutrient broth) นำสารละลายผงไหมที่มีความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 800 มิลลิลิตรแล้ว ตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวของผงไหมฉายรังสี พบว่าผงไหมฉายรังสี มี แนวโน้มในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *S. epidemidis* ได้เล็กน้อยและสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*และ *S. aureus* ได้ ดี โดยที่ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นของผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ค่าความขุ่น (optical density,OD 660 nm) ของสารละลายเชื้อ *E. coli* ลดลงไป 31.03และ 18.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ค่าความขุ่น(OD)ของสารละลายเชื้อ *S. aureus* ลดลง ไป 33.68และ 15.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนที่ฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ ค่าความขุ่น (OD) ของสารละลายเชื้อ*E. coli* ลดลงไป13.02และ 12.11เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในขณะที่ค่าความขุ่น(OD)ของสารละลายเชื้อ *S. aureus* ลดลง ไป 24.62 และ 6.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ดังนั้นผงไหมฉายรังสีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli*และ *S. aureus* ได้ คือ 5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองนี้สามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ที่ต้องการทำวิจัย หรือจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จได้อย่างสมบรูณ์ด้วยความช่วยเหลือจากอาจารย์จินตนา บุนนาค อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และแนะนำวิธีการแก้ปัญหา รวมทั้งแก้ข้อบกพร่องต่างๆด้วยดี ตลอดระยะเวลาในการทำปัญหาพิเศษ นอกจากนี้ยังได้รับความอำนวยความสะดวกด้านต่างๆจากอาจารย์จันทร์พร เจ้าทรัพย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร ในการใช้ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องสมุด รวมทั้งความช่วยเหลือจากอาจารย์ เพื่อนๆ อุตสาหกรรมเกษตรในการทำการทดลอง เพื่อนหอกมลและเพื่อนวิศวกรรมศาสตร์ ซึ่งทำให้การทดลองประสบความสำเร็จและสมบรูณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์อารักษ์ วิทิตธีรานนท์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในเรื่องคำปรึกษาเกี่ยวกับการฉายรังสีผงไหม

ความดีของปัญหาพิเศษฉบับนี้ ขอมอบให้กับบิดา มารดา ผู้ให้กำเนิดและเป็นทุกสิ่งทุกอย่างในชีวิต อาจารย์ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชา เพื่อนๆที่ให้กำลังใจและร่วมแก้ไขปัญหา ตลอดจนผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่กรุณาให้ความสนับสนุนทั้งทางด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์ จนทำให้ปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ดาราพร ตั้งสุภาพ

พฤศจิกายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษ		ก
กิตติกรรมประกาศ		ข
สารบัญ		ค
สารบัญตาราง		ง
สารบัญภาพ		จ
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 ประวัติ	3
	2.2 ลักษณะโดยทั่วไป	3
	2.3 วงจรชีวิตของไหม	4
	2.4 พันธุ์ไหม	5
	2.5 เส้นใยไหม	6
	2.6 สมบัติทางกายภาพของไหม	11
	2.7 สมบัติทางเคมีของไหม	11
	2.8 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์	16
	2.9 การทำให้ปลอดเชื้อและฆ่าเชื้อ	16
	2.10 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์	21
	2.11 ขอบข่ายการต่อต้านจุลินทรีย์	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.12 สารต้านจุลินทรีย์ 23
2.13 ตัวแปรที่มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ 23
2.14 วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ 24
2.15 แบคทีเรีย 25
1. *Escherichia coli* 26
2. *Bacillus subtilis* 29
3. *Staphylococcus aureus*และ *Staphylococcus epidermidis* 30
3.1 *Staphylococcus aureus* 31
3.2 *Staphylococcus epidermidis* 33
3. อุปกรณ์และวิธีการ 34
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 34
3.2 วิธีการ 35
3.3 สถานที่ทำการวิจัย 38
3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย 38
4. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล 39
5. สรุปและข้อแสนอแนะ 46
บรรณานุกรม 48
ภาคผนวก 51
ภาคผนวก ก 52
ภาคผนวก ข 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของธาตุต่างๆในไฟโบรอิน	9
2	ส่วนประกอบของกรดอะมิโนของเซริซินและไฟโบรอิน	10
3	สมบัติที่เหมือนกันในเส้นใยธรรมชาติ	13
4	ความแตกต่างระหว่างไหมและขนสัตว์	14
5	แบคทีเรียกลุ่มแอโรปที่มักก่อให้เกิดโรคในคน	15
6	คุณสมบัติของสารพิษเอ็นเทโรทอกซิน	27
7	ค่าความขุ่นที่ OD 660 nmของแบคทีเรีย	36
8	การละลายของผงไหมฉายรังสี	37
9	สรุปการละลายของผงไหมฉายรังสี	39
10	ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตรจากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *E. coli*	42
11	ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตรจากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *B. subtilis*	43
12	ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตรจากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *S. aureus*	44
13	ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตรจากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *S. epidermidi*	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของไหม.....	5
2	เส้นใยของชั้นรังไหมเลี้ยง*Bombyx mori* สีขาว.....	7
3	เส้นใยของชั้นรังไหมเลี้ยง*Bombyx mori* สีเหลือง.....	7
4	การเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลด้วย amide(peptide)links.....	8
5	ต่อมสร้างรังไหม.....	8
6	การพ่นเส้นใยของหนอนไหม *Bombyx mori*.....	9
7	ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*.....	26
8	ลักษณะของเชื้อสกุล *Bacillus*.....	29
9	ลักษณะของเชื้อสกุล *Staphylococcus*.....	31
10	การเปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อ *Escherichia coli*.....	40
11	การเปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อ *Bacillus subtilis*.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

ไหมมีประวัติการใช้งานมากว่า 4,500 ปี ซึ่งถูกค้นพบโดยชาวจีน และได้ใช้ประโยชน์จากไหมมาทอเป็นเครื่องนุ่งห่ม ในประเทศไทยมีการใช้ไหมในสมัยรัตนโกสินทร์ ในรัชสมัยของพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 5)ปัจจุบัน ผ้าไหมไทยและผลิตภัณฑ์ไหมไทยเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศอย่างมาก

ไหมเป็นสัตว์ที่อยู่ใน Phylum Arthropoda มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori Linn* เป็นแมลงจำพวกผีเสื้อที่สามารถสร้างรังโดยพ่นใยออกมาห่อหุ้มตัวเอง ซึ่งเส้นใยมีลักษณะเงา เลื่อม มันเป็นประกายสวยงาม นิยมนำมาใช้ประโยชน์เป็นเครื่องนุ่งห่ม และเครื่องประดับได้ ก่อนจะถูกนำมาถักทอเป็นผืนผ้า ต้องผ่านขั้นตอนมากมาย ซึ่งรังไหมประมาณ 500 รัง หรือ 80 กิโลกรัม ทำผ้าไหมดิบ (Raw silk)ได้ 1 กิโลกรัม

ในประเทศไทยมีการผลิตไหมเป็นอันดับ 5 ของโลกซึ่งนิยมนำมาเป็นสินค้าสำหรับสวมใส่ประดับร่างกาย แต่ยังมีส่วนที่สูญเสียไปโดยไม่ก่อให้เกิดประโยชน์ จึงเป็นของเหลือทิ้งซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ถ้าสามารถนำสิ่งเหลือทิ้งโดยเฉพาะโปรตีนจากไหม ได้แก่ ไฟโบรอิน(Fibroin)และเซริซิน (Sericin)มาทำเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ใช้ประโยชน์กับมนุษย์ได้กว้างขวางมากขึ้น จะเป็นการลดปัญหาสิ่งแวดล้อม เป็นการเพิ่มมูลค่าของไหมไทยให้มากขึ้นด้วย

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งใกล้เส้นศูนย์สูตร มีอากาศร้อนชื้นประชาชนมักจะประสบปัญหาเรื่องโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนัง ซึ่งแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดที่เป็นสาเหตุของโรคดังกล่าวคือ *Staphylococcus aureus*ซึ่งอาการสำคัญที่เกิดขึ้น คือ ฝีและหนอง พบได้ทั่วไปที่บริเวณผิวหนังของมนุษย์ เช่นรูขุมขนอักเสบ แผลเน่าเปื่อย บริเวณแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก เชื้อดังกล่าวบางครั้งอาจลุกลามไปยังอวัยวะต่างๆ ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันมีการนำเอาโปรตีนจากไหมไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ทางการแพทย์ นำมาใช้ทำเลนส์สัมผัส (Contact lenses) วัตถุตกแต่งบาดแผลจากไฟไหม้ (Burn wound dressing) ตลอดจนเคลือบวัตถุที่ต้องนำมาใช้สัมผัสร่างกาย เช่น เคลือบอวัยวะภายในร่างกาย ซึ่งได้รับความสนใจอย่างมากในวงการแพทย์ อีกทั้งยังนำไปผลิตเครื่องสำอางและเป็นส่วนประกอบของอาหาร

ดังนั้น ในการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไหม โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่นำไปใช้ทางด้านการแพทย์จำเป็นต้องทราบถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสี ที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นการลดการใช้ยาและสารเคมีในการที่จะนำผงไหมฉายรังสีไปผลิตเป็นวัสดุทางการแพทย์ การทำปัญหาพิเศษนี้จึงสนใจที่จะศึกษา ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่เหมาะสมในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้อาหารเหลว

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการละลายของผงไหมที่ฉายรังสี
2. เพื่อศึกษาระดับต่ำสุดของความเข้มข้นของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

1.3 ขอบเขตของปัญหา

ทดสอบระดับต่ำสุดของความเข้มข้นของผงไหมฉายรังสีที่เหมาะสมในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบคุณสมบัติการละลายของผงไหมฉายรังสี
2. ทราบปริมาณความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย
3. เป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ที่ต้องการทำวิจัย หรือ ผู้ที่จะนำผงไหมฉายรังสีไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เภสัชกรรม และวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติ

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

ประวัติการส่งเสริมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในประเทศไทย เริ่มในสมัยรัตนโกสินทร์ เมื่อปี พ.ศ. 2444 โดยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 5)มีพระราชดำริ ให้มีการส่งเสริมการเลี้ยงไหม โดยจ้างผู้เชี่ยวชาญชาวญี่ปุ่นมาให้คำปรึกษา เพื่อพัฒนาไหมในประเทศไทยให้มีคุณภาพและใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ปลายปี พ.ศ.2499 ได้มีการส่งเสริมให้ทำผ้าไหมในระบบอุตสาหกรรม จนถึงปัจจุบัน นักวิชาการไทยได้ค้นคว้าวิจัยและส่งเสริมกิจการไหม จนประเทศไทยสามารถผลิตรังไหมได้มาก จึงมีโรงงานทอผ้าเกิดขึ้นมาก ผ้าไหมไทยและผลิตภัณฑ์ไหมที่ผลิตในปัจจุบัน เป็นสินค้าส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งทำรายได้ให้ประเทศไทยโดยเฉลี่ยปีละ 800-1,000 ล้านบาท (จรรยา ปั้นเหน่งเพชร, 2543 : 3-7)

2.2 ลักษณะโดยทั่วไป

ไหมเป็นแมลงจำพวกผีเสื้อ อยู่ในตระกูล Bonbycidae ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Bombyx mori Linn* ซึ่งลำดับความเป็นมาทางวิทยาศาสตร์ของไหมมีดังนี้

Phylum Arthropoda
Class Hexapoda or Insecta
Sub- Class Pterygota
Division Endopterygota
Order Lepidoptera
Family Bombycidae
Genus Bombyx
Species mori

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ที่อยู่ใน Phylum Arthropodaนี้ มีการเจริญเติบโตแบบ Complete metamorphosis คือ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละขั้นตอนของการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัด(กรมวิชาการเกษตร, 2538 : 1)

หนอนไหมเป็นแมลงที่สามารถสร้างรังโดยจะพ่นใยออกมาห่อหุ้มตัวเอง ซึ่งมีลักษณะเงา มัน และมีความแข็งแรง หนอนไหมมีหลายพันธุ์ ซึ่งบางพันธุ์กินใบโอ๊ค น้ำมันละหุ่ง(castor oil plante) , ใบมะเดื่อ (fig leaves) ซึ่งหนอนไหมเหล่านี้เป็นไหมป่าวงศ์ saturniidea จะมีรังสีน้ำตาลแกมเหลือง ,น้ำตาล ,เทา,เขียว โดยสีเหล่านี้จะกลืนไปกับสีของใบไม้ และสิ่งแวดล้อม หนอนไหมเลี้ยงวงศ์ Bombycidae จะกินเฉพาะใบหม่อนเป็นอาหารผงใบหม่อน ถั่วเหลือง ผงเซลลูโลสผสมกับวิตามิน (โมโตมิ มินะกาวะและคณะ, 2530 : 1-3)

2.3 วงจรชีวิตของไหม

แบ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญ 4 ขั้นตอน ซึ่งได้แสดงไว้ภาพที่ 1 คือ

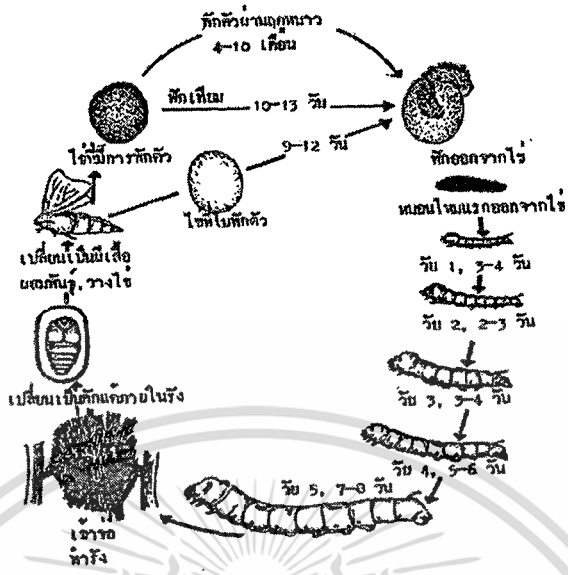
ระยะที่เป็นไข่ (Egg) ในระยะนี้จะใช้เวลามากน้อยแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ถ้าเป็นไหมพวกที่ฟักออกหลายครั้งต่อปีตามธรรมชาติ(Polyvoltine) ช่วงเวลาจากแม่ผีเสื้อวางไข่จนถึงกำหนดฟักออกเป็นตัวใช้เวลา 9-10 วัน ถ้าเป็นไหมที่ฟักออก 1-2 ครั้งในรอบปี (Univoltine and bivoltine)ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ ไหมจะใช้เวลา 4-10 เดือน

ระยะที่เป็นตัวหนอน(Larva) วงจรชีวิตของหนอนไหมระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 18-22 วันและมีการเปลี่ยนแปลงขนาดและน้ำหนักมากที่สุด กล่าวคือ หนอนไหมโตเต็มที่จะมี น้ำหนักเป็น 10,000 เท่าของไหมที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆ หลังจากที่หนอนไหมออกจากไข่และกินอาหารได้เต็มที่จะมีการเจริญเติบโตเร็วมาก เมื่อเจริญเติบโตไปได้ระยะหนึ่ง ผิวหนังที่มีสาร Chitin เป็นส่วนประกอบมีขีดจำกัดในการขยายตัว หนอนไหมจึงต้องมีการลอกคราบเพื่อสามารถเพิ่มขนาดของลำตัวต่อไปอีกได้ ในระยะที่เป็นหนอนไหมโดยทั่วไปจะการลอกคราบ 4 ครั้ง

