



## โครงการวิจัย

### เรื่อง

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่

### โดย

นายธนภพ	โสตรโยม
นางเกศรินทร์	เพ็ชรรัตน์
นายนพพร	สกุลยี่นงสุข
นางสาวดวงกมล	ตั้งสถิตพร
นางสาวดวงรัตน์	แซ่ตั้ง
นายกิตติ	ห้องประเสริฐ

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณรายได้  
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

ชื่อโครงการพิเศษ	การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย <i>Escherichia coli</i> และ <i>Salmonella spp.</i> ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่
ชื่อ นามสกุล	นายธนภพ โสทรโยม นางเกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์ นายนพพร สกุลยืนยงสุข นางสาวดวงกมล ตั้งสถิตพร นางสาวดวงรัตน์ แซ่ตั้ง นายกิตติ ช้องประเสริฐ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
ปี พ.ศ.	2558

### บทคัดย่อ

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ ด้วยวิธีการแช่เย็น (marceration) โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือเฮกเซน , เอทานอล และเมทานอล พบว่าการสกัดสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ที่มีน้ำหนักแห้ง 2 กิโลกรัม จะได้ปริมาณสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 1.305 3.260 และ 1.306 กรัมตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดหอมหัวใหญ่ โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล, เฮกเซน และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 6 มิลลิเมตรแต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salmonella spp.* ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* จากการคัดเลือกผลจากวิธี disc diffusion techniques ซึ่งพบว่าสารสกัดหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ จึงทำการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหอมหัวใหญ่เท่ากับ 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า *Escherichia coli* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหมด แสดงว่า *Escherichia coli* สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**คำสำคัญ :** การยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* *Salmonella spp.* สารสกัดหอมหัวใหญ่

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัย เรื่อง การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ สำเร็จลุล่วงไปได้เป็นอย่างดี ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ คณบดีคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มทร.พระนคร ผศ.ดร.ชญาภัทร กีอารีโย ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆมาโดยตลอด พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ คำปรึกษาและคำแนะนำระหว่างการดำเนินงานโครงการพิเศษ และสร้างความทรงจำที่ดีที่มีค่าให้เกิดขึ้นในระหว่างการดำเนินการวิจัยต่อคณะผู้วิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน เพื่อนๆและน้องๆ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในการตอบแบบสอบถามและข้อเสนอแนะต่างๆ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ที่ให้ทุนในการวิจัยและเอื้ออำนวยสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆในการปฏิบัติงานโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวและเพื่อน ที่คอยให้กำลังใจและให้การสนับสนุนตลอดมาและเป็นอย่างดี จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้



นายธนภพ โสทรโยม  
นางเกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์  
นายนพพร สกุลยีนยงสุข  
นางสาวดวงกมล ตั้งสถิตพร  
นางสาวดวงรัตน์ แซ่ตั้ง  
นายกิตติ ช้องประเสริฐ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 พืชสมุนไพรไทย	3
2.2 หอมหัวใหญ่	4
2.3 <i>Escherichia coli</i>	9
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต	14
2.5 อาการของโรคอาหารเป็นพิษ	15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการ	
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี	19
3.2 วิธีการทดลอง	20
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง	20
3.4 สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง	20

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล	
4.1 การศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรีย	30
4.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Salmonella spp.</i>	32
4.3 ศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> และ <i>Salmonella spp.</i>	34
บทที่ 5 สรุปผล และข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	
ก คุณลักษณะสารสกัด	45



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มตระหนักและให้ความสำคัญกับสุขภาพโดยการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ และปลอดภัยจากสารเคมี โดยหันมาบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพเช่นผักและผลไม้สดที่ปลอดภัยจากสารเคมีมากขึ้น ผักและผลไม้เป็นวัตถุดิบซึ่งใช้เพื่อการแปรรูปอาหาร เป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีการเสื่อมเสียง่าย (perishable food) เนื่องจากมีปริมาณน้ำสูง มีสารอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ การผลิตในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องมีการควบคุมที่ดีโดยเริ่มตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำ GAP (Good Agricultural Practice) มาใช้จนกระทั่งผลิตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมจำหน่าย นอกจากนี้ในปัจจุบันมีความต้องการในการบริโภคผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคสูงขึ้น เช่น ผักสลัด ผลไม้บรรจุสุญญากาศพร้อมรับประทาน ดังนั้น กระบวนการผลิตจึงต้องผ่านวิธีการที่ทำให้มั่นใจว่าผักและผลไม้ นั้น สะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค

จากรายงานการเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักผลไม้ พบว่าอาหารเป็นพิษที่เกิดขึ้นกับมนุษย์มีสาเหตุมาจากผักและผลไม้สดเป็นส่วนมาก โดยมีสาเหตุหลักจากการปนเปื้อนของเชื้อ แบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. เป็นส่วนใหญ่ โดยมักอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์และปะปนออกมากับอุจจาระของสัตว์ และที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในมนุษย์ และการบริโภคผักและผลไม้สดนั้นไม่ผ่านความร้อนในการฆ่าเชื้อ ดังนั้น การใช้ปุ๋ยคอกบำรุงผักและผลไม้ อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสู่อาหาร เช่น มีการตรวจพบแบคทีเรีย *Salmonella* spp. ที่ใบและรากของผักและผลไม้ที่ปลูกโดยการใช้ปุ๋ยคอก (Natving และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่า *Salmonella* spp., *Escherichia coli* สามารถรอดชีวิตอยู่ในปุ๋ยคอกได้เป็นระยะเวลาานาน (Tauxe, 1997; Brackett, 1999) ผักผลไม้ต่างชนิดกันจะมีจำนวนแบคทีเรียที่ปนเปื้อนต่างกัน จำนวนปนเปื้อนเริ่มต้นจะบ่งถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยหากมีจุลินทรีย์เริ่มต้นปนเปื้อนในวัตถุดิบมาก จะทำให้ผักและผลไม้มีคุณภาพที่ต่ำลงและมีอายุการเก็บที่สั้นกว่าปกติ (Zagory, 1999) โดยในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีบางชนิดเพื่อยืดอายุการเก็บและยับยั้งการเจริญเติบโตรวมถึงกำจัดแบคทีเรียนี้ เช่น Sodium orthophenyl phenate หรือ SOPP, Potassium sorbate และ Botran เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติในการดูดซึมบางส่วน (Partially systemic) และมีพิษตกค้างในเนื้อเยื่อที่มีชีวิต ซึ่งมีพิษตกค้างที่อาจจะหลงเหลือในขณะบริโภคด้วย

การใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในประเทศไทยมีสมุนไพรหลายชนิดที่มีสารยับยั้ง เช่น พลู ทองพันชั่ง ชุมเห็ดเทศ ข่า และหอมหัวใหญ่ เป็นต้น ซึ่งหอมหัวใหญ่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่ง จังหวัดเชียงใหม่และอีกหลายจังหวัดทางภาคเหนือ มีผลผลิตออกสู่ตลาดมากช่วงเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน ในบางปีผลผลิตมีมากเกินความต้องการของตลาด เกิดปัญหาหอมหัวใหญ่ล้นตลาดและราคาตกต่ำ (สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงใหม่, 2551) การเพิ่มประโยชน์ของหอมหัวใหญ่โดยการแปรรูปหรือเพิ่มประโยชน์ในการนำไปใช้ เป็นแนวทางหนึ่งที่ลดปริมาณหอมหัวใหญ่สุดในช่วงเวลาที่ผลผลิตออกสู่ตลาดมากจะช่วยเพิ่มมูลค่าและสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร โดยการแปรรูปหอมหัวใหญ่ทำได้หลายรูปแบบ เช่น หั่นฝอย ชี้น หอมเกลือ kibble และบดเป็นแป้ง ผลิตภัณฑ์หอมหัวใหญ่นำไปใช้อย่างกว้างขวาง โดยส่วนใหญ่ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารทั่วไป (Mazza and LeMeguer, 1980) นอกจากนี้หอมหัวใหญ่ยังมีสารสำคัญที่มีประโยชน์มากกว่า 300 ชนิด ดังนั้นหากมีการใช้สารสกัดจากหอมหัวใหญ่ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิด นี้ได้นั้นก็จะสามารถช่วยยืดอายุการเก็บของผักและผลไม้ ลดการใช้สารเคมี รวมถึงสามารถตอบสนองแนวทางการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพของผู้บริโภคได้อีกด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากสารสกัดหอมหัวใหญ่

1.2.2 เพื่อศึกษาการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp.

1.2.3 เพื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp.

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ทำการวิจัยโดยใช้สารที่สกัดได้จากหอมหัวใหญ่เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ไม่รวมถึงเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ทราบถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และนำมาใช้ประโยชน์ต่อยอดโดยการนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ในด้านการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดอีกทางหนึ่ง

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารต้านจุลินทรีย์หรือวัตถุกันเสียหมายถึง สารเคมีที่เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหาร อันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็น ยีสต์ รา หรือแบคทีเรีย คุณสมบัติของสารต้านจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในอาหารนั้น ต้องเป็นสารที่ให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี ภายใต้เงื่อนไขกว้างขวาง มีช่วงในการทำงานอย่างเพียงพอ มีความคงตัวในอาหารและ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ที่เติมลงไป หรือองค์ประกอบของอาหาร ไม่ก่อให้เกิดสี กลิ่น รส ที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้ต้องไม่เป็นสารที่ทำให้เกิดพิษต่อร่างกายด้วย ส่วนใหญ่วัตถุกันเสียจะไปออกฤทธิ์ที่ผนังเซลล์ รบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ หรือรบกวนกลไกทางพันธุกรรมในเซลล์ เป็นผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้หรืออาจตายได้ในที่สุด การใช้วัตถุกันเสียในอาหารอาจใส่รวมลงไปในการปรุงอาหารเลย หรือใช้กรรมวิธี ผ่น หรืออบรอบๆ ผิวของอาหารหรือภาชนะบรรจุ ปริมาณของวัตถุกันเสียที่ใช้นั้นจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับชนิดของอาหารและชนิดของวัตถุกันเสียที่ใช้ ทั้งนี้กระทรวงสาธารณสุขเป็นผู้กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ได้ ซึ่งโดยทั่วไปจะอนุญาตให้ใช้ในปริมาณแค่พอทำให้เกิดผลตามต้องการเท่านั้น ดังนั้นในระหว่างกระบวนการผลิตอาหารจะต้องระมัดระวังการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เพราะถ้าอาหารมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมาก หรืออาหารมีการเน่าเสียมาก่อนแล้ว การใช้วัตถุกันเสียจะไม่เกิดประโยชน์ การใช้วัตถุกันเสียในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้ผู้บริโภคได้รับสารเหล่านั้นมากเกินไปจนเกินความจำเป็นและไม่เป็นผลดีต่อร่างกาย

พืชสมุนไพรไทย เป็นพืชที่คนไทยรู้จักและนำมาใช้เป็นยารักษาโรคมาแต่โบราณ แต่ความนิยมในการใช้พืชสมุนไพรรักษาโรคลดน้อยลงไป เมื่อมีการนำวิธีการรักษาโรคตามแบบประเทศทางตะวันตกมาใช้เนื่องจากยาแผนปัจจุบันให้ผลในการรักษาโรคได้รวดเร็ว และรูปแบบของยาสะดวกในการใช้ ปัจจุบันยาสมุนไพรเริ่มกลับมาได้รับความนิยม ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลทางด้านเศรษฐกิจสิ่งแวดล้อม และที่สำคัญคือประสิทธิภาพของตัวยาในพืชสมุนไพรที่เป็นสารเคมีธรรมชาติ มีอันตรายน้อยและไม่ค่อยมีผลข้างเคียง ฉะนั้นคงไม่เป็นการยากเกินไปที่จะกลับมารื้อฟื้นการใช้ยาสมุนไพรไทยในการรักษาโรค ทั้งในด้านแหล่งทรัพยากรวัตถุดิบด้านพืชพันธุ์ และทรัพยากรบุคคลผู้ที่มีความรู้ด้านการรักษาโรคแบบดั้งเดิม (เต็ม สมิตินันท์, 2523) สารสกัดที่ได้จากพืชนั้นมีหลายประเภท ถ้าจะแบ่งสารประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร สามารถจำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ คือ primary metabolite และ secondary metabolite สาร primary metabolite เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสังเคราะห์แสง ส่วนสาร secondary metabolite เป็นสารที่มีลักษณะพิเศษและแตกต่างกันไปตามแต่ชนิดของพืช ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วสารพวก secondary metabolite จะมีการสังเคราะห์ทางยา เช่น สารไกลโคไซด์, น้ำมันหอมระเหย, แทนนิน และอัลคาลอยด์ (สุนทรีย สิงหบุตร, 2535) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้สารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย



## หอมหัวใหญ่

หอมใหญ่ ชื่อสามัญ Onion หอมหัวใหญ่ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium cepa* L. จัดอยู่ในวงศ์  
พลับพลึง(AMARYLLIDACEAE) และอยู่ในวงศ์ย่อย ALLIOIDEAE(ALLIACEAE) สมุนไพรหอมใหญ่ มี  
ชื่อเรียกอื่นๆ หัวหอม หอมหัวใหญ่ หัวหอมใหญ่ หอมฝรั่ง หอมหัว เป็นต้น