ระยะที่เป็นดักแด้ (pupa) หลังจากที่หนอนไหมทำรังและลอกคราบเปลี่ยนเป็นดักแด้แล้วจะใช้เวลาประมาณ 10-13 วัน ก็จะลอกคราบอีกครั้งเป็นผีเสื้อ

ระยะที่เป็นผีเสื้อ (moth) เมื่อดักแด้ลอกคราบเป็นผีเสื้อแล้ว จะปล่อยสาร pyrolactin ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างเพื่อเจาะรังไหมออกมาสู่ภายนอก หลังจากนั้นผีเสื้อก็พร้อมที่จะทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป ระยะนี้จะมีอายุประมาณ 7-10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของไหม

ที่มา:กรมวิชาการเกษตร, 2538 : 3

2.4 พันธุ์ไหม

ไหมเลี้ยงสามารถแบ่งได้ 3พันธุ์คือพันธุ์ญี่ปุ่น พันธุ์จีนและพันธุ์ยุโรป โดยทั่วไปจะไม่ใช้พันธุ์ดั้งเดิม แต่จะผสมได้ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1 hybrid) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด ขนาด รูปร่างมีแบบลูกกลม ไข่ วงรี หลอดปั่นด้าย(spindle) และมีสีทั้งสีขาวจนถึงสีเหลือง

พันธุ์ไหมที่ใช้เลี้ยงในประเทศไทย แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ

2.4.1ไหมพันธุ์ไทยพื้นเมือง

ไหมพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่ฟักออกตลอดปี (Polyvomne)ส่วนใหญ่มักจะมีรังไหมสีเหลือง มีเปอร์เซ็นต์เปลือกรังต่ำแต่มีความแข็งแรงค่อนข้างสูง ซึ่งเกษตรกรนิยมเลี้ยงพันธุ์เหล่านี้มาแต่ดั้งเดิม โดยเลี้ยงติดต่อกันไปตลอดปี โดยเกษตรกรมักจะผสมผีเสื้อ วางไข่ด้วยตัวเองตลอดทั้งปี รังไหมจึงมีขนาดเล็ก เส้นใยสั้น รังไหมที่ได้มาเกษตรกรมักจะใช้สาวด้วยมือ แล้วนำเส้นไหมไปทอผ้าใช้ในครัวเรือน แต่บางส่วนก็นำเส้นไหมจำหน่ายให้พ่อค้าคนกลาง

คุณภาพรังไหม พันธุ์ไทยพื้นเมืองโดยเฉลี่ยทั่วไป มีดังนี้

- น้ำหนักรังสด 0.8-1.2 กรัม
- เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง 10-13 %
- ความยาวเส้นใย 250 – 400 เมตร
- ขนาดของเส้นใย น้อยกว่า 1.5 ดีเนียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ไหมพันธุ์ไทยลูกผสม

ไหมพันธุ์นี้ จะเป็นพันธุ์ลูกผสมของไทยกับพันธุ์ต่างประเทศ(Polyvoltine – Bivoltine) ซึ่งคนนิยมเรียกว่า พันธุ์ลูกครึ่ง รังไหมพันธุ์นี้ มักจะมีขนาดโตกว่าพันธุ์ไหมไทยพื้นเมือง สีรังจะรังจะมีทั้งสีขาว และสีเหลือง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ รังไหมไทยลูกผสม สามารถนำไปสาวด้วยเครื่องจักรที่มีความเร็วไม่มากนัก

คุณภาพของรังไหม พันธุ์ไทยลูกผสมเฉลี่ยโดยทั่วไป มีดังนี้

- น้ำหนักรังสด 1.3-1.7 กรัม
- เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง 14-18 %
- ความยาวเส้นใย 400-800 เมตร
- ขนาดของเส้นใย น้อยกว่า 2.0 ดีเนียร์

2.4.3 ไหมพันธุ์ต่างประเทศลูกผสม

ไหมพันธุ์ต่างประเทศลูกผสม (Bivoltine) เกิดจากลูกผสมของสายพันธุ์ญี่ปุ่นกับ สายพันธุ์จีน ซึ่งรังจะมีขนาดโตกว่าพันธุ์ไทยลูกผสม รังไหมพันธุ์ต่างประเทศลูกผสม จะเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้สาวด้วยเครื่องจักร สีของรังไหมพันธุ์ต่างประเทศลูกผสม จะเป็นพันธุ์ที่เหมาะสำหรับใช้สาวด้วยเครื่องจักร สีของรังไหมส่วนมากมักจะเป็นสีขาวแต่ก็มีสีเหลืองอยู่บ้าง

คุณภาพของรังไหม พันธุ์ต่างประเทศลูกผสมเฉลี่ยทั่วไป มีดังนี้

- น้ำหนักรังสด 1.7-2.5 กรัม
- เปอร์เซ็นต์เปลือกรัง 18-25 %
- ความยาวเส้นใย 800-1,300 เมตร
- ขนาดเส้นใยน้อยกว่า 2.1 ดีเนียร์

2.5 เส้นใยไหม

ไหม คือ เส้นใยโปรตีนธรรมชาติ ซึ่งประกอบด้วย ไฟโบรอิน (Fibroin) ประมาณ 75% เซริซิน(Sericin) ประมาณ 23% และส่วนประกอบอื่น เช่น ไขมัน , ขี้ผึ้ง และสารอินทรีย์ต่างๆ ประมาณ 2% เส้นจากรังไหม 97 % เป็นโปรตีนบริสุทธิ์

เส้นใยธรรมชาติกลุ่มที่ได้จากสัตว์ทุกชนิดจะเป็นเส้นใยโปรตีนทั้งหมด ซึ่งมีโครงสร้างต่อกันด้วยกรดอะมิโน(amino acids) ซึ่งต่อกันเป็นโซ่ยาว ที่เรียกว่า polypeptide chains แสดงในรูปที่ 4

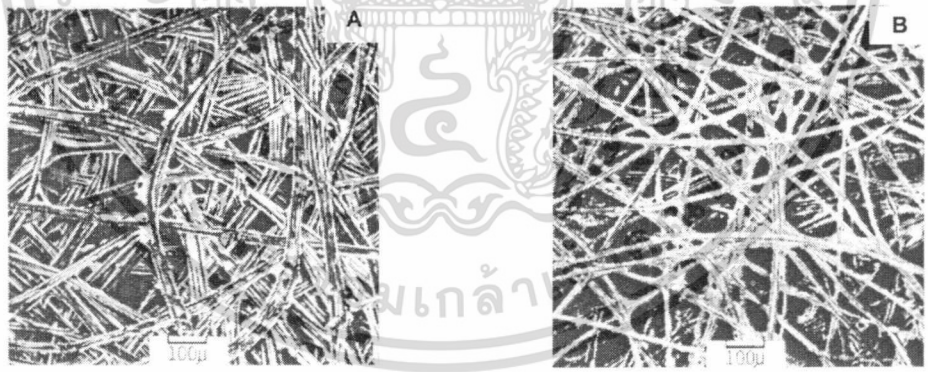
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างเส้นไหม สร้างจากต่อมสร้างเส้นไหม(silk gland) ซึ่งแสดงไว้ดังภาพที่ 5 สารไหมเหลว (liquid silk) จะถูกขับออกทางต่อมสร้างเส้นไหมตอนท้าย(posterior silk gland)ไปยังต่อมยังส่วนกลาง(middle silk gland)ระหว่างนี้ สารไหมเหลวจะกลายเป็นเจลาติน (gelatin) ซึ่งจะกลายเป็นไฟโบรอิน ให้เหนียวขึ้น การสร้างเส้นไหมได้แสดงไว้ดังภาพที่ 6

ภาพที่ 2 เส้นใยของชั้นรังไหมเลี้ยง *Bombyx mori* สีขาว

A. เส้นใยชั้นนอกเปลือกรัง

B. เส้นใยชั้นในเปลือกรัง



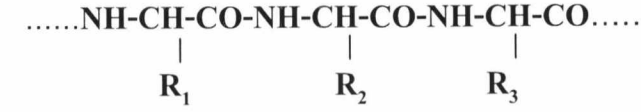
ภาพที่ 3 เส้นใยของชั้นรังไหมเลี้ยง *Bombyx mori* สีเหลือง

A.เส้นใยชั้นนอกเปลือกรัง

B.เส้นใยชั้นในเปลือกรัง

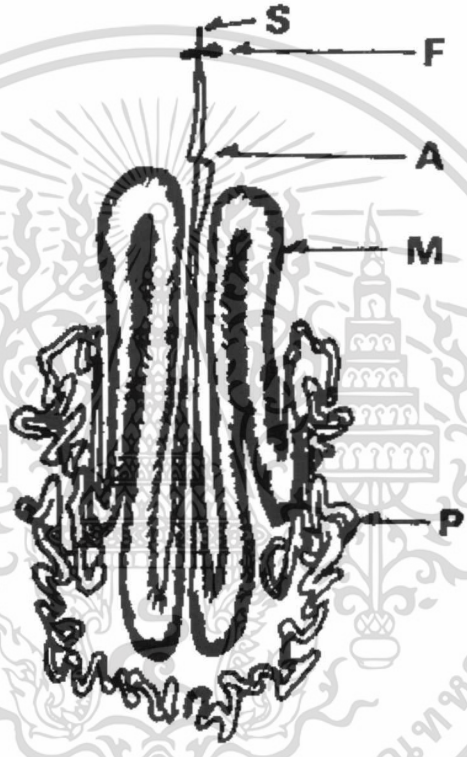
ที่มา: โมโตอิ มินะกาวะและคณะ, 2530 : 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 การเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลด้วย amide (peptide) links

ที่มา: วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542 : 93



ภาพที่ 5 ต่อมสร้างเส้นไหม

S คือ ทางออกของเส้นไหม

F คือ Filippis gland

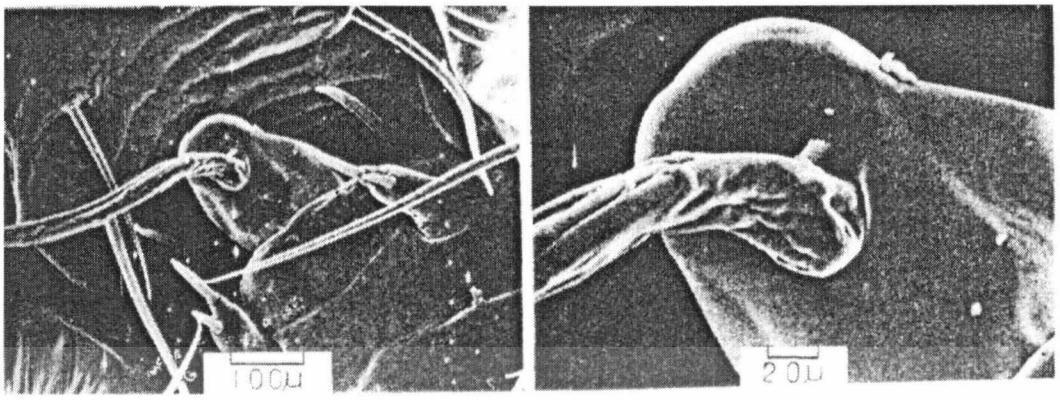
A คือ ต่อมไหมส่วนหน้า

M คือ ต่อมไหมส่วนกลาง

P คือ ต่อมไหมส่วนท้าย

ที่มา : โมโตอิ มินะกาวะและคณะ. 2530 : 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 การพ่นเส้นใยของหนอนไหม *Bombyx mori*

ที่มา :โมโตอิ มินะกาวะและคณะ, 2530 : 15

ไฟโบรอินมีอยู่ประมาณ 70-80 % มีลักษณะเป็นเส้นใย ประกอบด้วยธาตุสำคัญ คือ C H O N ซึ่งมีรายละเอียด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของธาตุต่างๆในไฟโบรอิน

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

ที่มา: วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542 : 91

ไฟโบรอิน มีคุณสมบัติคือ ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลาย ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลัก 4 ชนิด ซึ่งได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2 คือ ไกลซีน (Glycine) อะลานีน (Alanine) เซรีน(Serine)และ ไทโรซีน (Tyrosine) โครงสร้างไฟโบรอินของไหมเลี้ยงเป็นแบบ G-A-G-A ซึ่ง G คือ Glycine และ A คือ Alanine ในบางกรณี A เปลี่ยนไปเป็น Serine หรือ Tyrosine

เซริซิน มีอยู่ประมาณ 20-30 % มีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง (wax) หรือกาวเคลือบเส้นไหม มีคุณสมบัติ คือ สามารถละลายน้ำได้ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 4 ชนิด ซึ่งได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2 คือ ไกลซีน (Glycine) อะลานีน (Alanine)เซรีน(Serine)และ ไทโรซีน (Tyrosine) เซริซินเคลือบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟโบรอินอยู่ มี เซรีนและธรีโอนีน (Threonine) ของกรดออกซีอะมิโนจำนวนมากและมีกรดแอสพาติค และกรด กลูตามิคของกรดอะมิโนที่เป็นอาจีนิน (Arginine) และไลซีน (Lysine) ของกรดอะมิโนที่เป็นเบสค่อนข้างมาก

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของกรดอะมิโนของเซริซินและไฟโบรอิน(กรดอะมิโนเป็นกรัมในโปรตีน 100 กรัม)

กรดอะมิโน		เซริซิน	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	-
	Phenylanine	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 มินะกาวะและคณะ, 2530 : 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 สมบัติทางกายภาพของไหม

1. ลักษณะภายนอก ไหมดิบจะมีลักษณะของใยคู่ (brins)เกาะติดกันด้วยกาวเซริซิน มีความมัน นุ่มนวล โปร่งแสง เป็นแบบอย่างของการทำใยประดิษฐ์ ผิวนอกดูเรียบแต่ไม่สม่ำเสมอ เมื่อผ่านการฟอกเอาเซริซินออกแล้วจะเป็นเส้นใยเดี่ยว เรียบ และพื้นที่หน้าตัดเป็นรูปสามเหลี่ยมมุมมน เป็นเส้นใยที่มีความละเอียดสูงขนาด 1.25 แดเนียร์ต่อเส้น

2. ความยาว ไหมมีความยาวมากและเป็นใยธรรมชาติชนิดเดียวที่เป็นเส้นใยยาว ความยาวโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 300 – 900 เมตร และอาจยาวได้ถึง 1,200 เมตร

3. สี เส้นไหมมีสีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีเหลือง

4. ความมัน ภายหลังการฟอกแล้ว ไหมมีความมันที่ดีมาก ให้ลักษณะความมันที่อ่อนนุ่มสวยงาม เป็นรูปแบบการทำเส้นใยประดิษฐ์