## ลักษณะหอมหัวใหญ่

ต้นหอมใหญ่ มีถิ่นกำเนิดและมีเขตการกระจายพันธุ์ในทวีปเอเชียกลางบ้างก็บอกว่ามีถิ่น  
กำเนิดในทวีปเอเชียตะวันตกเฉียงใต้และสำหรับแหล่งผลิตที่สำคัญได้แก่ประเทศจีน สหรัฐอเมริกา  
และประเทศอินเดียโดยจัดเป็นพืชล้มลุก มีความสูงประมาณ 30-40 เซนติเมตร มีหัวอยู่ใต้ดินคล้ายหัว  
หอม ลักษณะกลมป้อม มีเปลือกนอกบาง ๆ สีม่วงแดงหุ้มอยู่ แต่เมื่อแห้งแล้วจะเปลี่ยนเป็นสี  
น้ำตาลลำต้นใต้ดินหรือที่เรียกว่าหัวนั้น ภายในจะมีกลีบสีขาวอวบหุ้มซ้อนกันอยู่เป็นชั้น ๆ ทำให้มี  
ลักษณะเป็นหัวเช่นเดียวกับกระเทียมและหอมแดงสามารถปลูกได้ในดินทุกชนิดที่มีการระบายน้ำและ  
มีอากาศดี เจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีค่าความกรดเบสในช่วง 6.0-6.8 มีความเค็มของดินปานกลาง  
และในอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 15-24 องศาเซลเซียส

ใบหอมใหญ่ ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเป็นกระจุก 3-4 ใบ ลักษณะเป็นรูปดาบ มีความกว้าง  
ประมาณ 2-4 เซนติเมตร และยาวประมาณ 20-40 เซนติเมตร เส้นใบจีบตามยาวลักษณะคล้ายพัด  
ดอกหอมใหญ่ ออกดอกเป็นช่อ แทงขึ้นมาจากลำต้นใต้ดิน กลีบดอกมีสีขาว



หัวหอม ไม่ใช่เป็นแค่ผักธรรมดาทั่วไปที่นำมาใช้ในการประกอบอาหารหรือเพื่อเพิ่มรสชาติให้อาหาร และก็ไม่ได้ใหญ่แต่ชื่อและขนาด เนื่องจากมีสรรพคุณที่ใหญ่มากเพราะช่วยป้องกันและรักษาโรคสำคัญต่าง ๆ ได้หลายชนิด โดยพบว่าหัวหอมใหญ่นั้นอุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ และสารประกอบที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของเรามากกว่า 300 ชนิด

### สรรพคุณหอมหัวใหญ่

หัวหอมใหญ่มีวิตามินซีสูง และยังมีสารอื่น ๆ เช่น สารเคอร์ซีทีน ที่ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกายและช่วยป้องกันโรคต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีช่วยป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งต่าง ๆ ได้ เนื่องจากหอมใหญ่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงมากหัวหอมมีคุณสมบัติช่วยทำให้เกิดความรู้ผ่อนคลาย ทำให้รู้สึกง่วง ช่วยในการนอนหลับได้สบายการรับประทานหัวหอมสดเป็นประจำจะช่วยให้มีความจำที่ดีขึ้น หรือจะทานร่วมกับอาหารชนิดอื่น ๆ ก็ได้

สรรพคุณของหอมหัวใหญ่นี้ ช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยทำให้พลังลงสู่ด้านล่าง ช่วยให้พลังการไหลเวียนในอวัยวะภายในร่างกายคล่องตัว ช่วยแก้ธาตุในร่างกายนอกปกติ ช่วยกำจัดสารตะกั่วและโลหะหนักที่ปนเปื้อนมากับอาหารและสะสมในร่างกาย ช่วยป้องกันและลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ ช่วยป้องกันและลดความเสี่ยงของอัมพาตได้เป็นอย่างดี หัวหอมมีฤทธิ์ช่วยรักษาโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด โดยช่วยลดปริมาณของไขมันในเส้นเลือดและช่วยในการขยายหลอดเลือด ช่วยทำให้เลือดไม่แข็งตัวไปแล้วไปอุดตันในหลอดเลือดได้ง่าย สารไซโคลอัลลิอินในหัวหอมใหญ่ ช่วยในการสลายลิ่มเลือด ป้องกันไม่ให้ลิ่มเลือดอุดตันหรือยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด ปกป้องหลอดเลือดเลี้ยงสมองเกิดการอุดตันและช่วยกระจายเลือดลม การรับประทานเป็นประจำในระยะยาว จะช่วยให้หลอดเลือดสะอาด และลดการแข็งตัวของหลอดเลือดหอมหัวใหญ่ลดความอ้วน โดยน้ำคั้นจากหัวหอมมีสรรพคุณช่วยลดคอเลสเตอรอล ลดไขมันในเส้นเลือด ช่วยลดการเป็นพิษต่อเซลล์ไขมันในเลือดชนิดเลว ช่วยลดระดับไขมันเลว (LDL) และช่วยเพิ่มไขมันดี (HDL) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยหัวหอมสดแค่เพียงครึ่งหัวก็สามารถช่วยเพิ่มระดับไขมันดีได้ถึงร้อยละ 30 ในผู้ป่วยโรคหัวใจหรือผู้มีปัญหาเรื่องคอเลสเตอรอล ช่วยลดความดันโลหิต แก้ความดันโลหิตสูง สารอัลลิลิโพรพิลไดซัลไฟด์ (Allyl propy disulphide หรือ APDS) ในหอมใหญ่ มีคุณสมบัติช่วยลดน้ำตาลในเลือด ช่วยป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน หัวหอมใหญ่มีสารฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ (Flavonoid glycosides) ที่มีคุณสมบัติช่วยป้องกันไขมันไม่ให้มาเกาะตามผนังหลอดเลือด ถ้าหากเกาะมาก ๆ จะเกิดภาวะเส้นโลหิตอุดตัน หรือทำให้เกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้แคลเซียมในหอมใหญ่จะช่วยให้การสังเคราะห์เอ็นไซม์ที่เป็นตัวช่วยต่อสู้กับสิ่งมีชีวิต

แคลเซียมและช่วยเม็ดเลือดขาวในการทำลายและย่อยสลายไวรัส ช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุนได้ดีกว่ายารักษาโรคกระดูกพรุนอย่างแคลซิโทนิน (Calcitonin)

### *Escherichia coli*

(ภัทรชัย, 2549; โสภณ, 2524; Holt et al., 1994) *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เชลลแปน รูปร่าง ขนาด 1.1-1.5 × 2.0-6.0 ไมโครเมตรจัดเรียงตัวอาจอยู่แบบเชลลเดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ มีลักษณะโคโลนิสีเหลืองอ่อน สามารถสร้างแคปซูลและสารพิษ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไร้ออกซิเจน เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ สามารถก่อโรคได้บ่อยกว่าแบคทีเรียอื่นที่อยู่ในกลุ่ม Enterobacteriaceae เหมือนกัน ซึ่งส่วนใหญ่ก่อโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารแต่บางสายพันธุ์สามารถก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้โดยโรคติดเชื้อ *E. coli* ที่สำคัญ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมอง อักเสบ การติดเชื้อในกระแสโลหิต และโรคติดเชื้ออื่นที่พบได้เช่น การติดเชื้อของบาดแผลซึ่งก่อโรคได้ทั้งในคนปกติ และคนที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง จัดเป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อยที่สุด *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ไม่ก่อโรคแต่ในบางบุคคลอาจพบสายพันธุ์ก่อโรคปนอยู่ได้ การเกิดโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและการติดเชื้อในกระแสเลือดส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อประจำถิ่น เรียกการติดเชื้อแบบนี้ว่า endogenous infection พบบ่อยในผู้ป่วยมีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ในขณะที่การก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจและเยื่อหุ้มสมองมักเกิดจากการได้รับเชื้อก่อโรคจากภายนอก การก่อโรคในแต่ละระบบอาจเกิดจาก *E. coli* ต่างสายพันธุ์ที่มีกลไกการก่อโรคและสร้างปัจจัยก่อโรคที่แตกต่างกันไปดังนี้

1.1 โรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) เกิดจากการรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อโดยโรคที่พบบ่อยคือโรคท้องร่วง (diarrhea) เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคท้องร่วง (diarrheagenic *E. coli*) มีหลายสายพันธุ์ สามารถแบ่งตามกลไกการก่อโรคได้เป็น 5 กลุ่ม คือ enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) และ enteroaggregative *E. coli* (EAEC)

*E. coli* ที่เป็นสาเหตุก่อโรคของรายนั้น โดยทั่วไปอาศัยลักษณะอาการทางคลินิกเป็นสำคัญ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อแยกกลุ่ม หรือ serogroup สนวนใหญ่มีจุดประสงค์เฉพาะเพื่อการศึกษาทางระบาดวิทยา การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทำได้หลายวิธีได้แก่การเพาะเชื้อบน differential medium การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี การทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (serology) และการทดสอบในระดับโมเลกุล

1.2 โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) พบในผู้หญิงได้มากกว่าผู้ชาย ผู้ป่วยมีอาการปัสสาวะบ่อยและแสบขัด พบเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวปนในปัสสาวะจัดเป็น ascending infection ซึ่งเกิดจากการลุกลามของเชื้อสายพันธุ์ก่อโรค (uropathogenic *E. coli*) จากทางเดินอาหารผ่านทางอุจจาระของผู้ป่วยเข้าสู่ท่อปัสสาวะและยอนขึ้นไปที่กระเพาะปัสสาวะ ทำให้เกิดโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ (cystitis)

1.3 โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) *E. coli* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารกแรกเกิด โดยได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในของคลอด หรือทวารหนักของมารดาในระหว่างคลอด สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคมักพบการสร้างแคปซูลที่แอนติเจนชนิด K1

1.4 โรคปอดบวม (pneumonia) เป็นการฉวยโอกาสติดเชื้อในผู้ที่มีความผิดปกติของร่างกายอยู่เดิม เช่น ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดเชื้อเรื้อรัง และผู้ที่มีโรคเรื้อรังในระบบทางเดินหายใจ รวมถึงมักเป็นสาเหตุก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล เป็นผลให้การติดเชื้อรุนแรงและมีอัตรา การตายสูง การได้รับเชื้อสนวนใหญ่เกิดจากการสำลักเชื้อในทางเดินหายใจสนวนบนลงสู่ทางเดินหายใจสนวนล่าง

1.5 การติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia) สนวนใหญ่มักเกิดจากการบุกรุกของเชื้อเข้าสู่กระแสโลหิตในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเฉพาะที่อยู่ก่อน เช่น ผู้ป่วยที่มีโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารและผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้ทะลุ ทำให้เชื้อประจำถิ่นรวมถึง *E. coli* สามารถเข้าสู่ของทองและกระแสโลหิตได้ต่อไป ในรายที่มีอาการรุนแรงจะทำให้ความดันโลหิตลดต่ำจนเกิดภาวะช็อก (septic shock) และเสียชีวิตได้อย่างรวดเร็ว สิ่งส่งตรวจสำหรับการวินิจฉัยโรคติดเชื้อ *E. coli* ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่ติดเชื้อได้แก่ปัสสาวะจากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ น้ำไขสันหลังและตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ อุจจาระจากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร เสมหะจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อในทางเดินหายใจ และเลือดจากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในกระแสโลหิต เป็นต้น

*E. coli* สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย หรืออาจเลือกใช้อาหารประเภท selective medium เช่น MacConkey agar เพราะมีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่อาจปนเปื้อน อีกทั้งยังจัดเป็น differential medium เนื่องจาก *E. coli* สามารถสลายน้ำตาล lactose ในอาหารทำให้โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้ม หรือใช้ eosin methylene blue agar(EMB) โดยโคโลนีของ *E. coli* เมื่อเจริญบน EMB จะมีสีเข้มเกือบดำ ผิวของโคโลนีมีลักษณะเหลือบสีเขียวคล้ายสีของโลหะเรียกว่า metallic sheen สามารถไขแยกออกจากแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งชนิดอื่นได้ การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีที่นิยมใช้ในการบ่งชี้ *E. coli* ได้แก่การทดสอบ IMViC ซึ่งให้ผลบวกสำหรับการทดสอบ indole และ methyl red ให้ผลลบสำหรับการทดสอบ Vogesproskauer และ citrate utilization *E. coli* สามารถสร้างกรดและก๊าซจากการสลายน้ำตาล glucose และสามารถย่อยสลายน้ำตาลได้อีกหลายชนิดเช่น lactose, mannitol, sorbitol, arabinose และ rhamnose เป็นต้นการทดสอบทางภูมิต้านทานวิทยา นิยมใช้ในการวินิจฉัย *E. coli* O157:H7 โดยทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีจำเพาะต่อ O antigen (ตรวจหา serogroup) และ H antigen (ตรวจหา serotype) ซึ่งนิยมใช้วิธี latex agglutination การพัฒนาเทคนิคดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อการจำแนกเชื้อ enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 เช่น เทคนิค PCR ในการตรวจหาชิ้นที่ควบคุมการสร้าง shiga toxin, enterotoxin และยีนอื่นที่ควบคุมการสร้างปัจจัยก่อโรคเป็นต้นการให้ยาปฏิชีวนะอาจสามารถช่วยลดความรุนแรงและระยะเวลาดำเนินโรคได้ *E. coli* มีความไวต่อยาหลายกลุ่ม เช่น กลุ่ม  $\beta$ -lactams, fluoroquinolones, tetracyclines, aminoglycosides และ sulfonamides อย่างไรก็ตาม ปัจจุบัน *E. coli* มีอัตราการดื้อต่อยาสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะเชื้อที่พบในโรงพยาบาล และพบการดื้อต่อยาหลายกลุ่มโดยเฉพาะอย่างยิ่งการดื้อยาในกลุ่ม extended-spectrum cephalosporins ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและก่อให้เกิดปัญหาในการรักษา โดยเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) เพื่อทำลายฤทธิ์ยาในกลุ่ม penicillins, cephalosporins และ monobactams

## *Salmonella spp.*

จีโนส *Salmonella* เป็นจีโนสที่อยู่ในตระกูลเอนเทอโรแบคทีเรียซี (Family Enterobacteriaceae) *Salmonella* ก่อให้เกิดโรคในคน และสัตว์ไคเซน *Salmonella typhi* ก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น โรคที่เกิดขึ้นมี Enteric fever (typhoid, paratyphoid) โรคทางเดินอาหารเฉียบพลัน การติดเชื้อในกระแสโลหิต และการติดเชื้ออวัยวะภายในเฉพาะที่แบคทีเรียสกุล *Salmonella* เป็นแบคทีเรียสกุลใหญ่ สามารถจำแนกเชื้อโดยการใช้อุปกรณ์แอนติเจนและแบคทีเรียวิทยา โอฟาจ ไคกว่า 1900 ชนิด Kauffman และ White ไคแบงเชื้อเป็น 41 กลุ่ม จาก A-Z และ 51-65 โดย O-Ag และอาศัย H-Ag, Vi แบงไคเป็นซีโรไทป์ต่างๆกว่า 2200 ชนิด เนื่องจากมีการให้ชื่อมากมาย นับพันชื่อปัจจุบัน Center for Diseases Control (CDC) ไคแบงเป็น *Salmonella typhi*, *S. choleraesuis*, *S. paratyphi A* และ *Salmonella serotype* อื่นๆและ CDC ไคปรับปรุงให้รายงานกลุ่ม *Salmonella* เป็น serotype มากกว่าบอกชื่อ species แต่จะต้องใช้ antisera เป็นจำนวนมากและยุ่งยาก Clinical lab ต่างๆจึงไม่อาจแยกแยะ *Salmonella* จนถึง specific serotype จึงมักแบงออกเป็น serogroup แต่อย่างไรก็ตาม ไคแบงเป็น *S. typhi*, *S. choleraesuis*, *S. paratyphi A* ไคเพราะมีความสำคัญทางคลินิก ส่วน *Salmonella* อื่นๆไคบอกเป็น serogroup; serotype ตัวอย่างเช่น *Salmonella serotype typhimurium*, Arisona นั้นเรียกเป็น *Salmonella serotype 47: r : 3* อย่างไรก็ตามก็มีผู้เสนอว่าสมควรจัด *Salmonella* เป็น specie เดียวเท่านั้น แต่เมื่อคำนึงถึงคุณสมบัติทางพันธุกรรม แบง เป็น 5 subspecies แต่อย่างไรก็ตาม จนถึงบัดนี้การให้ชื่อและการจัดแบงกลุ่ม *Salmonella* ก็ยังไม่ยุติเพื่อหาสิ่งที่เหมาะสม และถูกต้องที่สุด เมื่อคำนึงถึงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อทางพันธุกรรม และอื่นๆ เชื้อในสกุล *Salmonella* ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ไคบางชนิดมีแคปซูล บางชนิดมีชีวิตอยู่ได้นานในอาหารแห้งเช่น ไคนมผง มะพร้าวแห้ง ไคแต่เชื้อจะถูกทำลายเมื่อต้มที่ 60°C นาน 15 นาที เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วโลก ก่อให้เกิดโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด นก สัตว์เลื้อยคลาน และปนเปอนออกมากับอุจจาระและอาจพบในน้ำ ดิน อาหารสัตว์เนื้อสด เปนตน บางซีโรไทป์เช่น *Salmonella Enteritidis* เชื้อจะเข้าไปในรังไข่ของเปตและไกและสามารถตรวจแยกเชื้อไคจากไข่ *Salmonella* สามารถมีชีวิตอยู่ในดินที่รุ่มและเปียกชื้นได้นานมากกว่า 9 เดือน เชื้อ *Salmonella choleraesuis* ถูกแยกเชื้อไคครั้งแรกจากสุกรโดย Salmon และ Smith (1886) (Quinn et al., 2002)

## ลักษณะการเจริญเติบโต และปฏิกิริยาชีวเคมี

เชื้อสกุลนี้เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ เช่น MacConkey, EMB, SS และ DCA agar โคโลนีมีขนาดเสนาผาคูนยกลาง 1-2 มิลลิเมตร ลักษณะกลม ขอบเรียบ เป็นมัน ไม่มีสี (ไม่หมักยอ ย่น้ำตาลแลคโตส) ไม่ทึบแต่ไม่ โปร่งแสง บางสายพันธุ์มีโคโลนีลักษณะเป็นเมือก คุณสมบัติที่สำคัญในการวินิจฉัยได้แก่ ลักษณะที่ขึ้นบน TSIA หรือ KIA slant เป็นแบบ K/AG+ หรือ K/AG- (S.typhi K/A+) สวนใหญ่ให้แกสจากการหมัก ย่อยกลูโคส สามารถหมักยอ ย่น้ำตาลชนิดต่างๆ ได้ผลต่างกัน การทดสอบ indole (-), malonate (-), urea (-) และ lysine decarboxylase (+) เป็นต้น

### การทำให้เกิดโรคและพยาธิสภาพ

โดยปกติคนจะไม่มี Salmonella อยู่ในร่างกายแหล่งที่อยู่ในธรรมชาติของจุลชีพพวกนี้ ได้แก่ ผู้ป่วยที่เป็นโรคหรือคนที่เป้นพาหะของโรค มีหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์ต่างๆ การติดเชื้อเกิดจากการกินอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อปะปนเข้าไป คนที่มีการติดเชื้ออาจมีอาการหรือไม่มีอาการของโรคปรากฏ โรคที่เกิดจาก Salmonella แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่

1. โรคไขเอนเทอริก (Enteric fever) โรคไขเอนเทอริกเป็นชื่อรวมที่ไขบอกลุ่มอาการของโรคโดยไม่บ่งเฉพาะว่าเกิดจาก Salmonella serotype ใด ถ้าผู้ป่วยมีการติดเชื้อจาก S. typhi เรียกโรคที่เกิดว่า ไขรากสาดนอยหรือไขไทฟอยด์ (typhoid fever) หากการติดเชื้อเกิดจาก S. paratyphi ก็เรียก ไขรากสาดเทียมหรือไขพาราไทฟอยด์ (paratyphoid fever) อาการของโรคไขไทฟอยด์มักรุนแรงกว่าไขพาราไทฟอยด์การก่อโรคของเชื้อ S. typhi ขึ้นอยู่กับการที่เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ในเม็ดเลือดและเพิ่มจำนวนมากขึ้นในเซลล์ทำให้เซลล์ตายปล่อยเชื้อออกมา เอนโดทอกซินของแบคทีเรียทำให้ร่างกายมีอาการไม่สบายต่างๆ แคปซูลของแบคทีเรียจะป้องกันตัวเชื้อจากการเก็บกินของเม็ดเลือดขาวระยะฟักตัวของโรค 7-20 วัน ผู้ป่วยมีอาการไข้จะสูงอยู่หลายวัน ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามลำตัวเบื่ออาหารมีอาการท้องอืด อุจจาระผูก มีมามโต ต่อมาอาจมีอาการอุจจาระร่วง ระยะของโรคไขเอนเทอริกนาน 3-4 สัปดาห์ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่ถูกตอง อาการไขจะลดลงสู่ระดับปกติใน 3-5 วันประมาณ 2-5% ของผู้ป่วยที่หายจากโรคจะเป็นพาหะนำโรคนานหลายเดือน เป็นปหรืออาจนานตลอดชีพ โดยเชื้อจะฝังตัวเจริญอยู่ในถุงน้ำดีและถูกขับออกมาปนกับอุจจาระเป็นครั้งคราว

2. โลहितเป้นพิษ เช่น เกิดจาก S. choleraesuis ผู้ป่วยมีอาการของโลหิตเป้นพิษ พบเชื้อในกระแสเลือดแต่ไม่มีอาการเกี่ยวกับลำไส้เชื้อทำให้เกิดหนองฝที่อวัยวะต่างๆ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กระดูกอักเสบ ปอดอักเสบและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เป็นต้น

3. โรคอุจจาระร่วง มักเกิดจากเชื้อที่เป็นปรสิตของสัตว์พวกวัว ควาย ไก่ เปนตน ตัวอย่างเช่น *S. typhimurium* เชื้ออาจปนเปอนมากับเนื้อสัตว์ที่นำมาประกอบอาหารแล้วปรุงไม่สุกดีไม่เพียงพอที่จะทำให้เชื้อตายหมด หรือแมลงวันอาจเป็นพาหะนำเชื้อโรคมารับไปปนเปอนอาหารที่ปรุงเสร็จเมื่อตั้งอาหารไว้ในที่อุ่นๆ เชื้อก็จะเจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนสามารถทำให้เกิดอาการของโรคในคนที่กินอาหารเขาไป ระยะฟักตัวของโรคนาน 8 ถึง 48 ชั่วโมง ผู้ป่วยมีอาการปวดท้องอาเจียน อุจจาระร่วงอยู่นาน 2-5 วัน ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับจำนวนเชื้อที่เขาสูรางกายและความต้านทานของผู้ป่วย ระบาดวิทยา การป้องกัน และควบคุมไข้ไทฟอยด์พบเป็นกันทั่วโลก พบระบาดบ่อยในท้องถิ่นที่มีระบบสุขาภิบาลไม่ดีสวนไขพาราไทฟอยด์พบเป็นกันประปรายไม่มีการระบาดใหญ่ แผลงของโรคได้แก่ ผู้ป่วยและพาหะของโรค เชื้อถูกขับออกจากร่างกายทางอุจจาระซึ่งอาจปนเปอน อาหาร น้ำ และนม ได้แมลงวันอาจเป็นพาหะนำโรค ในประเทศไทย สถิติผู้ป่วย เป็นโรคนี้นี้มีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปีพบเป็นกันมากในช่วงเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม ผู้ป่วยมักได้แก่ เด็กอายุ 5 ถึง 14 ปี การควบคุมโรคที่ได้ผลมีหลักการเช่นเดียวกับโรคของระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากเชื้อชนิดอื่นๆ การป้องกันโรคโดยการฉีดวัคซีน TAB (เตรียมจากเชื้อ *S. typhi*, *S. paratyphi* A และ B) ให้ผลในการป้องกันโรคนี้นี้ได้นาน 6 เดือน ถึง 1 ปี การวินิจฉัยโรคอุจจาระร่วงทางห้องปฏิบัติการการตรวจหาเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค อุจจาระร่วงในผู้ป่วยจะต้องเลือกเก็บอุจจาระส่วนเหลวโดยเฉพาะส่วนที่มีมูกเลือดปน นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม (ควรส่งตรวจติดต่อกันทุกวันเป็นเวลาอย่างน้อย 3 วัน) โดยทั่วไป นิยมเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่แสดงความแตกต่างของเชื้อ 1 งาน (MacConkey หรือ EMBagar) และอาหารที่เลือกเฉพาะเชื้อบางชนิดอีก 1-2 งาน (DCA, XLD หรือ SS และ TCBS agar) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่ 37°C นาน 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญ เลือกโคโลนีที่สงสัยมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จำแนกชนิดของเชื้อโดยการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี

### เชื้อซัลโมเนลลากับโรคอาหารเป็นพิษ

ปัจจุบันการจัดแบ่งเชื้อซัลโมเนลลามักจะระบุชื่อโรวารที่เฉพาะเจาะจงโดยอาศัยหลักการตกตะกอน (agglutination) ของโปรตีนจากแอนติเจน (antigen) บนเซลล์ของเชื้อซัลโมเนลลาด้วยแอนติบอดี (antibodies) ที่มีความสัมพันธ์กัน โดยแอนติเจนบนเซลล์ของเชื้อซัลโมเนลลาจำแนกออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. แอนติเจนที่ผิวของเชื้อซัลโมเนลลา เรียกว่า Somatic antigen (O antigen) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนความร้อน (Heat stable)
2. แอนติเจนที่แสหรือหนวดของเชื้อซัลโมเนลลา เรียกว่า Flagella antigen (H antigen) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ไม่ทนความร้อน (Heat labile) อดสาเซลล์เซียส ไม่สามารถทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้เพียงแต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อซัลโมเนลลาเท่านั้น (สุมนทาววัฒนสินธุ์, 2006) Merck and sanofi-aventis company



3. แอนติเจนที่เปลือกหุ้มเซลล์หรือแคปซูล เรียกว่า Capsular antigen (Vi antigen) ซึ่งมีอยู่ในเชื้อซัลโมเนลลาบางซีโรวารเท่านั้น ได้แก่ Salmonella Typhi, Salmonella Paratyphi และ Salmonella Dubin ซึ่งทำให้เชื้อซัลโมเนลลาเหล่านี้ก่อโรคที่รุนแรงการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาตามหลักระบาดวิทยา (Epidemiology) จำแนกออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