5. ความแข็งแรง ไหมมีความแข็งแรงสูงมาก มีความเหนียว 2.4 –5.1 กรัมต่อเดนเยอร์ ซึ่งใยไหมถูกนำมาใช้ทำร่มชูชีพในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 ความแข็งแรงของไหมจะลดลงประมาณ 15-25 % เมื่อเปียก

6. ความยืดหยุ่น ไหมมีความยืดหยุ่นตัวได้ดี สามารถยืดตัวได้ 10-25 % ของความยาวเดิม

7. ความคืนตัว ไหมมีความสามารถในการคืนตัวได้ดี ไม่เกิดการยับย่นง่าย สามารถคืนรูปได้ดีเพียงแขวนทิ้งไว้ระยะหนึ่ง

8. การดูดซึมความชื้น ในภาวะมาตรฐานไหมดูดความชื้นได้ 11 %และอิ่มตัวที่ 25 –30 % ซึ่งทำให้สามารถย้อมสีได้ดีและผ้าไหมเป็นตัวนำความร้อนที่ไม่ดีจึงเหมาะแก่การทำผ้าพันคอหรือชุดสูท

9. ความร้อน สามารถทนความร้อน ได้ถึง 171องศาเซลเซียสในระยะเวลาสั้นๆแล้วจะสลายตัว

10. ความถ่วงจำเพาะ ไหมมีความถ่วงจำเพาะเพียง 1.25 แต่ยังมีการทิ้งตัวที่ดี

2.7 สมบัติทางเคมีของไหม

1. กรด คล้ายขนสัตว์ คือ ไม่ถูกทำลายด้วยกรดทั่วไป แต่กรดที่มีความเข้มข้นสูง สามารถทำลายไหมได้

2. ด่าง ไหมไม่อ่อนไหวต่อด่าง แต่ถูกทำลายได้ด้วยด่างที่มีความเข้มข้นสูง ด่างแก่มีผลทำให้ไหมมีความมันลดลง

3. เกลือคลอไรด์ ไหมถูกทำลายด้วยสารที่มีส่วนผสมของเกลือคลอไรด์ผสมอยู่ ได้แก่ เหงื่อ น้ำยาดับกลิ่น และน้ำเกลือทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารละลายอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ไหมส่วนใหญ่มักใช้การซักแห้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของเส้นไหม และสีที่ใช้ย้อม

5. สารซักฟอก ไหมมีความทนต่อสารซักฟอกคล้ายขนสัตว์ ถูกทำลายด้วยสารซักฟอกประเภทออกซิไดซ์ เช่นพวกโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ ผสมอยู่ แต่สารซักฟอก ประเภทไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือซเดียมเปอร์บอเรตภายใต้ภาวะการซักปกติจะไม่เกิดผลเสียต่อไหม

6. ราและแมลง ปกติไหมไม่เกิดราง่าย ยกเว้นทิ้งไว้ในภาวะค่อนข้างเปียกชื้นเป็น เวลานาน ไหมที่สะอาดจะไม่มีปัญหาเรื่องแมลง และรา

7. แสง ผ้าไหมมีความอ่อนไหวต่อแสงแดด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากถูกแสงแดดโดยตรงเป็นเวลานาน จะทำให้ผ้าไหมเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองและความแข็งแรงก็จะลดลงด้วย

8. การย้อมสี ไหมมีความสามารถในการรับสีย้อมได้ดีมาก อาจย้อมด้วยสีที่เป็นแอสิด เบสิก หรือสีไดเรก ผ้าไหมเมื่อย้อมสีแล้วจะมีสีเข้มกว่าขนสัตว์และสามารถย้อมสีในอุณหภูมิต่ำกว่าด้วย

การใช้งานของไหมเป็นไปอย่างกว้างขวางด้วยสมบัติที่ดีเด่นหลายประการดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ยังสามารถใช้ผ้าไหมผสมกับใยอื่นๆได้ด้วย เช่น ไหมผสมฝ้าย ไหมผสมลินิน หรือไหมผสมขนสัตว์เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 สมบัติที่เหมือนกันในเส้นใยธรรมชาติ

สมบัติ	ความสำคัญต่อผู้ใช้
การคืนตัว	ป้องกันการยับ รอยยับย่นสามารถทำให้หายได้โดยการแขวนทิ้งไว้ภายหลังการใช้
การดูดซับความชื้นดี	สวมใส่สบายในสภาพภูมิอากาศที่เย็นชื้นและการดูดซึมน้ำดีทำให้พรมขนสัตว์ไม่แตกเปราะง่าย
ความแข็งแรงลดลงเมื่อเปียก	ต้องใช้ความระมัดระวังในการซักล้าง ขนสัตว์มีความแข็งแรงลดลง 40 %ในขณะที่ไหมลดลงประมาณ 15 %
ความถ่วงจำเพาะต่ำ	ผ้าขนสัตว์มีน้ำหนักเบากว่าเส้นใยจากพืชที่ความหนาเท่ากัน
ถูกทำลายด้วยด่าง	ต้องใช้สบู่หรือน้ำยาซักล้างที่เป็นกลาง หรือด่างอ่อน ซึ่งเหงื่อจะทำให้ความแข็งแรงลดลง
ถูกทำลายได้ด้วยสารที่ทำให้เกิดการออกซิไดซ์	สารซักฟอกประเภทคลอรีนจะไปทำลายเส้นใยดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยง แสงแดดทำให้ผ้าเปลี่ยนสีจากขาวเป็นเหลือง
ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนแห้ง	ขนสัตว์กระด้าง เปราะและหลอมง่ายด้วยความร้อนแห้ง ผ้าเกิดการเปลี่ยนสีจากขาวเป็นเหลือง
ทนต่อเปลวไฟ	เผาไหมไม่หมด ดับไฟด้วยตัวมันเอง ให้กลิ่นเหมือนการเผาเส้นผม โดยขี้เถ้าสีดำและสามารถบดแตกได้

ที่มา:วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542 : 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ความแตกต่าง ระหว่างไหมและขนสัตว์

ไหม	ขนสัตว์	ความสำคัญต่อผู้ใช้
ประกอบด้วยธาตุ C H O N	ประกอบด้วยธาตุ C H O N	ขนสัตว์จะถูกทำลายได้ด้วยแมลง
โมเลกุลเหยียดยาว	โมเลกุลมีการพับตัว	ขนสัตว์มีการยืดและคืนตัวจากแรงยืดได้ดี
มีความเป็นผลึกสูง	มีปริมาณอสันฐานมากกว่า	ไหมแข็งแรงแต่ขนสัตว์ดูดซึมน้ำได้ดีกว่า
เส้นใยเนื้อเดียวกันตลอด	เส้นใยประกอบด้วยหลายส่วน โดยส่วนนอกสุดเป็นเกล็ด	ขนสัตว์มีการหดตัวสูง
ผิวเรียบ	เส้นใยหงิกงอ และมีผิวเป็นเกล็ดคล้ายเกล็ดปลา	ขนสัตว์ให้ความอบอุ่นกว่า คืนกลับตัวได้มากกว่า ส่วนไหม จะมีความเรียบมันมาก
เส้นใยยาว	มีแต่เส้นใยสั้นเท่านั้น	ขนสัตว์จะฟูแต่ไหมจะเรียบ

ที่มา:วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา, 2542 : 60

โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมีทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 ซึ่งจะทำให้เกิดโรคแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งใกล้เส้นศูนย์สูตร มีอากาศร้อนชื้นประชาชนมักจะประสบปัญหาเรื่องโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนัง ซึ่งแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดที่เป็นสาเหตุของโรคดังกล่าวคือ *Staphylococcus aureus* ซึ่งอาการสำคัญที่เกิดขึ้น คือ ฝีและหนอง พบได้ทั่วไปที่บริเวณผิวหนังของมนุษย์ เช่นรูขุมขนอักเสบ แผลเน่าเปื่อย บริเวณแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก เชื้อดังกล่าวบางครั้งอาจลุกลามไปยังอวัยวะต่างๆ ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้

นับตั้งแต่มีการค้นพบสารต้านจุลินทรีย์แล้ว ได้นำมารักษาโรคติดเชื้อต่างๆกันอย่างแพร่หลาย เช่น แอลกอฮอล์ ไอโอดีน ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แบคทีเรียกลุ่มแอโรปที่มักก่อให้เกิดโรคในคน

แบคทีเรีย	ก่อให้เกิดโรค
แกรมบวก ,cocci	
Staphylococcus aureus	การติดเชื้อที่บาดแผล อาหารเป็นพิษ เยื่อบุหัวใจอักเสบ ไขกระดูกอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และ impetigo
Staphylococcus saprophyticus	โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ nongonococcal urethritis
Staphylococcus pyogenes	การติดเชื้อที่ผิวหนังแบบลุกลาม เยื่อบุหัวใจอักเสบ ไขกระดูกอักเสบ impetigo ,pharynigitis ,tonsillitis , sinusitis , lymphadentitis , pyoderma , arthritis
Staphylococcus pneumoniae	เยื่อหุ้มสมองอักเสบ , conjunctivitis , sinusitis , mastoiditis , pericarditis
แกรมบวก , rod	
Bacillus anthracis	โรคแอนแทร็กซ์
Bacillus species	อาหารเป็นพิษ ,traumatic wounds , hemodialysis
แกรมลบ ,cocci	
Neisseria gonorrhoeae	โรคโกโนเรีย ,acute urithritis , prostatis ,epididymitis ,gonococcal cervicitis
Neisseria meningitidis	meninggococcal meningitis
แกรมลบ , rod	
Escherichia coli	โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ,watery diarrhea
Samonella typhi	ไทฟอยด์ ,gastroenteritis with or without bacterimia
Shigella species	โรคบิด
Yersinia enterocoltica	ลำไส้อักเสบ
Klebsiella pneumoniae	โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ,primary cystitis
Serratia marcescens	โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ,primary cystitis
Proteus mirabilis	โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ,primary cystitis
Vibrio cholerac	อหิวาตกโรค
Vibrio parahaemolyticus	ลำไส้อักเสบ
Pseudomonas aeruginosa	โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ,nasocomial infection include metabolic , hematologic and malidnant diseases
Pseudomonas pseudomallei	melioidosis , endemic glanders-like diseases
Haemophilus influenzae	เยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็ก

ที่มา :สุนทรี ขันธพิรัญ, 2538 : 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์(Microbial Cultivation)

อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) หมายถึง ส่วนประกอบของสารอาหารที่เอื้ออำนวย ให้จุลินทรีย์เจริญและแบ่งเซลล์ (ภาควิชาจุลชีววิทยา, 2536 : 48)

อาหารเลี้ยงเชื้อควรมีสมบัติดังนี้

1.มีสารอาหารและความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์

2.มีค่าความเป็นกรดและด่าง (pH)ที่เหมาะสม กับการเจริญของจุลินทรีย์

3.ปราศจากสารพิษ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

4.ไม่มีการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในทางจุลชีววิทยา มีหลายลักษณะ เช่นอาหารเหลว (liquid medium หรือ broth) อาหารแข็ง (solid medium) อาหารที่บรรจุในหลอดทดสอบที่เอียงเป็นแนวลาด (slant agar) อาหารแข็งที่บรรจุในหลอดเป็นแนวตั้งตรง (deep tube agar) อาหารกึ่งแข็ง (semi-soild)

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

2.9 การทำให้ปลอดเชื้อและฆ่าเชื้อ (Sterilization and Disinfection)

การทำให้ปลอดเชื้อ (Sterilization) หมายถึง การทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ให้หมดสิ้นไป

การฆ่าเชื้อ (Disinfection) หมายถึงการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่ไม่รวมสปอร์

วิธีการทำให้ปลอดเชื้อ หรือฆ่าเชื้อ แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

1.วิธีทางกายภาพ (Physical methods)

2.วิธีทางเคมี (Chemical methods)

ก. วิธีทางกายภาพ (Physical methods)

1. การใช้ความร้อน แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1.1 ความร้อนแห้ง (Dry heat)

ความร้อนแห้ง เป็นวิธีทำลายจุลินทรีย์โดยทำให้เกิด Oxidative destruction ต่อโปรโตพลาสซึ่มของแบคทีเรีย สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดรวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย วิธีนี้ใช้ความร้อนสูงกว่า และใช้เวลานานกว่าการทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้ความร้อนชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

1.1.1 ตู้อบด้วยไอน้ำ (Hot air oven)

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

วิธีการ ใช้กระแสไฟฟ้าทำให้เกิดความร้อนมีพัดลมเป่าเพื่อให้อุณหภูมิสูงเสมอกันหมด อุณหภูมิภายในตู้ไม่ควรแตกต่างกันเกิน 10 องศา

ข้อควรระวัง

1. กระดาษหรือผ้าที่ห่อของต้องไม่สัมผัสกับข้างตู้อบ มิฉะนั้นอาจลุกไหม้ได้

2. ต้องวางของให้อากาศไหลเวียนได้

3. ห่อวัสดุไม่ควรมีขนาดใหญ่กว่า 4 x 4 x12 นิ้ว

4. กล่องบรรจุควรเป็นโลหะที่สามารถดูดความร้อนได้ดีที่ผิวนอก

5. ในการทำผงแป้ง น้ำมัน และขี้ผึ้งปลอดเชื้อ ความหนาของแป้ง น้ำมัน และขี้ผึ้งไม่ควรเกิน 2 นิ้ว

ใช้ในการทำให้ปลอดเชื้อสำหรับ

1. ของที่ต้องการให้แห้ง เช่น เครื่องแก้ว จานเพาะเชื้อ(Peteri dish) ขวดแก้ว ปิเปต หลอดทดลองโลหะ

2. ของที่ถูกน้ำแล้วเสีย เช่น ผงแป้ง

3. เครื่องมือมีคมต่างๆ สว่าน เครื่องมือทันตกรรม เข็มฉีดยา

ข้อเสีย วิธีนี้ใช้ความร้อนสูงและใช้เวลานาน จึงทำลายพวกเส้นใยต่างๆ และต้องรอให้เย็นก่อนจะนำไปใช้

1.1.2 การเผา (Open flame)

ใช้สำหรับฆ่าเชื้อเข็มเขี่ยเชื้อ คือ inoculating needle และ inoculating loop ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ โดยเผาด้วยตะเกียงจนแดงร้อนสักครู่หนึ่ง นอกจากนี้ยังใช้ฆ่าเชื้อโดยการผ่านเปลวไฟไปมาโดยไม่ต้องรอให้แดงร้อน เพื่อฆ่าเชื้อที่ปากขวด หลอดเลี้ยงเชื้อ สไลด์ย้อมเชื้อเป็นต้น

1.1.3 การเผาจนไหม้ (Incineration)

วิธีนี้ใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Incinerator เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เพราะไฟจะเผาจุลินทรีย์ไหม้หมด ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
47224

1.1.4 การกรอง(Filtration)

เป็นการแยกแบคทีเรียออกจากของเหลว ใช้สำหรับของเหลวที่ถูกความร้อนหรือสารเคมีแล้วเสีย หรือเสื่อมคุณภาพ เครื่องกรองที่ใช้มีหลายแบบ ได้แก่ Seitz filter , Berkefeld filter ,Chemberland filter ,Sintered glass filter , Cellulose membrane filter