- กลุ่มเชื้อซัลโมเนลลาที่ก่อให้เกิดโรค Enteric fever อาศัยคนเป็นโฮสต์(host) เพียงอย่างเดียวจึงก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น ประกอบด้วย Salmonella Typhi ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์(Typhoid fever) Salmonella Paratyphi ทำให้เกิดโรคไขรากสาदनอย(Paratyphoid fever)

- กลุ่มเชื้อซัลโมเนลลาที่ปรับตัวเข้ากับชนิดของโฮสต์(Host-adapted serovars) พบจำเพาะในสัตว์แต่ละชนิดเช่น Salmonella Pollorum และ Salmonella Gallinarum พบในไก่ Salmonella Choleraesuis พบในสุกร Salmonella Dubin พบในวัว Salmonella Abortus-equi พบในม้าและ Salmonella Abortus-ovis พบในแกะ

- กลุ่มเชื้อซัลโมเนลลาที่ไม่ได้จำกัดต่อชนิดของโฮสต์(Unadapted serovars) ก่อให้เกิดโรค Intestinal salmonellosis หรือ Gastroenteritis causing Salmonella spp. ได้แก่เชื้อซัลโมเนลลาที่อยู่นอกเหนือจาก 2 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น เช่น Salmonella Typhimurium และ Salmonella Enteritidis

### 3. การเรียกชื่อเชื้อ

ซัลโมเนลลาปัจจุบันนิยมใช้ระบบการเรียกชื่อที่กำหนดให้ใช้สปีชีส์เดิมต่อท้ายซีโรวาร ดังนั้น การเรียกชื่อตามการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาของ WHO เชื้อซัลโมเนลลาก็จะมีชื่อยาวเช่น Salmonella typhimurium จะมีชื่อเรียกใหม่ว่า Salmonella enterica subspecies (or subsp.) enteritica serovar (or ser.) typhimurium จึงได้มีการตั้งระบบการเรียกชื่อย่อขึ้น คือ ชื่อ genus จะเป็นตัวเอน (italic) และชื่อ serovars จะไม่เอนและตัวอักษรแรกเป็นตัวพิมพ์ใหญ่ เช่น Salmonella Typhimurium หรือ Salmonella Enteritidis เป็นต้น

#### 4. แหล่งที่พบ

เชื้อซัลโมเนลลามีหลากหลายซีโรไทป์และพบได้เกือบทุกแห่งทั่วโลกแหล่งที่อยู่อาศัยลำดับแรกของเชื้อซัลโมเนลลา คือลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ต่างๆ ไคแกสัตว์ปีก สุนัข สัตว์เลี้ยงคานา เช่น เต่า หอยทาก สัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมวรวมทั้งแมลง เช่น แมลงสาบ นอกจากนี้ยังพบเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ตามร่างกายของมนุษย์และสัตว์ด้วยเชื้อซัลโมเนลลาสามารถอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีสารอินทรีย์ที่เหมาะสมได้นานเป็นสัปดาห์เดือน หรือปี(Schwartz, 1999)และสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีเช่นสภาพแวดล้อมที่เย็นและแห้งSalmonella Choleraesuis สามารถมีชีวิตอยู่ในมูลสุกรได้อย่างน้อย13 เดือน จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำความสะอาดมูลสุกรหมดไปจากคอกหรือโรงเรือนที่เลี้ยงสุกร(Gray and Fedorka-Cray, 1995)

#### 5. การติดต่อ

การติดต่อเริ่มจากเชื้อซัลโมเนลลาในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ที่ป่วยหรือเป็นพาหะถูกขับออกมาที่บ่อจากระหรือมูลสัตว์จากนั้นมนุษย์และสัตว์ที่ปกติจะติดเชื้อมักจะติดเชื้อมาก่อนจากระหรือมูลสัตว์ที่มีเชื้อซัลโมเนลลาปะปนอยู่หรือสัมผัสกับอุปกรณ์เลี้ยงสัตว์ที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาจากนั้นแพร่กระจายสู่จระหวงโซอาหารแล้วกลับสู่ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์อีกวนเวียนเป็นวัฏจักร นอกจากนี้เชื้อซัลโมเนลลายังสามารถติดต่อดูดูดโดยการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างสัตว์และติดต่อทางอากาศได้อีกด้วย (Clemmer et al., 1960, Darlowet al., 1961)การติดเชื้อมนุษย์ทางอากาศจะเริ่มต้นที่ทางเดินหายใจส่วนบน จากนั้นปอดกับต่อมทอนซิลจะเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อไปยังลำไส้และต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ภายใน 2-4 ชั่วโมงหลังจากการได้รับเชื้อ(Gray and Fedorka-Cray, 1995)

#### 6. การก่อโรคและอาการในมนุษย์

โดยทั่วไปอาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาเข้าไปประมาณ 12-24 ชั่วโมง เชื้อซัลโมเนลลาที่เข้าสู่ร่างกายจะจับเกาะเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้และรุกรานเซลล์เพื่อเริ่มต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอยู่ในกระเพาะที่เซลล์ผนังลำไส้ซึ่งกระบวนการนี้จะช่วยให้เชื้อซัลโมเนลลาหลุดจากการPhagocytosis ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้องและถ่ายเหลว หลังจากที่หายป่วยแล้วประมาณร้อยละ5 ของผู้ที่ยังป่วยจะยังคงมีเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ในร่างกายและเป็นพาหะต่อไป ความรุนแรงของอาการป่วยแตกต่างกันไปตามชนิดและปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาที่บริโภคและความต้านทานของผู้บริโภค สำหรับผู้ป่วยในกลุ่มที่เรียกว่า YOPI ไคแกผู้ป่วยที่เป็นเด็กเล็ก(Young) ผู้ป่วยที่สูงอายุ(Old)ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์(Pregnant) และผู้ป่วยที่มีความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน (Immunodeficient) จะมีอาการป่วยรุนแรงจนอาจเสียชีวิตได้(ศุภชัย, 2006)

## 7. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอด

- อุณหภูมิ(Temperature) เชื้อซัลโมเนลลาเป็นกลุ่มแบคทีเรีย mesophiles ที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิร่างกายมนุษย์หรือสัตว์โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส แต่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 5-45 องศาเซลเซียส และเชื้อจะหยุดการเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า -2 ถึง -5 องศาเซลเซียส เชื้อจะเริ่มตายเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น เพราะเซลล์ไม่สามารถรักษาภาวะสมดุลที่เป็นสภาวะปกติไว้ได้เนื่องจากเกิดความเสียหายของไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนโดยเฉพาะเอนไซม์ของเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์รั่วและการสังเคราะห์โปรตีนต้องหยุดชะงัก

- ความเป็นกรดด่าง (pH) เชื้อซัลโมเนลลาเจริญเติบโตในช่วง pH เป็นกลาง คือ ระหว่าง 6.6-8.2 แต่ pH ที่เชื้อเจริญเติบโตได้ดีคือ pH 6.5-7.5 เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ ค่า pH มากกว่า 9 ส่วนค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อจะเจริญเติบโตได้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดที่ไซโซปรับความเป็นกรดด่าง เช่น ถ้าไซโซกรดเกลือและกรดซिटริกเป็นตัวปรับความเป็นกรดด่าง ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อจะเจริญเติบโตได้อยู่ที่ 4.05 แต่ถ้าไซโซกรดน้ำส้มและกรดแลกติกเป็นตัวปรับความเป็นกรดด่าง ค่า pH ค่าสูงสุดที่เชื้อจะเจริญเติบโตได้อยู่ที่ 5.5 ถ้าสภาวะ pH ไม่เหมาะสมเช่น pH ภายนอกเซลล์มากกว่าช่วง pH ที่เชื้อจะเจริญเติบโตได้ก็จะเกิดการเหนี่ยวนำให้เชื้อปรับตัวให้ทนต่อกรดในสิ่งแวดล้อม จึงเกิดปัญหาโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อซัลโมเนลลาในอาหารที่เป็นกรดขึ้นได้

- (Water activity; aw) มีออกซิเจนก็ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเชื้อจะใช้ออกซิเจนและ Superoxide dismutase และ Catalase เปลี่ยนออกซิเจนที่เป็นพิษ คือ Superoxide radical (O) ปริมาณน้ำในอาหารที่เชื้อซัลโมเนลลานำไปใช้ในการเจริญเติบโตอยู่ที่ประมาณ 0.93-0.95 เชื้อจะไม่เจริญเติบโตในอาหารที่มีเกลือแกงเข้มข้นร้อยละ 9 และในสภาวะที่ pH ลดลงจะทำให้เกลือไนโตรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้มากขึ้น 7.4 อากาศหรือออกซิเจน (Oxygen) เชื้อซัลโมเนลลาสามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีหรือไม่มี Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) เป็นออกซิเจน และเป็นน้ำตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อยังอาศัยออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (Final electron acceptor) ในกระบวนการหายใจอิเล็กตรอนเพื่อสร้างพลังงาน (ATP) แต่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เชื้อก็สามารถสร้างพลังงานโดยอาศัยการหมักทำให้เชื้อในเนื้อสัตว์ยังสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอย่างมากแม้ว่าจะอยู่ในสภาวะสุญญากาศ (Vacuum packing) หรือในภาวะปรับบรรยากาศ (Modified atmosphere) ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์หรือไนโตรเจน ในสัดส่วนเท่าใดก็ตาม หากนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมให้เชื้อเจริญเติบโตเช่น การเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

- แนวทางการควบคุมและป้องกันโรค ไทเนนการปรุงอาหารให้สุกอย่างทั่วถึงและเพียงพอ ระวังการปนเปื้อนข้ามจากอาหารดิบสู่อาหารสุกมีการจัดการสุขาภิบาลและการปฏิบัติที่ถูก สุขลักษณะรวมกับการใช้ระบบ HACCPควบคุมการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์ อาหารที่ปลอดภัยต่อการบริโภคจะต้องสะอาดและปราศจากสิ่งปนเปื้อนที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์หนึ่ง ในมาตรฐานความปลอดภัยอาหารที่สำคัญจึงประกอบด้วยความปลอดภัยจากเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค อาหารเปื้อนพิษ เชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเปื้อนพิษมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดเช่น Staphylococcus aureus, Escherichia coli แต่เชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง คือ Salmonella spp. โรคอาหารเปื้อนพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขใน มนุษย์ที่พบได้เกือบทุกแห่งทั่วโลกและมีแนวโน้มที่จะมีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาทาง ระบาดวิทยาในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่า มีอุบัติการณ์เฉลี่ยของโรคอาหารเปื้อนพิษที่เกิดจากเชื้อซัล โมเนลลา 450 รายต่อประชากรแสนคน และเสียชีวิต 0.4 รายต่อประชากรแสนคน โดยร้อยละ 15 ของ อัตราอุบัติการณ์มีสาเหตุจากการบริโภคเนื้อสุกร (Berends et al., 1998) ในประเทศสหรัฐอเมริกา สาเหตุของโรคอาหารเปื้อนพิษมาจากเชื้อซัลโมเนลลา ร้อยละ 6-9 ซึ่งสัมพันธ์กับการบริโภคเนื้อและผลิต ภัณฑ์จากสุกร (Frenzen et al., 1999) ในช่วงระหว่าง พ.ศ. 2506 ถึง พ.ศ. 2508 ประเทศ สหรัฐอเมริกามีการระบาดของโรคอาหารเปื้อนพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลา จำนวน 61 ครั้งโดยพบวาระ อยละ 8 มีสาเหตุจากการบริโภคเนื้อโคและเนื้อสุกร (Steele and Galton, 1967) สำหรับประเทศไทย จากสรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค 2549 พบว่า มีผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเปื้อนพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลา ในระหว่าง พ.ศ. 2539 ถึง พ.ศ. 2548 จำนวน 1,311 ราย 1,532 ราย 1,736 ราย 48 ราย 125 ราย 323 ราย 13 ราย 350 ราย 321 ราย และ 219 ราย ตามลำดับ โรคอาหารเปื้อนพิษที่เกิดขึ้นในแต่ละปีจะมี เชื้อซัลโมเนลลาเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยโรคเกิดการเจ็บป่วยและ/หรือเสียชีวิต รวมอยู่ด้วยเสมอ (สำนัก ระบาดวิทยา, 2006)

### อาการของโรคอาหารเปื้อนพิษจากเชื้อซัลโมเนลลาแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ

1. อาการแบบ Intestinal salmonellosis หรือ Gastroenteritis causing Salmonella spp. มีระยะฟักตัวของโรคประมาณ 4-48 ชั่วโมงผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง 38-39 องศาเซลเซียส หนาว สั่น คลื่นไส้ อาเจียน เจ็บปวดบริเวณท้อง ท้องเสีย ไม่มีเลือดปน ถ้าเชื้อซัลโมเนลลาผ่านเข้าสู่กระแส เลือด และแพร่กระจายไปตามอวัยวะต่างๆ ของมนุษย์ หรือสัตว์ที่ด้อยภูมิคุ้มกัน (Immunocompromised host) จะทำให้เกิดการอักเสบขึ้นที่สมอง หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต กระดูก และทางเดินปัสสาวะ พบผู้ป่วยประมาณร้อยละ 2 ที่เสียชีวิตจากอาการขาดน้ำ (dehydrate) ติดเชื้อใน กระแสเลือด ไตวาย และช็อค