Membrane filter เป็นเครื่องกรองที่ใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในห้องปฏิบัติการและโรงงานอุตสาหกรรม บริษัทแรกที่ผลิตออกจำหน่ายคือ Millipore Filter Corporation of America จึงเรียก "Millipore Filter" แผ่นเยื่อกรองทำด้วย Cellulose ester มีขนาดรูต่างๆกันตั้งแต่ 0.025 – 8 ไมโครเมตรประสิทธิ์ภาพขึ้นอยู่กับขนาดรู(pore size) กระดาษกรองขนาดรู 0.22 ไมโครเมตรใช้กรองแบคทีเรีย ถ้าต้องการของเหลวจำนวนน้อยควรใช้ syring filter

เครื่องกรองและแผ่นเยื่อกรองทำให้ปลอดเชื้อได้โดยการนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.1.5 การฉายรังสี(Radiation)

รังสีที่ใช้คือ ionizing radiation และnon- ionizing radiation

ionizing radiation ได้แก่ รังสีเอกซ์ รังสีแกรมมา รังสีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อทุกเซลล์ชนิด รวมทั้งจุลินทรีย์ โดยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ โดยเฉพาะ ดีเอ็นเอ ของนิวเคลียส

ประโยชน์ ใช้ในการทำให้ปลอดเชื้อสำหรับกระบอกและเข็มฉีดยา ที่ทำด้วยพลาสติกชนิดใช้ครั้งเดียว ถุงมือยางชนิดใช้แล้วทิ้ง ยาปฏิชีวนะ ฮอร์โมน เป็นต้น

non- ionizing radiation ได้แก่แสงอัลตราไวโอเลต ช่วงคลื่นแสงที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดและใช้กันมากที่สุดคือ 2,537 อังสตรอม สามารถทำลายแบคทีเรียและไวรัสบางชนิด โดยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในกรดนิวคลีอิก ซึ่งสามารถทำลาย vegetative from ของแบคทีเรียได้มากกว่าสปอร์ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบไวต่อแสงนี้มาก ส่วนเชื้อ *Staphylococcus*และ *Streptococcus* จะทนต่อแสงได้ดีกว่า ส่วนระยะเวลาในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ intensity ของแสง ระยะทาง ชนิดและสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ ใช้ลดจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำดื่ม ในอากาศ ห้องผ่าตัด ห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ข้อควรระวัง ห้ามใช้แสงอัลตราไวโอเลต ขณะที่มีคนอยู่ในห้อง ซึ่งผู้ที่ได้รับแสงนี้อาจมีผื่นแดงที่ผิวหนัง และเยื่อบุตาอักเสบได้

1.1.6 คลื่นไมโครเวฟ

คลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดความร้อนได้มากในเวลารวดเร็ว โดยทั่วไปคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายเชื้อโรคต่างๆได้ภายใน 1 นาที ยกเว้นสปอร์ของแบคทีเรียต้องใช้เวลานาน 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 การพลาสเจอร์ไรซ์(Pasteurization)

เป็นวิธีการทำให้น้ำนมปลอดภัยในการบริโภค โดยไม่ทำให้กลิ่นและรสของนมเสียไป โดยทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทุกชนิดและจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคบางชนิด

1.2 ความร้อนชื้น (Moist heat)

การใช้ความร้อนชื้นทำลายจุลินทรีย์โดยทำลายเอนไซม์และโปรตีนในเซลล์เกิดการแข็งตัว (coagulation) ทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่า ใช้อุณหภูมิต่ำกว่าและเวลาน้อยกว่าความร้อนแบบแห้ง เพราะเมื่อมีความชื้นอยู่ด้วยโปรโตพลาสซึมจะแข็งตัวได้ดีกว่า

การทำลายเชื้อโดยความร้อนชื้นมี 3 วิธี คือ

1.2.1 การนึ่งฆ่าเชื้อ (Steam Under Pressure,Auto clave)

ใช้ไอน้ำความดันสูง เป็นวิธีที่ทำให้ปลอดเชื้อได้รวดเร็วและทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ ตามปกติใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที

ข้อควรระวังในการใช้ autoclave

1. ต้องไล่อากาศออกให้หมดโดยให้ไอน้ำเข้าไปแทนที่
2. ควรใช้ความดันไอน้ำภายในautoclaveไม่ต่ำกว่า15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
3. อุณหภูมิควรคงที่อยู่ที่ 121 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. หลังจากครบเวลาแล้วควรเปิดวาวล์ให้ความดันค่อยๆลดลงจนถึงศูนย์ ทิ้งไว้ประมาณ 2-3 นาทีจึงเปิดฝาหม้อนึ่ง เพื่อป้องกันของเหลวพุ่งขึ้นทำให้จุกเปียก หรือการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่เร็วเกินไปทำให้เครื่องแก้วแตกได้

5. วัสดุที่ใช้ต้องปราศจากไขมันหรือน้ำมัน

6. ห่อของต้องมีขนาดไม่เกิน 12x12x20 นิ้ว และไม่ควรใส่ของแน่นเกินไป การวาง ควรวางให้ขนานกัน อย่าวางซ้อนทับกัน

7. ถ้าเป็นขวดที่มีจุกหรือฝาเกลียวควรคลายเกลียวเสียก่อน

8. ควรใช้แถบเทปสำหรับตรวจสอบประสิทธิภาพของ autoclave

ประโยชน์ ใช้ในการทำของที่ไม่เสื่อมคุณภาพเมื่อถูกความร้อน เช่น เครื่องแก้ว ถุงมือยาง จุกยาง อาหารเลี้ยงเชื้อ กระบอกฉีดยา เป็นต้น

ไม่ควรใช้กับของชนิดต่อไปนี้

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

1.2.2 การต้มเดือด (Boiling)

ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที วิธีง่ายและสะดวก แต่มีข้อเสียคือ ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ วิธีนี้ใช้กับสิ่งของที่ไม่จำเป็นต้องฆ่าสปอร์ของแบคทีเรียให้ตายหมด จุดประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคส่วนใหญ่เท่านั้น

1.2.3 Fractional Sterilization

ใช้สำหรับฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิด ซึ่งถูกความร้อนโดยวิธีนึ่งไม่ได้เช่น อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต เจลาติน หรือ ซีรัม

วิธีการ ผ่านไอน้ำ 110 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที vegetative form ของแบคทีเรียจะถูกทำลาย แต่สปอร์ของแบคทีเรียไม่ถูกทำลาย นำของนั้นไปเข้าตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้สปอร์ของแบคทีเรียงอกเป็น vegetative form นำมาผ่านไอน้ำเดือนซ้ำอีกครั้ง ทำเช่นนี้ติดต่อกัน 3 วัน แบคทีเรียจะถูกทำลายหมด

2. การใช้ความเย็น (Cold)

มี 3 วิธีการดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ตู้เย็น(Refrigeration) ใช้ตู้เย็นธรรมดาอุณหภูมิ 2- 8องศาเซลเซียส จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแต่แบคทีเรียที่เจริญได้ในที่เย็นก็ยังคงสามารถเจริญได้

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

2.3 แช่แข็งแบบแห้ง (Freeze-drying) (Lyophilization) ใช้ในการเก็บรักษาจุลินทรีย์โดยทำให้แห้งในขณะที่เป็นน้ำแข็ง โดยวิธีการทำให้เกิดสูญญากาศและมีสารดูดความชื้น

ข. วิธีทางเคมี (Chemical methods)

ได้แก่การใช้สารเคมีที่เป็น disinfectants และ antiseptics กลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อจุลินทรีย์มีดังนี้ การก่อให้เกิดกระบวนการ coagulation หรือการเสียสภาพตามธรรมชาติ (d-7 naturetion)ของโปรตีน การละลายไขมัน การเกิดความเสียหายต่อกรดนิวคลีอิก การเพิ่มpermeability ของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งอาจทำให้เซลล์แตกและเกิดกระบวนการ alkylation oxidation เป็นต้น

สารเคมีที่เป็น disinfectantsและ antiseptics สามารถแบ่งได้ตามประสิทธิภาพโดย แบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้

High level disinfectants(HLD) มีความสามารถในการฆ่าจุลินทรีย์ต่างๆรวมทั้งสามารถทำลายสปอร์ได้

Intermediate level disinfectants (ILD) มีความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้ แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้

Low level disinfectants (LLD) ทำลายแบคทีเรียที่เป็นเซลล์ปกติ รวมทั้งแบคทีเรียที่มีความไวในการถูกทำลาย บางชนิดและไม่สามารถทำลายสปอร์ได้

2.10 กลการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์(Mode of action of antimicrobial agents)

กระบวนการที่จุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือทำลายด้วยวิธีการต่างๆดังที่กล่าวมาแล้วมีสาเหตุมาจากการทำลายส่วนต่างๆของเซลล์ของจุลินทรีย์ คือ

1. ทำลายผนังเซลล์หรือยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

พบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียถูกทำลายได้ด้วยเอมไซม์ ไลโซไซม (lysozyme) ที่พบในน้ำตา เม็ดเลือดขาว เมือก เป็นต้น โดยเอนไซม์นี้จะไปย่อยสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ทำให้เซลล์แตก (lysis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีบางชนิดอาจไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียทีกำลังเจริญเติบโต มีผลทำให้โพรโทพลาส (protoplast) ซึ่งทำให้เซลล์แตกในที่สุดสารเคมีชนิดนี้ได้แก่ Penicillins , Cephalosporins, D-cycloserine ,Bacitracin ,Vancomycin , Fosfomycin

2. เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยชั้น โปรตีน – ไลปิด – โปรตีน ซึ่งห่อหุ้มไซโตพลาสซึม(cytoplasm) ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร สารต้านจุลินทรีย์ชนิดนี้จะเข้าแทรกระหว่างชั้นโปรตีนกับไลปิด ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหน้าที่ เกิดการรั่วของสารในไซโตพลาสซึมออกมาทำให้เซลลล์ตาย สารเคมีชนิดนี้ได้แก่ ฟีนอล (phenal) สารซักฟอก สบู่ และยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Polymyxin B, Colistin

3. เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีน

เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์ประกอบด้วยโปรตีน ถ้ามีสารเคมีหรือสภาพใดๆทำให้โปรตีนเปลี่ยนไปจากสภาพธรรมชาติ(denature) จะมีผลทำลายเซลล์ไม่ให้เจริญเติบโต หรือทำลายจุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิสูงทำให้โปรตีนตกตะกอน และแข็งตัว สารเคมีชนิดนี้ ได้แก่ กรดด่าง แอลกอฮอล์ ยาได้แก่Choramphenical , Tetracyclines , Erythromycin , lincomycin เป็นต้น

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์ต่างๆจำเป็นในปฏิกิริยาเคมีของกระบวนการแมทาโบลิซึมในเซลล์ ดังนั้นถ้ามีตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) จะมีผลต่อกระบวนการต่างๆ เช่น กระบวนการไกลโคไลซีส(glycolysis) วัฏจักรเครปส์(Kreb's tricarboxylic acid cycle) และระบบไซโตโครม (Cytochrome system) สารชนิดนี้ได้แก่ ไซยาไนด์ ยับยั้งไซโตโครมออกซิเดสฟูออไรด์ ยับยั้งไกลโคไลซิส เป็นต้น สารที่เป็นออกซิไดซิง เอเจนต์(oxidising agent) เช่น ฮาโลเจน(halogens) และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ยาเช่น Sulfonamides , Trimethoprim , P-Aminosalicylic acid นอกจากนี้ยังมีไอออนของโลหะ เช่น เงิน ทองแดง และปรอท ซึ่งในสารเหล่านี้ ไอออนของโลหะมีฤทธิ์รุนแรงที่สุด โดยเฉพาะปรอท

5. การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (nucleic acid)

สารบางอย่างมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA โดยสารนั้นจะไปขัดขวางการสร้างหน่วยพื้นฐานของกรดนิวคลีอิก คือ พิวรีนและพิริมิดีนและไปขัดขวางการรวมตัวของนิวคลีโอไทด์ โดยยับยั้งการนำ thymineทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบรูณ์ ซึ่งมีผลให้กระบวนการเมทาบอลิซึม ผิดปกติและทำให้เซลล์ถูกทำลาย สารเคมีชนิดนี้ได้แก่ Nalidixic acid ยาได้แก่ Actinomycin , Rifampicin , Quinolone และ Novobiocin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 ขอบข่ายการต่อต้านจุลินทรีย์(Spectrum of Activity)

หมายถึง ความสามารถของสารเคมีชนิดหนึ่งในการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้มาก หรือ น้อยชนิด สารเคมีที่ออกฤทธิ์ได้กว้าง (Broad spectrum) หมายถึง สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทุกชนิด เช่น Tetracylines , Chloramphenicol เป็นต้น สารเคมีที่ออกฤทธิ์ได้แคบ (Narrow spectrum) หมายถึงสามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้น้อยชนิด ซึ่งจะใช้ได้ผลกับแบคทีเรียประเภทแกรมบวก (Gram positive)เช่นPenicillins เป็นต้น

2.12 สารต้านจุลินทรีย์ (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 หรือยั้บยั้งจุลินทรีย์ได้ เช่น Tetracylines , Penicillins เป็นต้น

1.3 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Products) หมายถึง สารที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืช ,สมุนไพร, สัตว์ หรือแหล่งแร่ธาตุ เป็นต้น

2. การออกฤทธิ์ต่อต้านจุลินทรีย์

แบ่งเป็น 2 แบบคือ

2.1 แบบยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Bacteriostatic Drug) หมายถึง ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ แต่ทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต

2.2 แบบฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal Drug) หมายถึง สารที่ฆ่าแบคทีเรียโดยไม่สามารถเจริญและแพร่พันธุ์ได้ โดยจะทำลายส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ได้แก่ DNA หรือผนังเซลล์ ซึ่งเป็นการทำลายอย่างถาวร

2.13 ตัวแปรที่มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

1. ความเข้มข้นของสารทำลายเชื้อ (concentration)

ความเข้มข้นของสารทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทำลาย โดยทั่วไปสารทำลายเชื้อที่มีความเข้มข้นสูงจะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ความเข้มข้นต่ำจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่านั้น มีข้อยกเว้นในบางกรณี เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ระยะเวลา (time)

ระยะเวลาที่สารทำลายสัมผัสกับเชื้อ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมี รวมทั้ง ชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์

3. อุณหภูมิ (Temperature)

ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราเร็วของปฏิกิริยาทางเคมีจะเพิ่มขึ้นด้วย และสารทำลายเชื้อจะออกฤทธิ์ได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกว่าเดิม

4. สภาพแวดล้อม

เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในหนอง เลือด เสมหะ อุจจาระ หรือ สารอินทรีย์ต่างๆ จะห่อหุ้มจุลินทรีย์เอาไว้ มีผลให้สารทำลายเชื้อไม่สามารถเข้าถึงตัวจุลินทรีย์ได้ และสารเคมีบางชนิดเมื่อรวมตัวกับสารอินทรีย์จะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้ออ่อนลง

2.14 วิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์สามารถทำได้หลายวิธี โดยมีวิธีหลัก 2 วิธี คือ Diffusion test และ Dilution test ซึ่งในการทดสอบจำเป็นต้องคำนึงถึงผลกระทบจากสิ่งต่อไปนี้ คือ การเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวนของinoculum ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ และชนิดของเชื้อที่ต้องการทดสอบ

1. Diffusion test

คือ การทดสอบโดยการให้สารต้านจุลินทรีย์ซึมเข้าในเนื้อวุ้น แล้วดูการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียซึ่งอยู่บนผิววุ้นหรือผสมอยู่ในเนื้อวุ้น สารต้านจุลินทรีย์ที่ใส่อาจอยู่ในรูปของ Disc คือ ใช้กระดาษกรองชุบสารต้านจุลินทรีย์ ซึ่งนิยมทำเป็นรูปกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หรือ อยู่ในรูปเม็ดคล้ายยา หรือ เจาะเป็นหลุมในวุ้นแล้วหยอดสารต้านจุลินทรีย์ลงไป สารต้านจุลินทรีย์จะซึมเข้าวุ้น แผ่รัศมีโดยรอบ โดยมีปริมาณลดลงตามสัดส่วนกับระยะห่างจากจุดเริ่มต้น แบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญได้ด้วย ปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ที่ไม่มีแบคทีเรียเจริญ ตั้งแต่บริเวณนั้นจะเกิดเป็นวงว่าง เรียกว่า Zone of inhibition การทดสอบโดยหลักการนี้มีใช้ อย่างกว้างขวาง อยู่ 2 วิธี คือ Disc diffusion method เป็นวิธีที่นำมาใช้สำหรับวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ที่ทราบปริมาณในรูปของ disc หรือ tablet และ Agar diffusion method เป็นวิธีที่นำมาใช้สำหรับวัดปริมาณสารต้านจุลินทรีย์ จากแหล่งอื่นๆ เช่น จากซีรุ่ม ปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง หรือ ตรวจสารต้านจุลินทรีย์ เพื่อวัตถุประสงค์อื่นที่ไม่เกี่ยวกับผู้ป่วย วิธีนี้สิ่งที่จะตรวจ คือ สารต้านจุลินทรีย์ซึ่งจะใส่ลงในหลุมและแบคทีเรียที่จะนำมาใช้ต้องเป็นที่ทราบความไวแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Dilution method

หลักการของวิธีนี้ คือ เจือจางสารต้านจุลินทรีย์เป็นปริมาณจากมากไปหาน้อย ใช้หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) อาจทำได้ 2 วิธีคือ

2.1 วิธีเจือจางในอาหารเหลว (tube dilution method) ทำโดยเจือจางสารเคมีเป็น 2 เท่า (two – fold dilution) ในอาหารเหลวแล้ว เติมเชื้อทดสอบลงไปเท่าๆกันทุกหลอด นำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดความขุ่น ด้วย nephelometer

2.2 วิธีเจือจางในอาหารแข็ง (agar dilution method) ทำโดยการเจือจางสารเคมีที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน แล้วผสมกับอาหารวุ้นขณะที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45- 55 องศาเซลเซียส แล้วเทลงจานแก้วให้สารเคมีและวุ้นผสมเข้าด้วยกัน สามารถผสมสารเคมีกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นตามต้องการ เมื่อวุ้นแข็งแล้ว นำเชื้อที่ต้องการมาทดสอบ โดยใช้ Loop หรือ Multipoint inculator มาแตะเป็นจุดๆ โดยให้มีความห่างพอสมควร ให้เริ่มเพาะเชื้อในจานที่มีความเข้มข้นต่ำก่อน ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนจานอาหารเดียวกันได้

2.15 แบคทีเรีย (Bacteria)

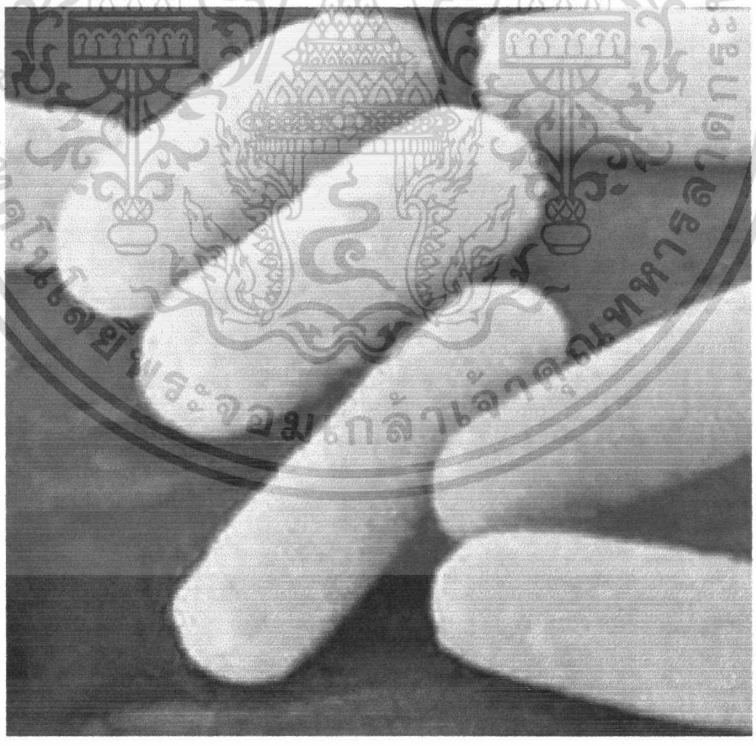
แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์พวกโพคาริโอค (Procaryote) มีเซลล์เดียว ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า สามารถมองเห็นได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ แบคทีเรียส่วนใหญ่มีรูปร่างคงที่แน่นอน มีรูปร่าง 3 แบบ คือ ทรงกลม (sphere) เรียกว่า ค็อกคัส (cocus) หรือ ค็อกไค (cocci) ทรงกระบอกหรือรูปท่อน (rod) เรียก บาซิลัส (bacillus) หรือ บาซิไล (bacili) และ รูปเกลียว (spiral) เรียกว่า สไปริลลัม (spirillum) หรือ สไปรลิไล (spirilli) แบคทีเรียสามารถพบได้กว้างขวางในธรรมชาติ บางชนิดก่อให้เกิดโรค บางชนิดมีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม การเกษตร และทางการแพทย์ ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทางขนาด รูปร่าง ลักษณะ และสมบัติด้านต่างๆด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. *Escherichia coli*

E. coli อยู่ในตระกลูเอนเทอโรแบคทีริเอซี (*Enterobacteriaceae*) อยู่ในสกุล *Escherichia* เป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ในลำไส้ ลักษณะสำคัญคือ

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. เป็นพวกแฟคัลเตตีฟแอรแอโรป (facultive anaerobe)
7. มีเซลล์แอนติเจนพิเศษ เรียกว่า เอนเทอโรแบคทีเรียคอมมอนแอนติเจน (entero bacterial common antigen)
8. ไม่ต้องการ Na^+ เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต



ภาพที่ 7 ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา: Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke and Christina L. Case, 1992 : 344

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *E. coli* เป็น lactose fermenter จัดเป็นแบคทีเรียโคลิฟอร์ (colifrom) เชื้อ *E. coli* มีหลายซีโรทัยป์ (serotype) และหลายไบโอทัยป์ (Biotype) พบมากที่สุดในลำไส้ใหญ่ ของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพน้ำและอาหาร

ทอกซิน(Toxin)

1. เอนโดทอกซิน

2. เอ็นเทโรทอกซิน (Enterotoxin) ซึ่งเป็นเอ็กโซทอกซินมีพลาสมิดเป็นตัวควบคุมการสร้างและมีผลต่อการทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วง แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Heat labile enterotoxin(LT)

2.2 Heat stable enterotoxin (ST)

คุณสมบัติของสารพิษทั้งสองนี้ แสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณสมบัติของสารพิษเอ็นเทโรทอกซิน

Heat labile enterotoxin(LT)	Heat stable enterotoxin (ST)
1.เป็นสารประกอบโปรตีน ทีมีโมเลกุล 86,000 ดาลตัน	1.เป็นสารประกอบพอลีเปป์ไทด์(polypeptides) เล็กๆ ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ราวๆ 18-50 โมเลกุล ประมาณ 25,000-51,000 ดาลตัน
2.ประกอบด้วย 2 ส่วนย่อยคือ A subunit ซึ่งมีฤทธิ์ในการจับกับเอนไซม์ได้ดี และ B subunit 5 ชิ้น ซึ่งอยู่รายล้อม A subunit ทำหน้าที่ในการจับ receptor ที่ crypt cell	2. สูตรโครงสร้างประกอบด้วย disulfide bond จำนวนมากจึงอาจเป็นสาเหตุให้ความทนทานต่อความร้อน
3.Principle receptor คือ GMI - ganglioside	3.ยังไม่ทราบว่า receptor คืออะไร

ที่มา:ขอนแก่น,มหาวิทยาลัย, 2540 : 122

1.1 โรคที่เกิดจาก *E. coli*

1. โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) เช่น กระเพาะ-ปัสสาวะอักเสบ ,กรวยไตอักเสบและไตอักเสบ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อแบบลามขึ้น (ascending route)

2. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infaction)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. โรคติดเชื้อทางกระแสโลหิต (bacteremia) เช่น ไตอักเสบ ไส้ติ่งอักเสบ ปอดบวม ฝีในตับ ถุงน้ำดีอักเสบซึ่งเกิดจากการเจริญและแบ่งตัวอย่างรวดเร็วภายในอวัยวะนั้นๆ

4 . เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกแรกเกิด (neonatal meningitis) เกิดกับทารกช่วงเดือนแรก โดยเฉพาะทารกที่คลอดก่อนกำหนด เนื่องจากภูมิคุ้มกันของเด็กแรกเกิดยังเจริญไม่เต็มที่

5. โรคอุจจาระร่วง (diarnhoeal diseases) เชื้อ *E. coli* ที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระ-ร่วงมี 5 ชนิดได้แก่

5.1 *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC)มีคุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์เหมือน ทอกซินของ *Vibrio cholerae* ทำให้เกิดอุจจาระร่วงคล้ายอหิวาตกโรคคือ มีการถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ ส่วนใหญ่เกิดในเด็กที่มีอายุต่ำกล่า 2 ปี

5.2 *Enteroinvasive E. coli*(EIEC) ก่อให้เกิดโรคคล้ายกับ *Shigella* ดังนั้นอาการของโรคจึงคล้ายกับโรคบิดและมักเกิดในเด็กโต คุณสมบัติของ EIEC ที่คล้ายกับ *Shigella* คือ ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลกโตส หรือ ถ้าย่อยสลายได้ก็จะเป็นไปอย่างช้าๆ และไม่มีก๊าซเกิดขึ้น และบางสายพันธุ์ของ EIEC ยังไม่สามารถเคลื่อนที่ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า EIEC มีแอนติเจน เหมือน *Shigella* เช่น *E. coli* O124 มี O-antigen เหมือนกับ O-antigen ของ *S. dysenteriae* type 3

5.3 *Enteropathogenic E. coli*(EPEC) เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงที่ระบาดในฤดูร้อน โดยลักษณะอุจจาระร่วงในตอนแรกเป็นน้ำ ต่อมามีมูกเลือดปน อาจมีอาการไข้ หรือ ไม่มีก็ได้ ร่างกายอ่อนเพลีย เพราะเสียน้ำ และอิเลคโตรไลท์มาก อาจช็อกและตายได้

5.4 *Enterrohemorrhagic E. coli*(EHEC) ทำให้เกิดอุจจาระร่วงที่มีเลือดออกมาด้วย ไม่มีอาการไข้ พบว่าเชื้อสามารถสร้าง verotoxin ซึ่งมีคุณสมบัติคล้าย Shiga toxin ของ *Shigella dysenteriae* type 1

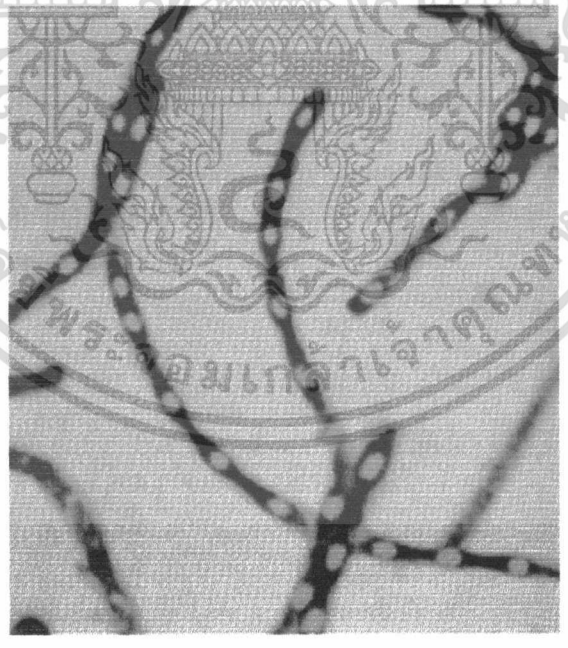
5.5 *Enteroaggregative E. coli*(EAEC)มีสมบัติ adherence pattern ต่อ mammalian cell culture ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงแบบเฉียบพลัน (ขอนแก่น, มหาวิทยาลัย, 2540 : 124)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 *Bacillus subtilis*

B. subtilis เป็นแบคทีเรียตระกูล *Bacillacieae* จัดอยู่ในตระกลู *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สร้างเอนโดสปอร์ (Endospore –Froming Gream –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 (Gram Positive)
6. เป็นแบคทีเรียพวกแอโรป(acrobe)และแฟคัลเตตีฟแอนแอโรป (facultative anaerobe)
7. สร้างเอกโซเอนไซม์ย่อยแป้งและเคซีน
8. สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ซึ่งทนความร้อน
9. ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียไม่มีโทษ พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ



ภาพที่ 8 ลักษณะเชื้อสกุล *Bacillus*

ที่มา: Kathleen Park Taloro and Arthur Talaro, 1999 : 594

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. subtilis เป็นแบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อนตรง เป็นแบคทีเรียพวกมีโซไฟล์ อุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้คือ 5-20 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 45- 55 องศาเซลเซียส ทนต่อความเป็นกรดต่ำ และกรดปานกลาง รวมทั้งความเค็มได้ดี จึงเป็นสาเหตุในการทำให้อาหารกระป๋องที่ฆ่าเชื้อไม่เพียงพอเน่าเสียได้ โดยเฉพาะพวกอาหารทะเลกระป๋อง

B. subtilis สามารถสลายเพคทินในเนื้อเยื่อพืช ทำให้พืช เช่น หัวมันฝรั่งเน่าเสียได้ นอกจากนี้ยังผลิตสารเมือกลีแวนจากน้ำตาลซูโครส และรัฟฟิโนสได้อีกด้วย