2. อาการแบบ Enteric fever (Typhoid fever และ Paratyphoid fever) มีระยะฟักตัวของโรคประมาณ 3-35 วัน แต่โดยทั่วไปประมาณ 7-14 วัน ที่ต้องไชรยะฟักตัวนานก่อนจะก่อโรคเนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนที่ต่ำ ระยะเวลาป่วยค่อนข้างนานหลายสัปดาห์ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง 39-40 องศาเซลเซียส และนานต่อเนื่อง หนาวสั่น ปวดท้อง ปวดศีรษะคลื่นไส้อาเจียน เบื่ออาหารอ่อนเพลีย ท้องเสียอาจมีเลือดปนมากและมีกลิ่นเหม็นมากในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 2-3 จะเกิดจุดสีแดงขนาดประมาณ 2-5 มิลลิเมตร ตามผิวหนัง เนื่องจากเชื้อได้แพร่กระจายไปอยู่ตามเส้นเลือดฝอยจำนวนมากและอาจมีอาการสมองเลอะเลือน ปวดคออย่างรุนแรง ชีพจรเต้นเร็ว

#### 1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วัชร (2543) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย 12 ชนิด ที่สกัดด้วย 95% ethanol และ ไต ค ล อ โร มี เทน ต่อ การ เจริญ ของ Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa และ Salmonella enteritidis ที่แยกได้จากผู้ป่วยเอดส์ โดยวิธี agar disc diffusion พบว่าสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนพืชสมุนไพร 9 ชนิด คือ มะระขี้นก กระชาย กระเทียม ฟ้าทะลายโจร กล้วยน้ำว่าทองพันชั่ง บัวบก บอระเพ็ด และชุมเห็ดเทศ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และพบว่าชุมเห็ดเทศให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ S. aureus sp386, S. aureus ATCC 25923 และ St. pneumoniae โดยมีค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) เท่ากับ 0.03, 0.06 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับจากรำ (2545) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากต้นแมงลักคาโดยวิธี well diffusion พบว่าสามารถต้านการเจริญของ S. aureus ATCC 29213 และสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วย โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 8.82-17.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังสามารถต้านเชื้อ S. pyogenes ที่แยกได้จากหนองของผู้ป่วยได้ด้วย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 4.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต้านการเจริญของ E. coli เล็กน้อย

นภาพรและคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชท้องถิ่น 2 ชนิด คือ สาบเสือ (Chromolaena odorata Linn.) และเถาคันขาว (Columella trifolia Merr.) โดยวิธี well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบของสาบเสียมิฤทธิ์ต้านการเจริญของ S. aureus ได้ดีกว่า E. coli ส่วนสารสกัดหยาบของเถาคันขาวมีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดเท่ากัน โดยฤทธิ์ของสารสกัดหยาบของสาบเสือต่อ S. aureus มีค่าเทียบเท่ายาปฏิชีวนะ gentamicin ที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าไม่มีสารสกัดชนิดใดที่มีฤทธิ์ต้าน E. coli ได้เทียบเท่ายาปฏิชีวนะ

gentamicin Taded et al. (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นในประเทศเอธิโอเปีย โดยวิธี well diffusion พบว่าใบของต้น *Calpurnia aurea* และ *Olinia rochetiana* ที่สกัดด้วย 80% methanol ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus*, *E. coli* และ *Ps. aeruginosa* ได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสของการยับยั้งอยู่ในช่วง 21-25, 19-21 และ 18-22 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Chomnawang et al. (2005) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ สาบเสือ เสดดพังพอน และมังคุด โดยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus epidermidis* ซึ่งเป็นสาเหตุของสิวได้ โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้ดีที่สุด และมีค่า MIC เท่ากับ 0.039 และ 0.156 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Perva-Uzunalic et al. (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารสำคัญจากชาเขียว (*Camellia sinensis*) สายพันธุ์ Fanning Belas (ประเทศจีน) โดยใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ชนิดแตกต่างกัน (แอสีโทน เอทานอล เมทานอล แอซีโทไนโตรล และน้ำ) และอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (60 80 95 และ 100 องศาเซลเซียส) และเวลาต่างกัน (5-240 นาที) สารสกัดจากชา ถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ คาเทชิน ชนิดหลัก (EC, EGC, ECG, EGCG) คาเฟอีน พบว่าวัตถุดิบเริ่มต้นมีปริมาณคาเทชิน ชนิดหลัก 191 กรัมต่อกิโลกรัม คาเฟอีน 36 กรัมต่อกิโลกรัม และพบว่ากระบวนการสกัดชาเขียวมีปริมาณของ คาเทชินชนิดหลักมีค่าอยู่ช่วง 280-580 กรัมต่อกิโลกรัม สารสกัดแห้ง ปริมาณคาเฟอีนในชาเขียวสกัดมีค่าอยู่ในช่วง 75 กรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งกระบวนการสกัดที่สามารถสกัดคาเทชิน ให้มีประสิทธิภาพสูงสุดคือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (ร้อยละ 97) และอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที (ร้อยละ 90) โดยได้พบการสูญเสีย คาเทชิน เมื่อใช้อุณหภูมิสูงและเวลานานเกินไปในการสกัด

Magassouba et al. (2007) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นในเขตแอฟริกาตะวันตก ด้วยวิธี broth dilution พบว่า *Chlorophora regia*, *Harrisonia abyssinica* และ *Lantana camara* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย methanol สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.625, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสมุนไพรหลายชนิดมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ดังนั้น การคัดเลือกสมุนไพรในท้องถิ่นมาศึกษาฤทธิ์การต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจึงเป็นแนวทางในการพัฒนาสมุนไพรท้องถิ่นเป็นยาต้านแบคทีเรียขึ้นมามาทดแทนยาปฏิชีวนะหรือยาสังเคราะห์ ที่มีราคาสูงและมีปัญหาในการรักษาโรคติดเชื้อสาเหตุจากแบคทีเรียก่อโรค

Stenson (2000) และ Romanchick-Cerpovicz et al (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับในประเทศสหรัฐอเมริกามีการนำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว มาใช้ทดแทนเนยเหลว และไข่ทั้งหมดในสูตรการทำเค้กบราวน์ ทำให้บราวน์สูตรดังกล่าวมีปริมาณไขมันน้อยกว่าสูตรปกติ โดยบราวน์ สูตรปกติมีปริมาณไขมัน 6.6 กรัม ส่วนบราวน์ที่มีการทดแทนเนยเหลวและไข่ด้วยพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีปริมาณไขมัน 0.49 กรัม และมีคะแนนความชอบจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ยังมีการนำพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมาใช้ในรูปของสารทดแทนไขมันในการทำซ็อกโกแลตบาร์คูกี้ ทั้งยังสามารถช่วยรักษาความชุ่มชื้นของคูกี้ในระหว่างการเก็บรักษาได้มากกว่าคูกี้สูตรปกติ โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกับคูกี้สูตรปกติและคูกี้ที่มีการเติมสารทดแทนไขมันชนิดอื่น

JOELLE E ROMANCHIK-CERPOVICZ et al (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้มิวซิเลจจากกระเจี๊ยบเขียวมาทดแทนเนยเทียมและไข่แดงในคูกี้ซ็อกโกแลตบาร์ ทำให้คูกี้ซ็อกโกแลตบาร์มีไขมันน้อยกว่าสูตรปกติ โดยสามารถลดไขมันได้ถึงร้อยละ 25 – 50 และมีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างจากคูกี้สูตรปกติ และเมื่อใช้มิวซิเลจจากกระเจี๊ยบเขียว ปริมาณน้ำที่มีในอาหารและความชื้นจะเพิ่มมากขึ้น

Joelle E. Romanchik-Cerpovicz et al (2006) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้มิวซิเลจจากกระเจี๊ยบเขียวทดแทนไขมันนม ในผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตนมแช่แข็งและไอศกรีมซ็อกโกแลตโดยทดสอบความชอบในด้าน สี กลิ่น เนื้อสัมผัส กลิ่นรสและความชอบโดยรวม พบว่า มีความคล้ายคลึงกัน โดยสามารถใช้มิวซิเลจจากกระเจี๊ยบเขียวทดแทนไขมันนมได้ถึงร้อยละ 75

Ndjouenkeu et al (1997) ได้ทำการศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวแบบผง (okra flour) และศึกษาผลของการเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ที่มีต่อความคงตัวของอิมัลชันของน้ำมันข้าวโพดซึ่งเป็นอิมัลชันชนิดไขมันในน้ำ จากการศึกษาพบว่า okra flour มีค่า Water Absorption Capacity (WAC), Oil Absorption Capacity (OAC) และ Water/Oil Absorption Index (WOAI) อยู่ในระดับต่ำ เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชชนิดอื่น โดยการที่พอลิแซ็กคาไรด์จะช่วยให้อิมัลชันมีความคงตัวได้นั้น จะต้องมียค่า WAC และ OAC สูง นอกจากนั้นอิมัลชันที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวยังมีค่า Emulsifying Activity (EA) และ Emulsion Stability (ES) ต่ำ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีสมบัติในการเป็นสารให้ความหนืด (thickener) ขณะที่สมบัตินี้ในการให้ความคงตัวแก่อิมัลชัน (emulsion stabilizer) ต่ำ (วชิราภรณ์, 2549)

สุธีรา (2553) ได้ศึกษาการใช้มิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักแบบเปียกและแบบผงแห้งเพื่อเป็นสารทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลา พบว่า มิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักแบบเปียก มีความชอบรวมสูงสุด มีกรรมวิธีการผลิต มีการใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่าและต้นทุนการผลิตต่ำกว่า โดยใช้มิวซิเลจเมล็ดแมงลักต่อไขมัน 5 ระดับ คือ 0:20 (สูตรควบคุม), 5:15, 10:10, 15:5 และ 20:0 โดยเมื่อใช้มิวซิเลจเมล็ดแมงลักในปริมาณที่สูงขึ้น ทำให้ค่าความสว่างลดลง และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้นแต่ความคงตัวของอิมัลชันต่ำลง ทำให้ความแน่นเนื้อของไส้กรอกปลาลดลงด้วย แต่ในด้านค่าพลังงาน พบว่า ยังใช้มิวซิเลจเมล็ดแมงลักในปริมาณสูงขึ้นไปทำให้ค่าพลังงานต่ำลงและต้นทุนในการผลิตลดลง แต่คะแนนการยอมรับในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบรวมไม่แตกต่างกัน ดังนั้นไส้กรอกปลาสามารถใช้มิวซิเลจทดแทนไขมันได้ในอัตราส่วน 20:0

จารุวัฒน์และพิพัฒน์ (2550) ได้ศึกษาการใช้โปรตีนเกษตรและเจลลูกสำรองทดแทนเนื้อสัตว์และไขมันในไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ โดยทดแทนเนื้อสัตว์ด้วยโปรตีนเกษตรในอัตราส่วนร้อยละ 20, 30, 40 และทดแทนไขมันด้วยเจลลูกสำรองในอัตราส่วนร้อยละ 25, 50, 75 ได้สูตรทั้งหมด 13 สูตร พบว่า ลักษณะด้านความชุ่มน้ำมีผลต่อ สูตรที่ 1, 3, 4 และ 13 จึงมีคะแนนความชอบสูงใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณาในด้านต้นทุนวัตถุดิบ พบว่า สูตรที่ 1 ที่มีการเติมโปรตีนเกษตรในอัตราส่วนร้อยละ 40 และเจลลูกสำรองในอัตราส่วนร้อยละ 75 มีคะแนน อยู่ในระดับที่ผู้ทดสอบยอมรับได้ และสามารถลดต้นทุนการผลิตได้มากที่สุด จากนั้นศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี พบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ทดแทนโปรตีนเกษตรและเจลลูกสำรอง มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดังนี้ ค่าความต้านทานแรงเฉือน (shear force) ต่ำกว่าสูตรต้นแบบ, คาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น, ไขมัน ความชื้นและเถ้าลดลง

ประภาศรี (2547) ได้ศึกษาการสกัดมิวซิเลจจากลูกสำรองเพื่อเป็นสารทดแทนไขมัน ในผลิตภัณฑ์หมุยอ โดยศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของลูกสำรองต่อไขมัน 4 สูตร คือ 0:3 (สูตรควบคุม), 1:2, 2:1 และ 3:0 การใช้ลูกสำรองทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์หมุยอทั้ง 3 สูตร เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม มีผลต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า 3 สูตร ที่ใช้ลูกสำรองทดแทนไขมัน ไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าแรงต้านการตัดขาดต่ำกว่าสูตรควบคุม เนื่องจากเนื้อลูกสำรอง มีน้ำอยู่ในโครงสร้าง จึงส่งผลให้ในสูตรลดไขมันมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Claus และคณะ (1989) ว่าเมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น จะมีผลให้โครงสร้างโปรตีนจับกับน้ำมากกว่าเกิดการจับกันเองระหว่างโปรตีน จึงทำให้ไส้กรอกโบลัญญา มีความแน่นเนื้อลดลง ความสามารถในการอุ้มน้ำ ของสูตรที่ใช้ลูกสำรองทดแทนไขมัน มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าสูตรควบคุม ความคงตัวของอิมัลชันลดต่ำลง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของลูกสำรอง เพราะในเนื้อลูกสำรองกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างได้มาก เมื่อปริมาณน้ำเพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณโปรตีนเท่าเดิม มีผลให้ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนลดลง และปริมาณไขมันลดลงจากสูตรควบคุม เนื่องจากเนื้อลูกสำรองมีไขมันเพียงร้อยละ 0.1 มีความชอบด้านเนื้อสัมผัส, ความชอบด้านสี, ความชอบด้านรสชาติและความชอบรวม อัตราส่วน 2:1 คือ ระดับที่ผู้บริโภครยอมรับ มีคะแนนสูงสุดและสูงกว่าสูตรควบคุม



## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการ

#### 3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี

- วัสดุที่ใช้ในการวิจัย
  - หอมหัวใหญ่
- อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย
  - กรวยกรอง
  - กรวยแยก
  - คอลัมน์ (column)
  - ขวดก้นกลม (round bottom flask)
  - กระจกนาฬิกา (watch glasses)
  - ขวดแก้วขนาดเล็ก (vial)
  - ขวดปริมาตร (volumetric flask)
  - ขวดรูปชมพู่ (elrenmayer flask)
  - แท่งแก้วคน (stirring rod)
  - ปีกเกอร์ (beaker)
  - ปิเปตต์ (pipette)
  - หลอดทดลอง (test tube)
  - หลอดหยด (dropper)
  - อุปกรณ์อื่น เช่น มีด กรรไกร
- สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย
  - ซิลิกาเจล (silica gel)
  - ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)
  - เมทานอล (methanol)
  - เอทานอล (ethanol)
  - เฮกเซน (hexane)
- เครื่องมือที่ใช้
  - เครื่องระเหยสุญญากาศ
  - ตู้บชนิดควบคุมอุณหภูมิ
  - เครื่อง autoclave
  - ชุดเครื่องกลั่นสาร

### 3.2 วิธีทดลอง

#### การเตรียมวัตถุดิบ

นำหอมหัวใหญ่ล้างในน้ำให้สะอาด นำมาหั่น เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปล้างด้วยน้ำอีกครั้งแล้วพักทิ้งไว้ให้แห้งตามธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง (ให้น้ำที่ล้างระเหยออกจนหมด)

ขั้นตอนการสกัดสารจากสมุนไพรเพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียจากสารสกัดหอมหัวใหญ่การเตรียมสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ทำได้โดยการสกัดจากหอมหัวใหญ่ 10 กรัม มาสกัดด้วยเอทานอล 95 % ปริมาณ 250 มิลลิลิตร โดยแช่ไว้เป็นเวลา 5,6,7,8,9 และ 10 ชม. ทำการแยกหอมหัวใหญ่กับสารที่สกัดออกมาได้ได้กระดาชกรอง และทำการแยกสารที่สกัดได้โดยนำมาระเหยเอทานอลออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 - 47 °C ศึกษาปริมาณสารที่สกัดได้ และเก็บไว้ในขวดสีชาอุณหภูมิ 4 °C

การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* โดยขั้นตอนการเตรียมเชื้อทำการเจือจางเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา (*Escherichia coli* และ *Salmonella spp.*) ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียในหลอดสุดท้าย เป็น  $10^{-3}$  ด้วย 0.85 % NaCl ปริมาณ 9 ml จำนวน 4 หลอดได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารที่สกัดได้ทั้งหมด 3 วิธี คือ

1. การทดสอบหาบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion techniques
2. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธี Broth dilution technique
3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธี Agar dilution technique

## วิธีของการทดสอบมีรายละเอียดดังนี้

### 1. การทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion techniques

การหาบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 300,200 และ 100 mg/ml โดยใช้ 95% เอทานอล เป็นตัวทำละลายในสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ 1% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลายในสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ทำการปิเปต 5 ไมโครลิตรของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ที่มีตัวทำละลายคือ 1% MSO (โดยปริมาตร) และ 95% เอทานอลลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร รวมทั้งหมด 5 ตำแหน่งโดยตัวทำละลาย 1%DMSO และ 95% เอทานอลซึ่งทำหน้าที่เป็น control แล้ววางกระดาษกรองบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีออกซิเจน และสำหรับเชื้อการบ่มเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดจะบ่มภายใต้อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชม. แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรีย (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

### 2. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ด้วยวิธี Broth dilution technique

การทดสอบหาค่า MIC ของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ โดยเริ่มต้นนำหลอดทดลองซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 10 หลอด ทำการดูอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) ใส่ลงในหลอดที่ 2 - 10 หลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วดูสารสกัดที่ต้องการศึกษาลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มิลลิลิตรต่อจากนั้นดูสารในหลอดที่ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำทำนองเดียวกันนี้ไปจนถึงหลอดที่ 9 สำหรับหลอดที่ 9 เมื่อผสมสารสกัดและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันได้ดีแล้วดูสารละลายทิ้งไป 1 มิลลิลิตร ส่วนหลอดที่ 10 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด จึงใช้เป็น positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไป ในทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตรแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 16 - 18 ชม. การอ่านผลการหา MIC ให้สังเกตความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับ positive control

### 3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ด้วยวิธี Agar dilution technique จากค่า MIC สามารถนำมาหาค่า MBC ได้ โดยนำหลอดที่ไม่มี ความขุ่นจากการทดสอบหาค่า MIC ไปเทและเกลี่ย (spread plate) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะสังเกตไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว

## การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่มีอายุไม่เกิน 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้ต้องในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปจะนิยมใช้เชื้อปริมาณ  $10^5 - 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร วิธีการทำมีดังต่อไปนี้

1) เชื้อโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบที่เพาะเลี้ยงไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง มาประมาณ 2-3 โคโลนีนำมาใส่ในอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในหลอดทดสอบปริมาตรหลอดละ 2 มิลลิลิตร

2) นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 1) ไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) นำเชื้อจากข้อ 2) มาเจือจางให้ได้จำนวนแบคทีเรีย  $10^5 - 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปวัดความขุ่นให้ได้อาการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เท่ากับ 5

## การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการทดสอบนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งโดยวิธี Agar diffusion โดยใช้อาหาร Plate count agar (PCA)

## การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

1) เชื้อที่จานอาหารแข็ง เพื่อระบุตำแหน่งที่จะวางแผนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร ทั้งหมด 4 ตำแหน่ง



2) วิธีเพาะแบคทีเรียลงบนอาหารทดสอบ ใช้ไมพ่นสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรียที่ปรับความชุ่มชื้นโดยมีปริมาณเชื้อประมาณ  $10^5 - 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แลwab ปิดให้แห้งพอหมาด ๆ กับข้างหลอดทดลองจากนั้นทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อโดยลากเส้นผ่านศูนย์กลางจานเพาะเลี้ยงเชื้อแล้วป้ายเป็นเส้นตั้งฉาก ผานเส้นที่ลากไว้ถึ ให้ทั่วผิวหน้าแล้วหมูนจานเพาะเชื้อไปประมาณ 60 องศาแล้วป้ายเช่นกันทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อให้แบคทีเรียกระจายสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 3 - 5 นาทีเพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง

3) การทดสอบสารสกัดโดยใช้กระดาษกรองปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรใช้ปากคีบ (forceps) คีบกระดาษวางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นแล้วกดเบาๆ มาวางที่ตำแหน่งที่กำหนดไว้

4) หยดตัวอย่างสารสกัดและ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่จะทดสอบวางใส่ลงแผ่นกระดาษกรองคนละตาแห่งตามลำดับตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตรรวมทั้งหยดตัวทำละลายเป็น control โดยใช้ automatic pipette ที่ปราศจากเชื้อ เสร็จแล้วนำจานเพาะเชื้อที่นำไปเลี้ยงที่ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมงแล้วนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีแบคทีเรียขึ้น (inhibition zone) โดยวัดหน่วยเป็นมิลลิเมตร

5) การอ่านผล เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 16 - 18 ชั่วโมงแล้ว ให้วัดขนาดของโซนใสที่เกิดขึ้น โดยวัดจากขอบโซนข้างหนึ่งไปยังขอบโซนอีกข้างหนึ่ง โดยให้ผานจุดศูนย์กลางของ paper disc ด้วย บันทึกลงหน่วยเป็นมิลลิเมตร (ขอบโซนที่วัดต้องเป็นโซนที่ชัดเจนมีเชื้อขึ้นบ้าง ๆ ให้ถือว่าบริเวณนั้นยังมีปริมาณยาหรือสารสกัดชีวภาพสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

ขนาดของ โซนใส (Inhibition zone; มิลลิเมตร) = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc และ โซนใสของเชื้อ) ลบด้วย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ paper disc ( 6 มิลลิเมตร)

อัตราส่วนของ inhibition zone =  $\frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของเชื้อ}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ negative control}}$

## Broth Dilution Technique

### 1. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Minimal inhibitory concentration (MIC)

การทดสอบหาความไวของแบคทีเรียต่อสารสกัดโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ละเอียดวิธีหนึ่ง ซึ่งได้จากการทดสอบวิธีนี้จะทำให้ทราบทั้ง MIC และ MLC (Minimal lethal concentration) ของสารสกัดนี้ นั้นกับแบคทีเรียซึ่งทำการทดสอบหลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือ การเลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมีสารสกัดในปริมาณต่างกันผสมอยู่ด้วย และสังเกตการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีสารสกัดในปริมาณต่างๆ ทดสอบหาความไวของแบคทีเรียต่อสารสกัดโดยวิธี broth dilution technique นี้สามารถทำได้ทั้ง macro broth dilution technique และ micro broth dilution technique ในที่นี้ทำการทดสอบโดยวิธี Macro broth dilution technique

#### 1) การเตรียมแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบต้องอยู่ในระยะที่เซลล์ทุกๆ เซลล์พร้อมที่จะเจริญเติบโตหรือแบ่งเซลล์ได้ ควรเป็นแบคทีเรียที่มีอายุไม่มากโดยทั่วไปใช้แบคทีเรียที่มีอายุไม่มากกว่า 24 ชั่วโมงวิธีการเตรียมมีดังต่อไปนี้

(1) เชื้อโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบที่เพาะเลี้ยงไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง เชื้อโคโลนีมาประมาณ 4 - 5 โคโลนีนำมาใส่ในอาหารเหลวที่เหมาะสมเขย่าเพื่อให้เชื้อกระจายตัวออกจากกัน

(2) นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ (1) ไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง โดยเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปวัดความขุ่นให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรเท่ากับ 5

2) การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทดสอบนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth

3) การเตรียมสารสกัด ที่ใช้ในการทดสอบ โดยนำสารที่สกัดได้ทุกตัวอย่างนำมาละลายในตัวทำละลายให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

#### 4) การปฏิบัติการทดสอบการศึกษาความไวต่อสารสกัด ด้วยวิธี Macro broth dilution technique

(1) นำหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อและทำให้แห้งจำนวน 12 หลอดเขียนหมายเลขกำกับไว้ที่หลอด

(2) ไขเป็ดดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ (broth) ใส่ลงในหลอดที่ 2 - 12 หลอดละ 1 มิลลิลิตร

(3) ไขเป็ดดูดสารสกัดลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมสารในหลอดที่ 2 ให้เขากัน

(4) ไขเป็ดดูดสารในหลอดที่ 2 หลอดจำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดที่ 3

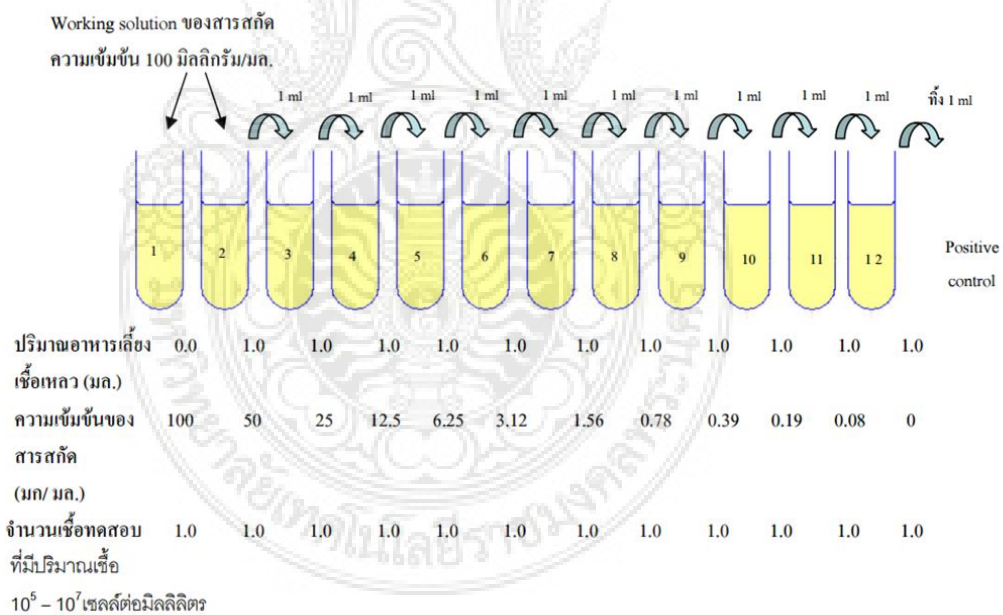
(5) ทำซ้ำในข้อ (4) ไปจนถึงหลอดที่ 11 (เปลี่ยนไปเป็ดทุกครั้งที่เปลี่ยนหลอด) เมื่อผสมสารละลายในหลอดที่ 11 ให้เขากันได้ดีแล้วให้ไขเป็ดดูดสารละลายทิ้งไป 1 มิลลิลิตร หลอดที่ 12 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัดจึงใช้เป็น positive control

(6) เติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงในทุกหลอดจำนวนหลอดละ 1 มิลลิลิตร