3 *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis*

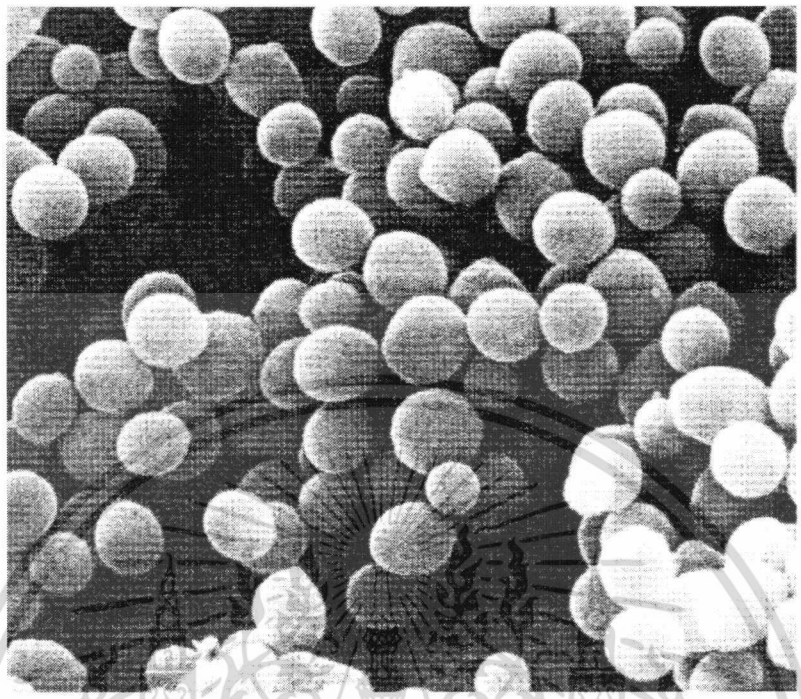
แบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมที่ใช้อากาศ หรือ เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (Aerobic or facultative Gram Positive cocci)ที่มีความสำคัญ ได้แก่ สกุล *Staphylococcus* ซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทุกระบบของร่างกาย

เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* เป็นแบคทีเรียวงศ์ *Micrococcaceae* สกุล *Staphylococcus* มีอย่างน้อยกว่า 30 ชนิด(species) ซึ่งอาศัยอยู่ตามส่วนต่างๆของร่างกายและพบมากบริเวณจมูก (nasopharynx)เชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์ คือ *S. aureus* และ *S. epidermidis*

ลักษณะทั่วไป

1. เซลล์มีรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นคู่ (pair) หรือ เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (staphyle)
2. เซลล์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7-1.2 ไมโครเมตร
3. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram Positive)
4. เป็นแบคทีเรียพวกแอโรป(aerobe)และแฟคัลเตตีฟแอนแอโรป(facultative anaerobe)
5. ไม่สร้างสปอร์และไม่เคลื่อนที่
6. พีเอช(pH) ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 7.0-7.5
7. อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 35-40 องศาเซลเซียส
8. โคโลนีมีลักษณะกลม ขอบเรียบ นูนทึบ โคโลนีของ *S. aureus* มีสีเหลืองทอง ส่วน *S. epidermidis* มีโคโลนีสีขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะเชื้อสกุล *Staphylococcus*

ที่มา: Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke and Christina L. Case, 1993 : 564

3.1 *Staphylococcus aureus*

เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมเรียงตัวเป็นกลุ่ม เลี้ยงได้ง่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อปกติ โดยที่โคโลนีที่ขึ้นจะมีขนาดเล็ก เห็นได้ชัดเจน และมักจะเป็นสีเหลืองทอง คุณสมบัติในการแยกเพาะเลี้ยงเชื้อ คือ ทนต่อความเข้มข้นของเกลือสูง (ร้อยละ 7.5 –10) ทนต่อความร้อน 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทนต่อความแห้งได้ดี บางครั้งสามารถแยกได้จากหนองที่แห้งกรังเป็นสัปดาห์ เชื้อนี้ ไม่สร้างสปอร์และไม่สามารถเคลื่อนที่ ได้ (เมธิน ผดุงกิจ, 2542 : 14)

Enterotoxin : *S. aureus* บางสายพันธุ์สร้างเอ็นเทโรทอกซินซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ และสร้างได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เอ็นเทอโรทอกซินมีทั้งหมด 7 ชนิด คือ A, B, C1, C2, C3 , D และ E สารนี้ทนความร้อนได้ดีและทำให้อาหารเป็นพิษในคน ประมาณ 30- 50 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อ *S. aureus* จะสร้างสารพิษตัวนี้ได้ Enterotoxin A พบว่าก่อให้เกิด อาหารเป็นพิษบ่อยที่สุด Enterotoxin C และ D พบในผลิตภัณฑ์นมบ่อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.1 การก่อโรค (Pathogenicity)

การที่ *S. aureus* สามารถทำให้เกิดโรคได้ เนื่องจากเชื้อสร้างสารพิษและเอนไซม์ได้หลายชนิดรวมกัน ทั้งคุณสมบัติในการบุกรุก (invasive) ทำให้เชื้อสามารถก่อโรคได้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเชื้อนี้มีอยู่ทั่วไปตามเยื่อเมือก ผิวหนัง และจมูก เป็นต้น ดังนั้นถ้ามีการฉีกขาด หรือ รอยแผลในบริเวณดังกล่าว เช่น มีแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก tramuma จากการผ่าตัด หรือผู้ป่วยเป็นโรคเรื้อรังอยู่แล้ว เช่น เบาหวาน มะเร็ง ตับแข็ง ก็จะช่วยให้เชื้อสามรถก่อความรุนแรงของโรคในระบบอื่นๆมากขึ้น โดยเฉพาะเมื่อเชื้อสามารถบุกรุกไปยังเนื้อเยื่อที่อยู่ลึกๆได้ ทำให้เกิด bacteremia และทำให้เกิดการกระจายของ เชื้อไปในหลายๆระบบทั่วร่างกาย(systemic infection)

3.1.2 โรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus*

สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. การติดเชื้อระดับผิวหนัง (Infections of the skin)
2. การติดเชื้อระดับลึกลงจากผิวหนัง(Deeper infection)
3. การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal tract staphylococcal infection)

1. การติดเชื้อระดับผิวหนัง (Infections of the skin)

1.1 ฝี (Furuncles , boils) เกิดจากการติดเชื้อบริเวณรูขุมขน ต่อมเหงื่อ ทำให้เกิดการอักเสบ

1.2 ฝีฝักบัว (Curbuncles) เป็นการติดเชื้อที่มีระดับรุนแรงกว่ากรณีข้างต้น

1.3 ฝี หรือ สิวบริเวณแสกหน้า(Carvernous sinus thrombosis) เกิดในรูปสามเหลี่ยมที่มีฐานอยู่บริเวณริมฝีปากบนและยอดระหว่างหัวคิ้ว

1.4 กุ้งยิง(Styles)เป็นการอักเสบที่ขอบเปลือกตา

1.5 ผิวหนังหลุดลอก มักพบในทารก เรียกว่า Ritter's disese

1.6 Cellulitisเป็นการอักเสบของผิวหนังที่มีการลุกลามอย่างรวดเร็ว

2. การติดเชื้อระดับลึกลงจากผิวหนัง(Deeper infection)

การติดเชื้อในระดับที่ลึกลงจากระดับผิวหนังมักเกิดการติดเชื้อจากส่วนหนึ่งของร่างกาย แล้วแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆ การติดเชื้อมักเกิดกับผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ

2.1 โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) ทำให้เกิดอาการไข้ หนาวสั่น สามารถทำให้ตายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ปอดบวม (Pneumonia) มักเกิดกับเด็กเล็ก และมีอาการรุนแรง ซึ่งอาจเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆเช่น เยื่อบุหัวใจอักเสบ(endocarditis) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ(meningitis) เป็นต้น

2.3 ไขกระดูกอักเสบ(Osteomyelitis) เป็นการติดเชื้อจากกระดูกแล้วเข้าสู่กระแสเลือด มักเกิดกับเด็กอายุต่ำกว่า12 ปี ผู้ป่วยมะเร็งหรือ ผู้ป่วยเบาหวาน

2.4 Toxic shock syndrome (TSS) ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง เกิดการช๊อก อาเจียน ท้องเสีย ปวดกล้ามเนื้อ ผิวหนังเป็นผื่นแดง เกิดการแข็งตัวของเลือด ภายใน 48 ชั่วโมง มีการทำลายของไตและตับ ซึ่งสามารถถึงตายได้

2.5 การติดเชื้อที่บาดแผล(Wound infection)

3. การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal tract staphylococcal infection)

อาหารเป็นพิษ (Food poisoning) เกิดจากกการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนด้วยสารพิษของ *S. aureus* เข้าไป จะเกิดอาการประมาณ 1- 6ชั่วโมง มีอาการคือ คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง มีอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ และมีไข้

3.2 *Staphylococcus epidermidis*

เป็นพวกไม่สร้างเอนไซม์ coagulase พบได้ตามผิวหนัง ,บนเยื่อเมือก mucous membrane ของทางเดินหายใจส่วนบน และในช่องหู เช่นเดียวกับที่พบเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากเชื้อนี้เป็นเชื้อประจำถิ่นในส่วนต่างๆของร่างกาย จึงทำให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้ ซึ่งเชื้ออาจมาจาก ผู้ป่วยเอง หรือบุคลากรในโรงพยาบาล ซึ่งเชื้อนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาส และปัจจุบันก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น โดยเฉพาะผู้ที่มีภูมิต้านทานต่ำ สามารถเกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิตได้ง่าย นอกจากนี้ ยังสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ติดเชื้อ ที่บาดแผล เยื่อบุหัวใจอักเสบ เป็นต้น อย่างไรก็ตามความสามารถในการบุกรุกและสร้างสารพิษของเชื้อนี้ยังต่ำกว่า *S. aureus* ดังนั้น ความรุนแรงของโรคจึงมีน้อยกว่า *S. aureus*

คุณสมบัติโดยทั่วไปของ *S. epidermidis* คล้ายกับ *S. aureus* ต่างกันตรงที่ *S. epidermidis* ไม่สร้างเอนไซม์ coagulase ไม่มี homolysin ไม่มี ferment น้ำตาล manitol และไม่มี protein A เชื้อนี้ดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น methicillin cephalosporin aminoglycoside ดังนั้นจึงควรทดสอบความไวก่อนเลือกใช้ยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัสดุ

ผลิตภัณฑ์ผงไหมฉายรังสี

-ผงไหมฉายรังสี	500	กิโลเกรย์
-ผงไหมฉายรังสี	1,000	กิโลเกรย์

เชื้อแบคทีเรีย

1. *Escherichia coli*
2. *Bacillus subtilis*
3. *Staphylococcus aureus*
4. *Staphylococcus epidermidis*

สารเคมีและวัสดุอื่นๆ

1. แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
2. อาหารเหลว (Nutrient broth) ของบริษัท Difco Thailand จำกัด
3. กระดาษกรองแบคทีเรีย (millipore) ขนาด 0.22 ไมโครมิลลิเมตร
4. syringe พลาสติกขนาด 5 ml.
5. ถุงมือยาง

3.1.2 อุปกรณ์

1. หลอดทดลองพลาสติก (tube)
2. หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว
3. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร และ 10 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์

ขนาด 250	มิลลิลิตร	2	ใบ
ขนาด 500	มิลลิลิตร	1	ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 800 มิลลิลิตร 1 ใบ

5 . เข็มเขี่ยเชื้อ (loop)

6 . ไมโครปิเปต (Micropipett)

7 . ปากคีบ (Forcepe)

8 . ช้อนตักสารเคมี

9 . กระดาษฟอยส์

10. เครื่องเขย่าหลอด (vortex mixer)

11. เครื่องหมุนเหวี่ยง

12. เครื่องวัดความขุ่น (Spectrophotometer)

13. Water bath

3.2 วิธีการ

3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยใช้ Nutrient broth ซึ่งเป็นอาหารเหลวสำเร็จรูป ของบริษัท Difco Thailand จำกัด ปริมาณ 2 กรัม และน้ำกลั่น 250 มิลลลิลิตร นำส่วนผสมทั้งหมดใส่รวมกันในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิตร จนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกันและใส จากนั้นถ่ายใส่หลอดทดลองปริมาณ 10 มิลลิลิตร , 9 มิลลิลิตร และ 4 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อน 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3.2.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

- เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ มี 4 ชนิด คือ*E. Coli* , *B. subtilis* , *S. aureus* , *S. epidermidis* ต้องมีอายุ 18 –24 ชั่วโมง โดยการ Subculture เชื้อจาก stock แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ต้องมีปริมาณเชื้อ 1.6 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยนำเชื้อแบคทีเรียมาวัดความขุ่นที่ OD 660 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ซึ่งค่า OD 660 nm ที่ได้ต้องอยู่ระหว่า 0.010 –0.020

<u>ขั้นตอนการปรับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์</u>

นำสารละลายที่บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส มาวัดค่า OD 660 nm ถ้าความขุ่นมากกว่า 0.020 แสดงว่าเชื้อนั้นมีปริมาณมากกว่า 1.6 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงต้องนำเชื้อแบคทีเรียมาเจือจางเพื่อปรับปริมาณให้ได้ตามค่าที่กำหนด โดยดูดเชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเหลวที่มีปริมาณ 9 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองและเขย่าด้วยเครื่องเขย่าหลอดทดลอง นำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer ซึ่งค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 0.010-0.020

ตารางที่ 7 ค่าความขุ่นที่ OD 660 nm ของแบคทีเรีย

แบคทีเรีย	ค่าความขุ่นที่ OD 660nm (นาโนเมตร)
E. coli	0.013
B. subtilis	0.012
S. aureus	0.010
S. epidermidis	0.011

3.2.3 การเตรียมตัวอย่างผงไหมฉายรังสี

1. นำผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ และ 1,000 กิโลเกรย์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนทั้งหลอดพลาสติก (tube) และผงไหมฉายรังสี (a)

2. ละลายผงไหมฉายรังสี (จากข้อ 1) กับน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ (sterilise) แล้วปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายเข้ากันดี นำไปอุ่นใน Water bath อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว ปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 rpm. นาน 30 นาที

3. ดูดสารละลายผงไหม 1 % , 3% , 5%, 10 % (500 กิโลเกรย์) ผ่านที่กรองแบคทีเรีย (milli pore size 0.22 μm) และความเข้มข้น 1 % , 3% , 5%, 10 %(1,000 กิโลเกรย์) ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง 500 กิโลเกรย์ เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

4. นำส่วนตะกอนที่เหลือ ไปอบในตู้ไมโครเวฟ (Microwave) นาน 5 นาที จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตะกอน (b)

5. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ การละลายของผงไหม ดังนี้

(a) – (b) = (c)

โดย (a) หมายถึง น้ำหนักของผงไหม

(b) หมายถึง น้ำหนักของตะกอน

(c) หมายถึง เปอร์เซ็นต์ของผงไหมที่ละลาย

ได้แสดงผลดังตารางที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การละลายของผงไหมฉายรังสี

หลอดที่	ผงไหม(กรัม) (a)	ตะกอน(กรัม) (b)	%การละลาย (c)	%ที่คาดหวัง
1	0.01	0.00325	0.675	1
2	0.03	0.01545	0.145	3
3	0.05	0.01955	3.045	5
4	0.10	0.06265	3.735	10
5	0.01	0.00580	0.420	1
6	0.03	0.01960	1.040	3
7	0.05	0.02540	2.460	5
8	0.10	0.07325	2.675	10