(7) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16 - 18 ชั่วโมง

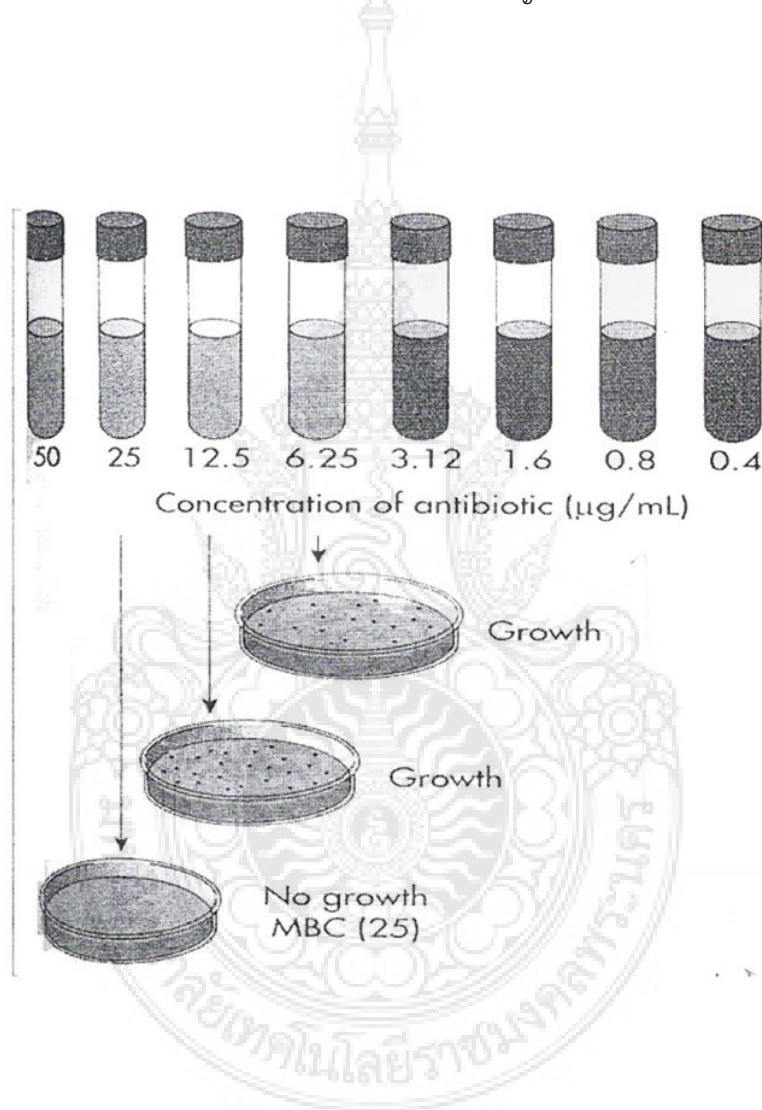
#### 5) การอ่านผลการหา Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

เมื่อบ่มเชื้อจนครบ 16 -18 ชั่วโมงแล้ว ให้สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านปริมาณของสารทดสอบของหลอดนี้เป็นค่า MIC ของ บัณฑิตที่หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิเมตรค่า MIC คือค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่ไข่ทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ อย่างสมบูรณ์

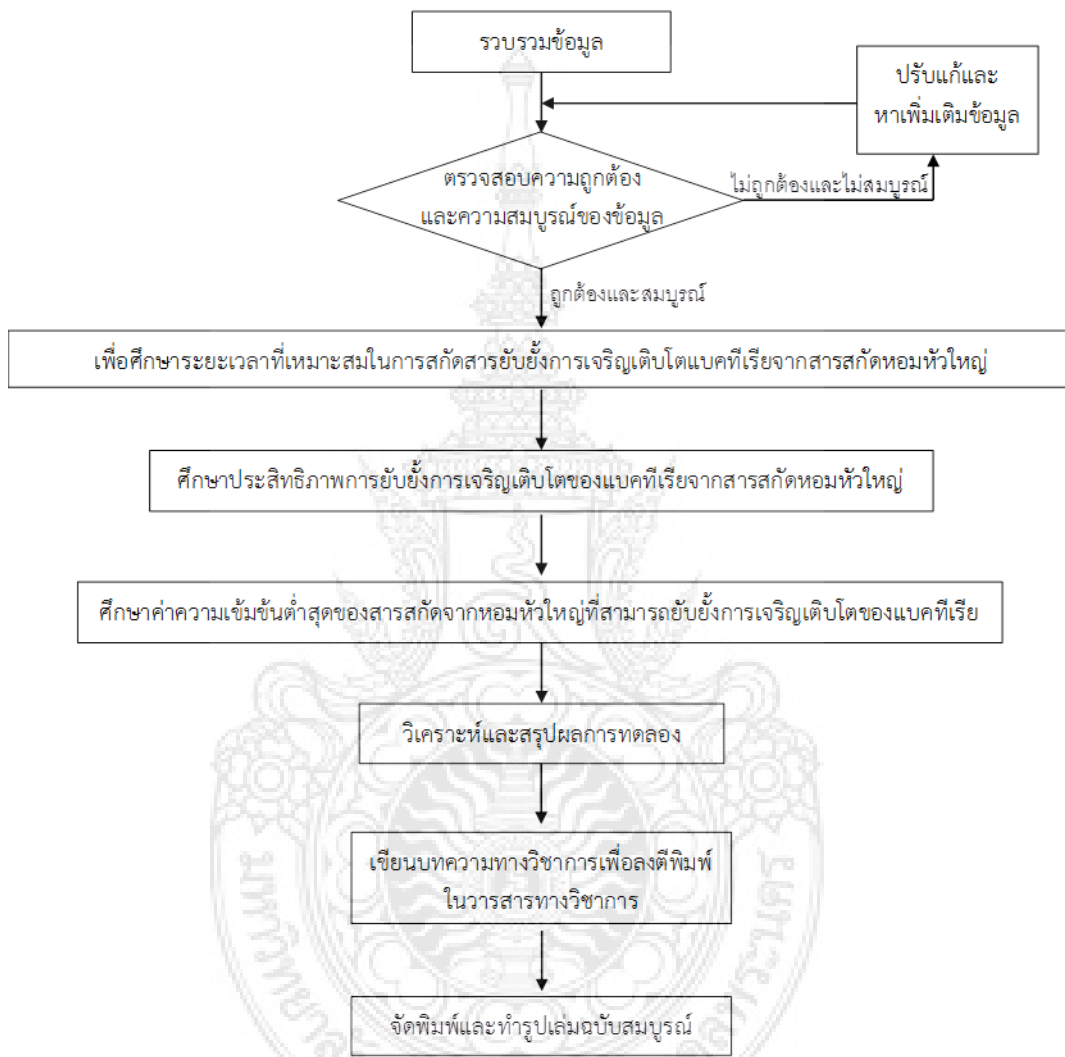


## การคำนวณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าได้เชื้อ Minimal bactericidal concentration

(MBC) จากการหาคความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ทำให้เชื้อไม่เจริญในอาหารเหล่านั้น สามารถนำมาหาคา MBC ได้โดยนำหลอดที่ทำการทดสอบจากการหาคา MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดไปspread plate บนอาหาร rypitcase soy agar ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อถ้าเชื้อไม่ตายจะพบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ







## สถานที่และระยะเวลาในการดำเนินการทดลอง

สถานที่ที่ใช้ในการทำวิจัยนี้จะใช้ห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

ตารางแสดง ขั้นตอนแผนการดำเนินงานโครงการวิจัย (ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558)

กิจกรรม	2557			2558									
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1. รวบรวมข้อมูล													
2. ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน													
3. ศึกษาวิธีการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียจากหอมหัวใหญ่													
4. ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากสารสกัดจากหอมหัวใหญ่													
5. ศึกษาค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย													
6. สรุปและวิเคราะห์ผลการทดลอง													
7. จัดส่งบทความเพื่อลงตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ													
8. พิมพ์และจัดทำรูปเล่มสมบูรณ์													

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง และอภิปรายผล

#### 4.1 การศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรีย

ผลการศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียจากสารสกัดหอมหัวใหญ่ด้วยวิธีการแช่เย็น โดยตัวทำละลายที่ใช้เป็นสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย จึงต้องใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดที่มากพอ เพื่อให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในของพืชที่ออกมา และสารสกัดที่ได้จะไม่ถูกความร้อน ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้จะเพียงจากสารที่มีขั้วน้อยไปจนถึงสารที่มีขั้วมากคือ เฮกเซน , เอทานอล และเมทานอล ซึ่งผลของปริมาณของสารสกัดหยาบที่ได้แสดงดังตารางปริมาณสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด

ตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้ (กรัม)
เฮกเซน	1.306
เอทานอล	3.260
เมทานอล	1.305

จากการศึกษาการใช้สารละลายทั้งสามชนิดเป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดสารจากหอมหัวใหญ่พบว่าการใช้ เอทานอลสามารถให้ปริมาณสารที่สกัดได้มากที่สุด คือ 3.260 กรัม เฮกเซนและเมทานอลให้ปริมาณสารที่ได้ 1.306 และ 1.305 กรัมตามลำดับ

หอมหัวใหญ่ (น้ำหนัก 2 กิโลกรัม )

- สกัดด้วยเฮกเซน
- กรอง

ส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน

- ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ส่วนสกัดหยาบชั้นเฮกเซน (น้ำหนัก 1.3063g)

ส่วนสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน

- ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

สารสกัดหยาบชั้นไดคลอโรมีเทน (น้ำหนัก 2.6203g)

ส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล

- ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ส่วนสกัดหยาบชั้นเอทานอล (น้ำหนัก 3.2602g)

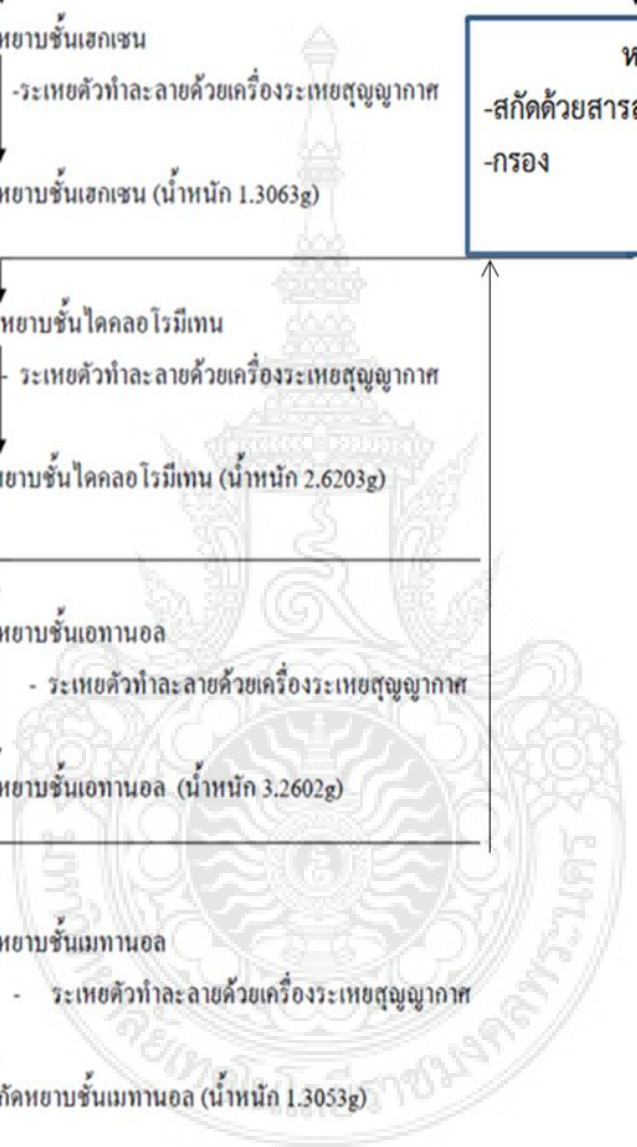
ส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล

- ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอล (น้ำหนัก 1.3053g)

หอมหัวใหญ่

- สกัดด้วยสารละลาย
- กรอง



#### 4.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.*

ผลการศึกษาการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วย เอทานอล, เฮกเซน และเมทานอลโดยใช้วิธี disc diffusion techniques ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

1. ผลของสารสกัดหอมหัวใหญ่ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.*

สารสกัด หอมหัวใหญ่	ตัวทำละลาย	Inhibition zone (มิลลิเมตร) ของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella spp.</i>	
		E – Negative control	Negative control	E – Negative control	Negative control
เอทานอล	1	9	0	6	
เมทานอล	0	6	0	6	
เฮกเซน	0	6	0	6	

ในการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 2 ชนิด ของสารสกัดหอมหัวใหญ่โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล, เฮกเซน และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 6 มิลลิเมตร(ตารางที่ 3 และภาพที่ 14) แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salmonella spp.*

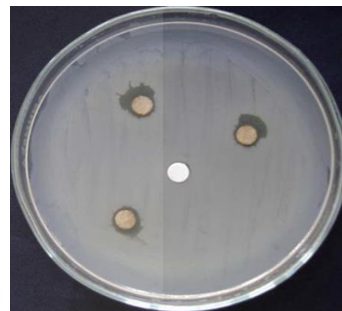
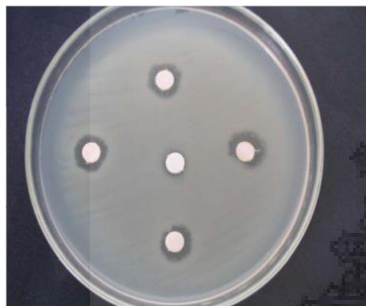
**หมายเหตุ:** เส้นผ่านศูนย์กลางของ disc เท่ากับ 6 มิลลิเมตร