หมายเหตุ หลอดที่ 1-4 ฉายรังสี 500 กิโลเกรย์
หลอดที่ 5-8 ฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์

3.2.4 การทดลองหาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

1. นำสารละลายที่มีความเข้มข้น 5 %,10 %(จากข้อ 3)ปริมาณ 800 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดที่มีอาหารเหลว (Nutrient broth) 4 มิลลิลิตร จำนวน 16 หลอด (5 % 8 หลอด , 10 % 8 หลอด)

2. เติมเชื้อแบคทีเรียในข้อ 3.2.2 ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว โดยเติมเชื้อ *E. coli* ลงในความเข้มข้น 5% 2 หลอด (500 กิโลเกรย์ 1 หลอด , 1,000 กิโลเกรย์ 1 หลอด) เชื้อ *B. subtilis* , *S. aureus* , *S. epidermidis* ทำเช่นเดียวกับ *E. coli*

3. บ่มเลี้ยงในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18- 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญเติบโตโดยการวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectohpotometer หลอดอาหารที่มีค่าความใสมากที่สุด คือหลอดที่แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด นั้นหมายถึงผงไหมที่ใส่มีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยี-พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2544 – ตุลาคม 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากที่ได้ทำการทดลองศึกษาการละลายของผงไหมที่ฉายรังสีโดยใช้ผงไหมปริมาณ 0.01, 0.03 , 0.05 และ 0.10 ละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ทดลองกับผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์ และ 1,000 กิโลเกรย์ พบว่า การละลายของผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์มีปริมาณการละลายมากกว่า ผงไหมฉายรังสีที่ 1,000 กิโลเกรย์ ซึ่งได้แสดงไว้ดังตารางที่ 9 นั่นแสดงว่าผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์มีการละลายดีกว่า ผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์

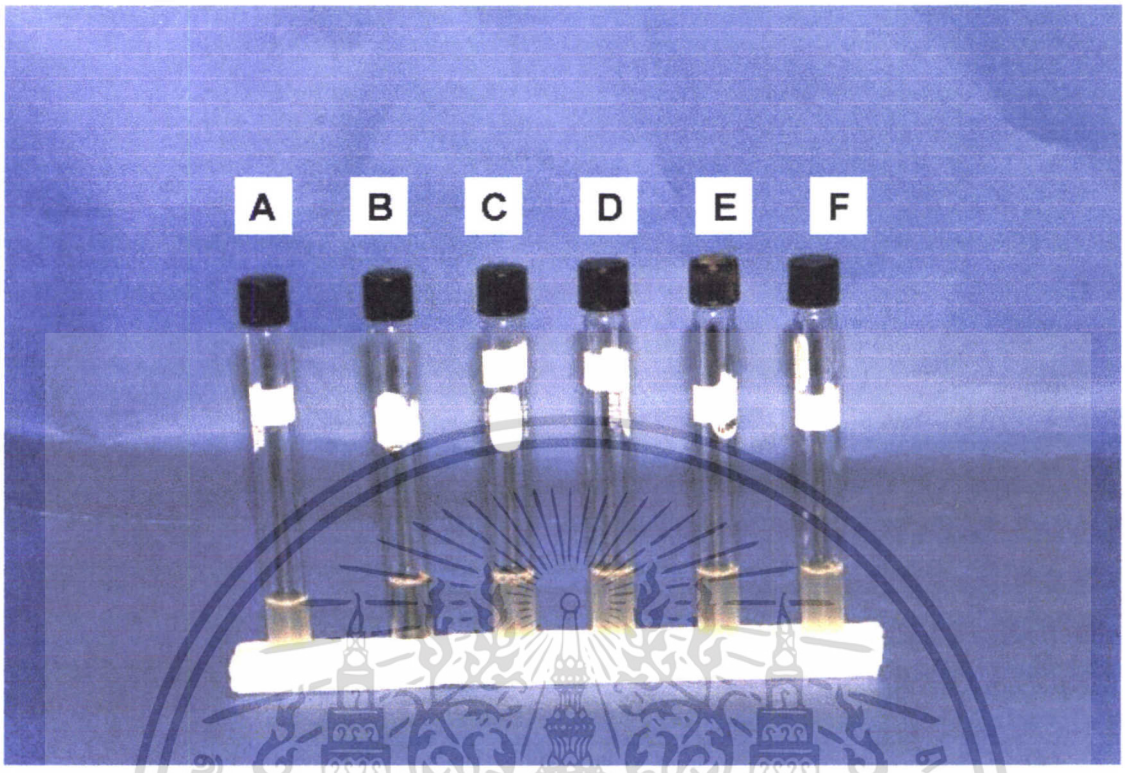
ตารางที่ 9 การละลายของผงไหมฉายรังสี

ผงไหม (กรัม)	เปอร์เซ็นต์การละลายของผงไหมฉายรังสี(%)		เปอร์เซ็นต์ที่คาดหวัง (%)
	500 กิโลเกรย์	1,000 กิโลเกรย์	
0.01	0.675	0.420	1
0.03	0.145	1.040	3
0.05	3.045	2.460	5
0.10	3.735	2.675	10

จากการทดลองหาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดคือ *E. coli* , *B. subtilis* , *S. aureus* , *S. epidemidis* ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว (Nutrient broth) นำสารละลายผงไหมที่มีความเข้มข้น 5% และ10% ปริมาณ 800 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ซึ่งได้ผลการทดลองดังภาพที่ 10 และ 11

ผลการตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของผงไหมฉายรังสีต่อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด โดยวัดความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer หลอดอาหารที่ใสมากที่สุด คือหลอดที่มีการเจริญเติบโตต่ำสุด หมายถึงผงไหมฉายรังสีที่ใส่มีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 การเปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อ *Escherichia coli*

A คือ หลอดทดลองอาหารเหลว(Nutrient broth)กับเชื้อ *Escherichia coli*

B คือ หลอดทดลองอาหารเหลว(Nutrient broth)กับสารละลายผงไหมฉายรังสี

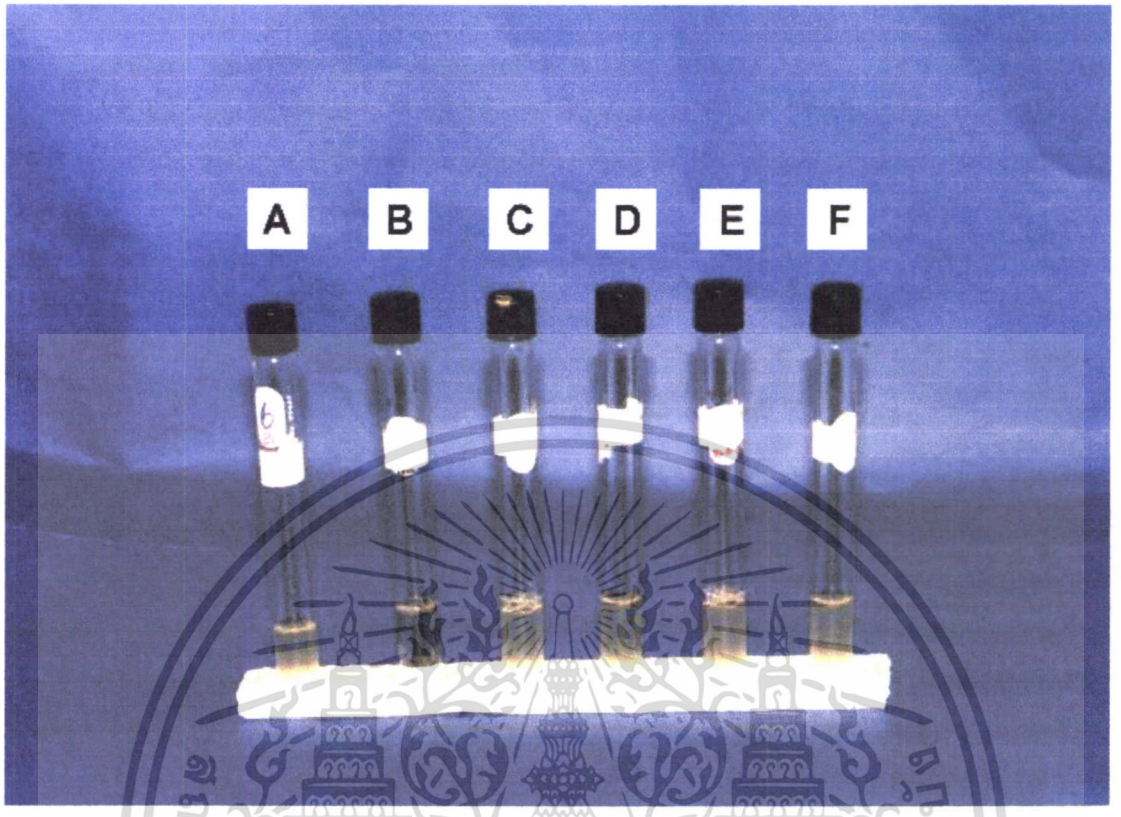
C คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 5 %

D คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 10%

E คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 5 %

F คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 10%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 การเปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อ *Bacillus subtilis*

A คือ หลอดทดลองอาหารเหลว(Nutrient broth)กับเชื้อ *Bacillus subtilis*

B คือ หลอดทดลองอาหารเหลว(Nutrient broth)กับสารละลายผงไหมฉายรังสี

C คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 5 %

D คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 10%

E คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 5 %

F คือ หลอดทดลองสารละลายผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ความเข้มข้น 10%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองชุดที่ 1 ทดสอบเชื้อ *E. coli* พบว่าปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงจาก Control 3 เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ 31.83% ,18.01 % ,13.20 %, 12.11% ซึ่งทดสอบกับผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5 % , 10 % และผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5% ,10% ตามลำดับ ดังตารางที่ 10 นั่นแสดงว่าสารละลายผงไหมที่ทำการทดสอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้

การออกฤทธิ์ต่อต้านจุลินทรีย์ มี 2 แบบคือแบบยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Bacteriostatic Drug) หมายถึง ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ แต่ทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต และแบบฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal Drug) หมายถึง สารที่ฆ่าแบคทีเรียโดยไม่สามารถเจริญและแพร่พันธุ์ได้ โดยจะทำลายส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ได้แก่ DNA ,ผนังเซลล์ ซึ่งเป็นการทำลายอย่างถาวร

ตารางที่ 10 ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *E. coli*

หลอดทดลอง	ความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี	ค่าOD 660นาโนเมตร	OD 660นาโนเมตรที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)
Control 1	NB+สารละลายผงไหม5% (4 ml +800 µl)	0.019	-
Control 2	NB+สารละลายผงไหม 10% (4 ml +800 µl)	0.022	-
Control 3	NB+ *E. coli* (4ml+100 µl)	0.644	-
E. coli	0.05(500KG)	0.458	31.83
	0.10(500KG)	0.550	18.01
	0.05(1000KG)	0.578	13.20
	0.10(1000KG)	0.588	12.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองชุดที่ 2 ทดสอบเชื้อ *B. subtilis* พบว่าปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ลดลงจาก Control 3 เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ 9.26%และ 4% ซึ่งทดสอบกับผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5%และ 10% สำหรับผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ที่ความเข้มข้น 5%และ 10 % ไม่พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลง ดังตารางที่ 11เนื่องจาก *B. subtilis* จัดอยู่ในตระกูล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกสร้างเอนโดสปอร์ (Endospore –Froming Gream –Positive Bacteria) ซึ่งทนความร้อนและสภาพแวดล้อมได้ดี

นั่นแสดงว่าสารละลายผงไหมที่ทำการทดสอบมีแนวโน้มในการต้านเชื้อ *B. subtilis* ได้เล็กน้อย ซึ่งในการฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียนั้นขึ้นอยู่กับหลายตัวแปรเช่น ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ ระยะเวลา อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมด้วย

ตารางที่ 11 ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *B. subtilis*

หลอดทดลอง	ความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี	ค่าOD 660นาโนเมตร	OD 660นาโนเมตรที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)
Control 1	NB+สารละลายผงไหม5% (4 ml +800 µl)	0.019	-
Control 2	NB+สารละลายผงไหม 10% (4 ml +800 µl)	0.022	-
Control 3	NB+ *B. subtilis* (4ml+100 µl)	0.475	-
B. subtilis	0.05(500KG)	0.450	9.26
	0.10(500KG)	0.478	4
	0.05(1000KG)	0.526	-
	0.10(1000KG)	0.570	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองชุดที่ 3 ทดสอบเชื้อ *S. aureus* พบว่าปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลดลงจาก Control 3 เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ 33.68% ,15.56% ,24.62% และ 6.15% ซึ่งทดสอบกับผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5 % , 10 % และผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5% ,10% ตามลำดับดังตารางที่12นั่นแสดงว่า สารละลายผงไหมที่ทำการทดสอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้

ตารางที่ 12 ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *S. aureus*

หลอดทดลอง	ความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี	ค่าOD 660นาโนเมตร	OD 660นาโนเมตรที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)
Control 1	NB+สารละลายผงไหม5% (4 ml +800 µl)	0.019	-
Control 2	NB+สารละลายผงไหม 10% (4 ml +800 µl)	0.022	-
Control 3	NB+ *S. aureus* (4ml+100 µl)	0.585	-
S. aureus	0.05(500KG)	0.407	33.68
	0.10(500KG)	0.516	15.56
	0.05(1000KG)	0.460	24.62
	0.10(1000KG)	0.571	6.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองชุดที่ 4 ทดสอบเชื้อ *S. epidermidis* พบว่าปริมาณเชื้อ *S. epidermidis* ลดลงจาก Control 3 เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ 18.08% และ 4.46% ซึ่งทดสอบกับผงไหมฉายรังสี1,000 กิโลเกรย์ ที่ความเข้มข้น 5% ,10% ตามลำดับสำหรับผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ที่ความเข้มข้น 5%และ 10 % ไม่พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลง ดังตารางที่ 13คุณสมบัติโดยทั่วไปของ *S. epidermidis* คล้ายกับ *S. aureus* ต่างกันตรงที่ *S. epidermidis*ไม่สร้างเอนไซม์ coagulase ,ไม่มี homolysin , ไม่มี ferment น้ำตาล manitol และไม่มี protein A เชื้อนี้ดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น methicillin , cephalosporin aminoglycoside

นั่นแสดงว่าสารละลายผงไหมที่ทำการทดสอบมีแนวโน้มในการต้านเชื้อ *S. epidermidis*ได้เล็กน้อย ซึ่งในการฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียนั้นขึ้นอยู่กับหลายตัวแปรเช่น ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ ระยะเวลา อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมด้วย

ตารางที่ 13 ค่าความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตร จากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของ *S. epidermidis*

หลอดทดลอง	ความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี	ค่าOD 660นาโนเมตร	OD 660นาโนเมตรที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)
Control 1	NB+สารละลายผงไหม5% (4 ml +800 µl)	0.019	-
Control 2	NB+สารละลายผงไหม 10% (4 ml +800 µl)	0.022	-
Control 3	NB+ *S. epidermidis* (4ml+100 µl)	0.585	-
S. epidermidis	0.05(500KG)	0.485	-
	0.10(500KG)	0.504	-
	0.05(1000KG)	0.426	18.08
	0.10(1000KG)	0.450	4.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากที่ได้ทำการทดลองศึกษาการละลายของผงไหมที่ฉายรังสีที่ 500กิโลเกรย์และ 1,000 กิโลเกรย์ พบว่า การละลายของผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์มีปริมาณการละลายมากกว่าผงไหมฉายรังสีที่ 1,000 กิโลเกรย์นั่นแสดงว่าผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์มีการละลายดีกว่าผงไหมฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์

จากการทดลองหาความเข้มข้นระดับต่ำสุดของผงไหมฉายรังสีที่มีฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารละลายผงไหมที่มีความเข้มข้น 5% และ10% ของผงไหมฉายรังสีที่ 500 กิโลเกรย์และ ผงไหมฉายรังสีที่ 1,000 กิโลเกรย์ ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดคือ *E. coli* , *B. subtilis* , *S. aureus* , *S. epidemidis* โดยใช้ปริมาณผงไหม 800 มิลลิลิตรต่อเชื้อปริมาณ 100 มิลลิลิตร ตรวจสอบโดยวัดความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer พบว่าผงไหมฉายรังสีมีแนวโน้มในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *S. epidemidis* ได้เล็กน้อยและสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*และ *S. aureus* ได้ ดี โดยที่ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นของผงไหมฉายรังสี 500 กิโลเกรย์ค่าความขุ่น(OD) ของสารละลายเชื้อ *E. coli* ลดลงไป31.03และ 18.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ค่าความขุ่น(OD)ของสารละลายเชื้อ *S. aureus* ลดลง ไป 33.68และ 15.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนที่ฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์ ค่าความขุ่น (OD) ของสารละลายเชื้อ *E. coli* ลดลงไป 13.02และ 12.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในขณะที่ค่าความขุ่น(OD)ของสารละลายเชื้อ *S. aureus* ลดลง ไป 24.62 และ 6.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ดังนั้นผงไหมฉายรังสีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli*และ *S. aureus* ได้ คือ 5 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผงไหมฉายรังสีที่ใช้ทดลองเป็นผงไหมฉายรังสีจากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีราคาแพง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาทดลองกับผงไหมที่มีในประเทศไทย ซึ่งจะทำให้ประหยัดทั้งทางด้านต้นทุนและทรัพยากร เนื่องจากการนำผงไหมที่ผลิตได้ในประเทศไทยมาใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ จะเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ไหมอีกด้วย

ในการศึกษาทดลองเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ หากต้องการให้ผงไหมฉายรังสีมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียได้ ควรเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี

ผลการทดลองนี้สามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูล พื้นฐานให้กับผู้ที่ต้องการทำวิจัย หรือจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กฤติกา ณ เชียงใหม่ . 2541. ผลยับยั้งของสารสกัดจากเห็ดรับประทานได้ต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด . เชียงใหม่ : วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ . 83 น.

เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัย ภาควิชาจุลชีววิทยา . 2536 . จุลชีววิทยาปฏิบัติการ . กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์นวกนก . 327 น.

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง สถาบันวิจัยหม่อนไหม . 2538 . เอกสารวิชาการผลิตไข่ไหม . กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร. 53 น .

ขอนแก่น, มหาวิทยาลัย . 2531. จุลชีววิทยาคลีนิค:แบคทีเรียวิทยาคลีนิค .ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น . 370 น .

_____ . 2540 . แบคทีเรียวิทยาทางการแพทย์ . ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา . 314 น.

จงกลณี แววหงษ์ . 2540 . ผลของสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในว่านหางจระเข้ที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการทำโยเกิร์ต . กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.191 น.

จรรยา ปั้นเหน่งเพชร . 2543 . กระบวนการผลิตเส้นไหมคุณภาพ . แพร่ : ศูนย์วิจัยหม่อนไหมแพร่ . 139 น.

จริยา ชมวารินทร์และคณะ . 2541 . แบคทีเรียวิทยาพื้นฐาน . ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา . 325 น .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดวงพร คันธโชติ . 2537 . อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ . กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ . 202 น .

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ . 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป . กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . 735 น .

นวพร ลำเลิศกุล . 2531 . จุลชีววิทยา : แบคทีเรีย . เชียงใหม่ : โรงพิมพ์สหวิทยาล้านนา . 380 น .

นันทนา อรุณฤกษ์ . 2537 . การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรป . กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ . 411 น .

บัญญัติ สุขศรีงาม . มปป . จุลชีววิทยาทั่วไป . พิมพ์ครั้งที่ 3 . กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ . 507 น.

พวงพร โชติกไกร . 2533 . สรีระวิทยาของแบคทีเรีย . พิมพ์ครั้งที่ 3 . กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง . 682 น .

เมธิน ผดุงกิจ . 2542 . ผลของบัวบกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสองชนิดที่ก่อโรคผิวหนัง . มหาสารคาม : วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม . 109 น .

วีระศักดิ์ อุดมกิจเดชา . 2542 . วิทยาศาสตร์เส้นใย . กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . 314 น.

สุนทรี ขันธพิรัญ . 2538 . การคัดแยกน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย . กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์ . 99 น.

สุวณี สุภเวชและคณะ . 2536 . แบคทีเรียพื้นฐาน . กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ศิริยอด . 248 น .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรีลักษณ์ รอดทอง . 2527 . การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะซึ่งมีผลต่อบักเตรี ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตและคุณสมบัติบางประการของสารที่ผลิตได้ . กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 190 น.

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

_____ . 1993 . Microbiology An Introduction . 4th ed . California : The Benjamin/Cummings . 810 p .

Kathleen Park Taloro and Arthur Talaro . 1999 . Foundations in Microbiology . 3rd ed . United States of America : The McGraw-Hill . 873 p .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ตารางแสดงการละลายของผงไหมฉายรังสี

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมตัวอย่างผงไหมฉายรังสี

น้ำหนักของผงไหมฉายรังสี (กรัม)	จำนวน tube		ระดับความเข้มข้น (%)
	500 KG.	1,000KG	
0.01	4	4	1
0.03	4	4	3
0.05	4	4	5
0.10	4	4	10

ตารางภาคผนวกที่ 2 การละลายของผงไหมฉายรังสี (ครั้งที่ 1)

หลอดที่	ผงไหม(กรัม) (a)	ตะกอน(กรัม) (b)	%การละลาย (c)	%ที่คาดหวัง
1	0.01	0.0028	0.72	1
2	0.03	0.0159	1.41	3
3	0.05	0.0195	3.05	5
4	0.10	0.0633	3.67	10
5	0.01	0.0059	0.41	1
6	0.03	0.0202	0.98	3
7	0.05	0.0254	2.46	5
8	0.10	0.0749	2.51	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 การละลายของผงไหมฉายรังสี (ครั้งที่ 2)

หลอดที่	ผงไหม(กรัม) (a)	ตะกอน(กรัม) (b)	%การละลาย (c)	%ที่คาดหวัง
1	0.01	0.0037	0.63	1
2	0.03	0.0150	1.50	3
3	0.05	0.0196	3.04	5
4	0.10	0.0620	3.80	10
5	0.01	0.0057	0.43	1
6	0.03	0.0190	1.10	3
7	0.05	0.0254	2.46	5
8	0.10	0.0716	2.84	10

หมายเหตุ 1-4 ฉายรังสี 500 กิโลเกรย์

5-8 ฉายรังสี 1,000 กิโลเกรย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

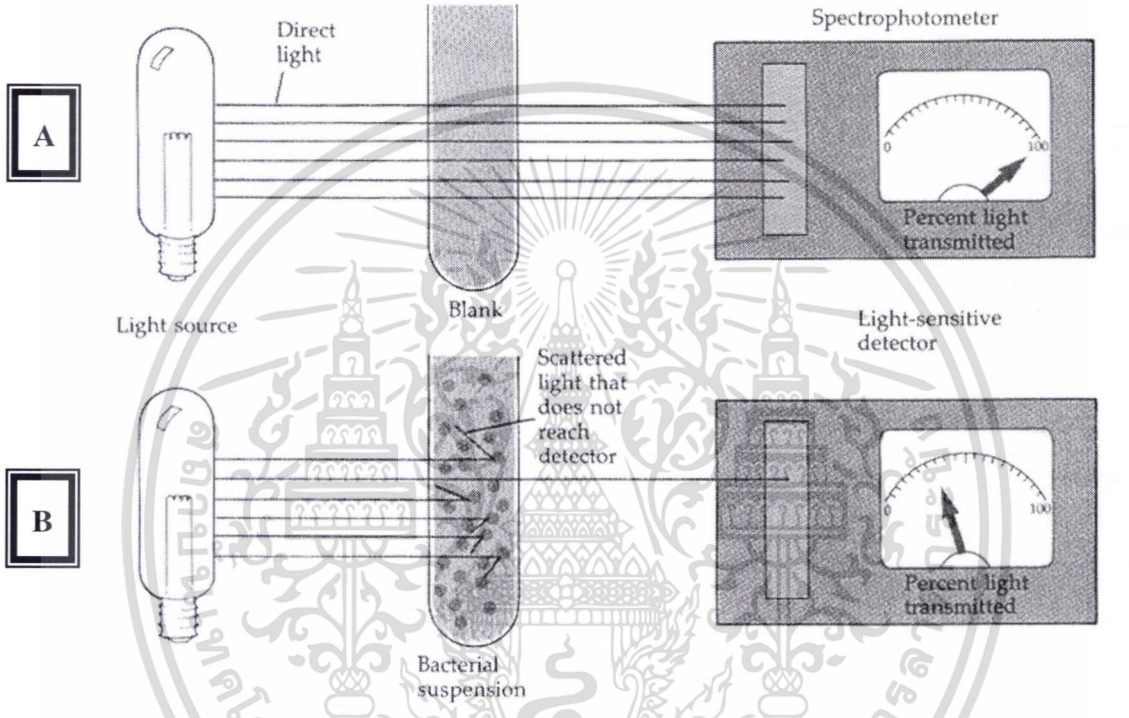
ตารางภาคผนวก 4. ความขุ่นที่ OD 660 นาโนเมตรหลังการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรีย	ความเข้มข้นของสารละลายผงไหมฉายรังสี	OD 660nm (นาโนเมตร)	OD 660nm –OD 660nm ของสารละลายผงไหม	OD 660 nm ที่ลดลง	% ที่ลดลง
Control 1	NB+สารละลายผงไหม5% (4 ml +800 µl)	0.019	-	-	-
Control 2	NB+สารละลายผงไหม 10% (4 ml +800 µl)	0.022	-	-	-
Control 3	NB+ E. coli (4ml+100 µl)	0.644	-	-	-
E. coli	0.05(500KG)	0.458	0.439	0.205	33.81
	0.10(500KG)	0.550	0.528	0.116	18.01
	0.05(1000KG)	0.578	0.559	0.085	13.20
	0.10(1000KG)	0.588	0.566	0.078	12.11
Control 3	NB+ B. subtilis (4ml+100 µl)	0.475	-	-	-
B. subtilis	0.05(500KG)	0.450	0.431	0.044	9.24
	0.10(500KG)	0.478	0.456	0.019	4
	0.05(1000KG)	0.526	-	-	-
	0.10(1000KG)	0.570	-	-	-
Control 3	NB+ S. aureus (4ml+100 µl)	0.585	-	-	-
S. aureus	0.05(500KG)	0.407	0.388	0.197	33.68
	0.10(500KG)	0.516	0.494	0.091	15.56
	0.05(1000KG)	0.460	0.441	0.144	24.62
	0.10(1000KG)	0.571	0.549	0.036	6.15
Control 3	NB+ S. epidermidis (4ml+100 µl)	0.448	-	-	-
S. epidermidis	0.05(500KG)	0.485	0.499	-	-
	0.10(500KG)	0.504	0.482	-	-
	0.05(1000KG)	0.426	0.407	0.081	18.08
	0.10(1000KG)	0.450	0.428	0.020	4.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer



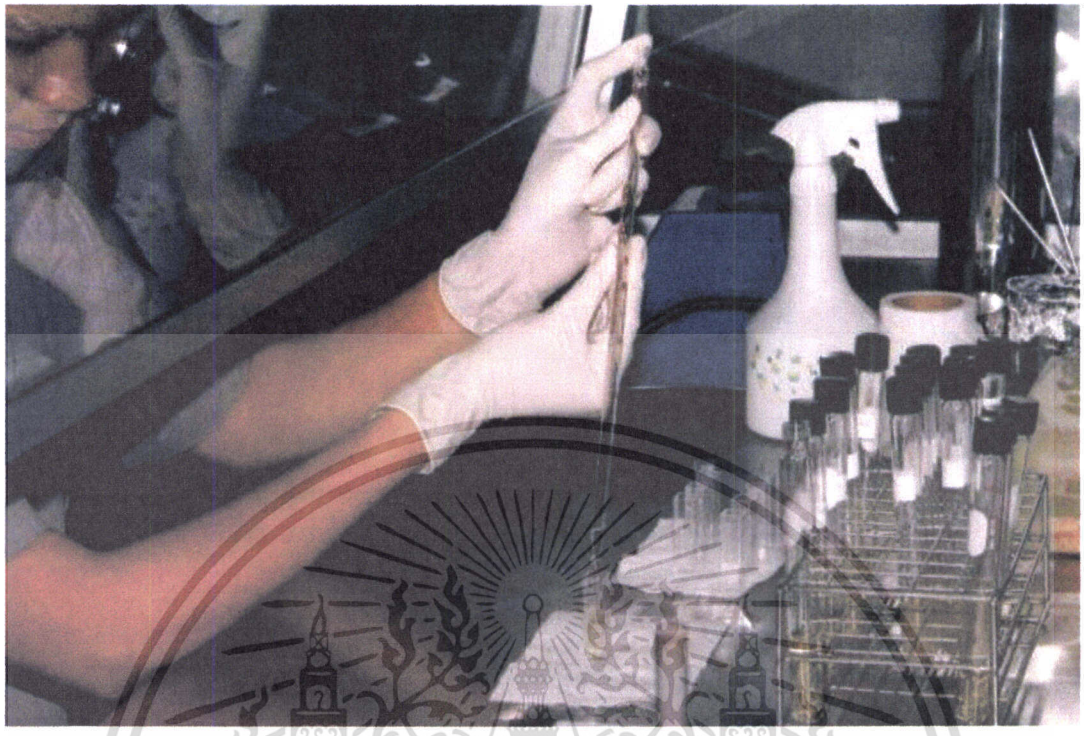
ภาพภาคผนวกที่ 1 ขั้นตอนการวัดความขุ่น

A. ขั้นแรกต้องปรับค่า optical density (OD) เป็น 0 หรือมีการผ่านของแสงเป็น 100 % โดยใช้หลอดที่ใส่น้ำกลั่นหรืออาหารเลี้ยงเชื้อ

B. การวัดหลอดที่มีแบคทีเรีย ค่า OD จะเพิ่มขึ้น อ่านค่าเป็นตัวเลขที่ได้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 2 การถ่ายเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้