E = Extract

Negative control = ใช้ตัวทำละลายแทนสารสกัด

E – Negative control = ผลต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของสารสกัดกับเส้นผ่านศูนย์กลางของ

ตัวทำละลาย



ภาพแสดง วงใสที่เกิดจากการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ของสารสกัดหัวหอมใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอล

หมายเหตุ: C = Control (เอทานอล)

จากการทดลองทั้งหมด โดยการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดหัวหอมใหญ่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล และเฮกเซน โดยใช้วิธี Disc diffusion techniques สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้และสารสกัดหัวหอมใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ดังนั้นจึงนำผลที่ได้มาศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ต่อไป

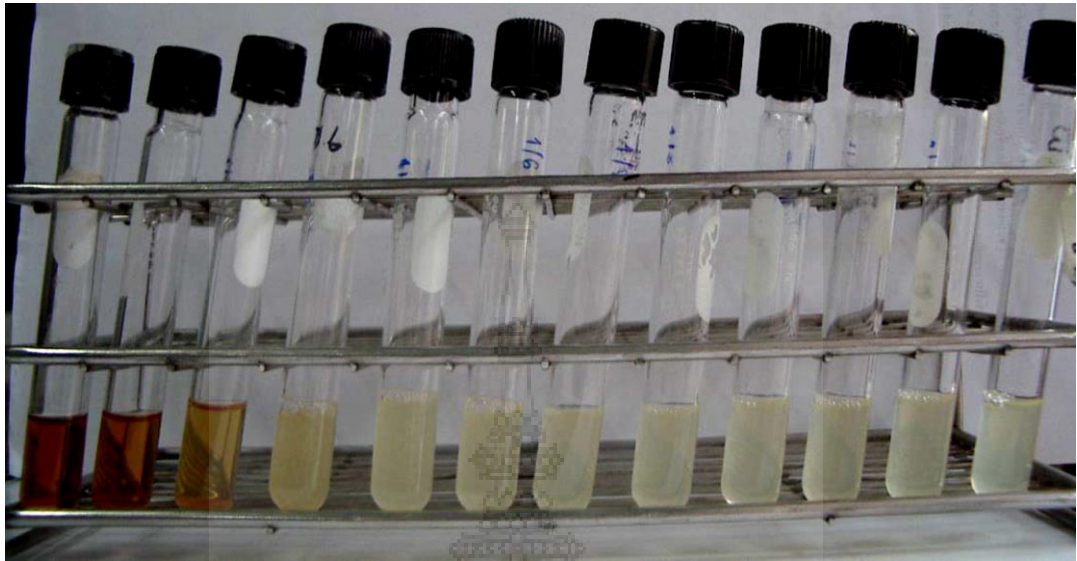
#### 4.3 เพื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.*

การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* จากการคัดเลือกผลจากวิธี disc diffusion techniques ซึ่งพบว่าสารสกัดหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ จึงทำการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหอมหัวใหญ่เท่ากับ 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า *Escherichia coli* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหมด แสดงว่า *Escherichia coli* สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางค่า MIC ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*

ตาราง ค่า MIC ของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli*

ความเข้มข้นของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	การเจริญของ <i>Escherichia coli</i>
100	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
50	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
25	ตกตะกอน, สารละลายด้านบนใส
6.25	++
3.12	++
1.56	++
0.78	++
0.39	++
0.19	++
0.09	++

หมายเหตุ : ++ หมายถึง จุลินทรีย์เจริญปานกลาง



100 50 25 12.5 6.25 3.12 1.56 0.78 0.39 0.19 0.09 PC



ภาพแสดง ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของของสารสกัดดอกกกที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique  
PC = Positive control



## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ ด้วยวิธีการแช่อยู่ (marceration) โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือเอทานอล, เอทานอล และเมทานอล พบว่าการสกัดสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่ที่มีน้ำหนักแห้ง 2 กิโลกรัม จะได้ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 1.305 3.260 และ 1.306 กรัมตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดหอมหัวใหญ่ โดยใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล, เอทานอล และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 6 มิลลิเมตรแต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salmonella spp.* ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* จากการคัดเลือกผลจากวิธี disc diffusion techniques ซึ่งพบว่าสารสกัดหอมหัวใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้ จึงทำการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหอมหัวใหญ่เท่ากับ 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการตกตะกอนของสารสกัด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่า *Escherichia coli* ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่น้อยกว่า 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารละลายขุ่นทั้งหมด แสดงว่า *Escherichia coli* สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

#### ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากหอมหัวใหญ่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด ดังนั้นจึงสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดงานวิจัย โดยศึกษาการพัฒนาการผลิตยา หรือเครื่องสำอาง โดยต้องศึกษาถึงประสิทธิภาพในการรักษาและความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นเพื่อความปลอดภัย และเป็นประโยชน์ในการผลิตเชิงพาณิชย์ต่อไป ถ้าสามารถพัฒนาถึงขั้นการผลิตจริง จะเป็นการนำหอมหัวใหญ่ ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์ จึงเป็นการลดปริมาณการใช้สารเคมีในทางอ้อม ดังนั้นจึงอาจคิดค้นงานวิจัยอื่นๆ เพื่อเป็นการนำหอมหัวใหญ่มาใช้ประโยชน์

2. ควรศึกษาการวิจัยต่อยอด ในเรื่องการแยกสารให้บริสุทธิ์ของสกัดหยาบที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารตัวที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่ได้ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

ภาคผนวก

คุณลักษณะสารสกัด



## เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)

เอทานอล เป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ สูตร  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  สามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี และกระบวนการหมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง และน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์ นิยมนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสารเคมีอื่นๆหรือนำมาใช้ประโยชน์โดยตรง เช่น ใช้เป็นตัวทำละลาย เครื่องดื่ม และเชื้อเพลิง เป็นต้น

### ลักษณะเฉพาะ

สถานะ : ของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่าย และมีกลิ่นเฉพาะตัว

สูตร :  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

น้ำหนักโมเลกุล : 46.07 กรัม/โมล

จุดเยือกแข็ง :  $-114.1$  องศาเซลเซียส

จุดเดือด :  $78.32$  องศาเซลเซียส

จุดวาบไฟ :  $14$  องศาเซลเซียส

อุณหภูมิวิกฤต :  $243.1$  องศาเซลเซียส

ความดันวิกฤต :  $6383.48$  kpa

ความหนาแน่น :  $0.7893$  กรัม/มิลลิลิตร

การละลายน้ำ : ละลายได้ดีมาก



## ประโยชน์ของเอทานอล

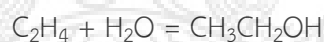
1. ใช้เป็นสารตั้งต้นหรือตัวทำละลาย เช่น การผลิตเครื่องสำอาง ยา น้ำหอม เป็นต้น
2. ใช้ผสมในเชื้อเพลิงเพื่อเพิ่มค่าออกเทน และลดปริมาณเชื้อเพลิงบางชนิด เช่น น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E10 (แอลกอฮอล์ 1 ส่วน น้ำมันเบนซิน 9 ส่วน) E20 (แอลกอฮอล์ 2 ส่วน น้ำมันเบนซิน 8 ส่วน)
3. เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่างๆ
4. ใช้สำหรับการฆ่าเชื้อหรือล้างแผล เช่น แอลกอฮอล์ 75%
5. ใช้สำหรับการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อในส่วนผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อ

## กระบวนการผลิต

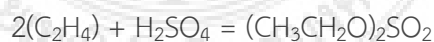
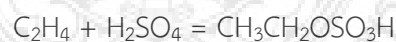
### 1. การสังเคราะห์

การสังเคราะห์เอทานอลสามารถสังเคราะห์ได้จากเอทิลีน (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) ด้วย 2 วิธี คือ

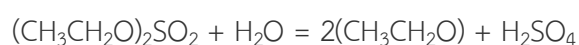
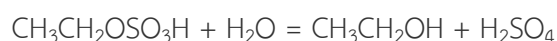
- ไตรแค ไฮดรอลิซิสเอทิลีน ด้วยการทำปฏิกิริยาของเอทิลีนกับไอน้ำที่ความเข้มข้นเท่ากัน ที่ความดัน 5-8 เมกกะพาสกาล อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา คือ กรดฟอสฟอริก-ซิลิกาเจล และทังสเตนออกไซด์-ซิลิกาเจล ทำให้ได้แอลกอฮอล์เข้มข้น 10-25% ดังสมการ



- อินไตรแค ไฮดรอลิซิสเอทิลีน โดยขั้นแรก ใช้เอทิลีนความบริสุทธิ์ 35-95% ทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถันทำให้ได้เอทานอลความเข้มข้นไม่เกิน 35% ดังสมการ



ขั้นที่ 2 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเอทิลซัลเฟตใน 2 แบบ จนได้เอทานอล

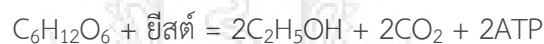


การสังเคราะห์วิธีนี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้ 50-60% ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ทั้งนี้ วิธีการผลิตเอทานอลด้วยการสังเคราะห์นี้ปัจจุบันไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีต้นทุนสูง และไม่คุ้มค่ากับการลงทุน

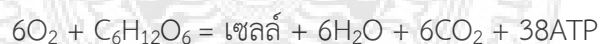
## 2. การหมักของจุลินทรีย์

เป็นวิธีการดั้งเดิม และนิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในปัจจุบัน เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ กระบวนการไม่ยุ่งยากซับซ้อน และสามารถหาวัตถุดิบในการผลิตได้ง่าย วัตถุดิบเหล่านี้ที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด และกากน้ำตาล

การผลิตเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการหมักโดยใช้ยีสต์ที่ผลิตแอลกอฮอล์หมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง น้ำตาล และเซลลูโลส ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 10-15% ภายใต้ภาวะไร้อากาศ และผ่านกระบวนการกลั่นเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์



จากสมการจะใช้กลูโคส 1 กรัม สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 0.511 กรัม คาร์บอนไดออกไซด์ 0.489 กรัม ทั้งนี้ ในสภาวะความเป็นจริงจะเกิดแอลกอฮอล์น้อยกว่า 0.511 กรัม เนื่องจากยีสต์จะนำน้ำตาลบางส่วนมาใช้ในการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นสารอื่นๆ เช่น กลีเซอรอล และซันนิเทท เป็นต้น แต่หากมีออกซิเจน ยีสต์จะใช้น้ำตาลสำหรับการสังเคราะห์เซลล์ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ



### ยีสต์สำหรับการหมัก

การใช้ยีสต์สำหรับการหมักวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จะขึ้นกับชนิดของคาร์โบไฮเดรตหรือวัตถุดิบที่ใช้ สำหรับการหมักวัตถุดิบประเภทแป้ง และน้ำตาลทั่วไปจะใช้ยีสต์จำพวก *Saccharomyces* sp. มีลักษณะเป็นรูปไข่ รูปทรงกลม หรือทรงกระบอก เช่น *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. uvarum* เป็นต้น โดยทั่วไปนิยมใช้ *S. cerevisiae* เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี ทนต่อความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงได้

### ลักษณะของยีสต์ที่ดี

- สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้สูง เหลือน้ำตาลน้อย
- ทนต่อฤทธิ์ของแอลกอฮอล์ได้ดี
- ทนต่อสภาวะ pH ต่ำ และเป็นกรดได้ดี
- สามารถรวมตัวกัน และตกตะกอนได้ดี
- ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย และทนต่อสภาวะต่างๆในการหมักได้ดี

### ตัวอย่างขั้นตอนการผลิต

วัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง และมันฝรั่ง วัตถุดิบเหล่านี้จะเข้ากระบวนการล้างทำความสะอาด และเข้าสู่กระบวนการบด

1. เข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนแปลงเส้นใย และแบ่งให้เป็นน้ำตาลด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์หรือกรด และเข้าสู่กระบวนการหมัก
3. พืชประเภทให้น้ำตาล เช่น อ้อย และกากน้ำตาล จะเข้าสู่กระบวนการบีตอัดแยกน้ำ และเข้าสู่

### กระบวนการหมัก

4. เมื่อสภาวะการหมักเกิดขึ้นจนได้แอลกอฮอล์ในปริมาณที่เหมาะสมจะเข้าสู่กระบวนการกลั่นแยกเอาแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% ออกมา
5. แอลกอฮอล์ 95% จะถูกนำมาใช้สำหรับการรับประทานในรูปแบบเครื่องดื่ม ใช้ในวงการแพทย์ อุตสาหกรรม และผสมเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง

### เฮกเซน (hexane)

เฮกเซน (hexane) เป็นสารที่ผลิตได้จากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบหรือการแยกก๊าซปิโตรเลียมเหลว ที่ถูกนำมาใช้งานสำหรับเป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิ การสกัดสารอินทรีย์จากสมุนไพร หรือใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเป็นตัวทำละลายสี เป็นต้น

## ลักษณะเฉพาะ

ชื่ออื่นที่เรียก: Naphtha (petroleum), hydrotreated light, dipropyl, gettysolv-b และ hex  
สถานะ: เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน

สูตรโมเลกุล: C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>

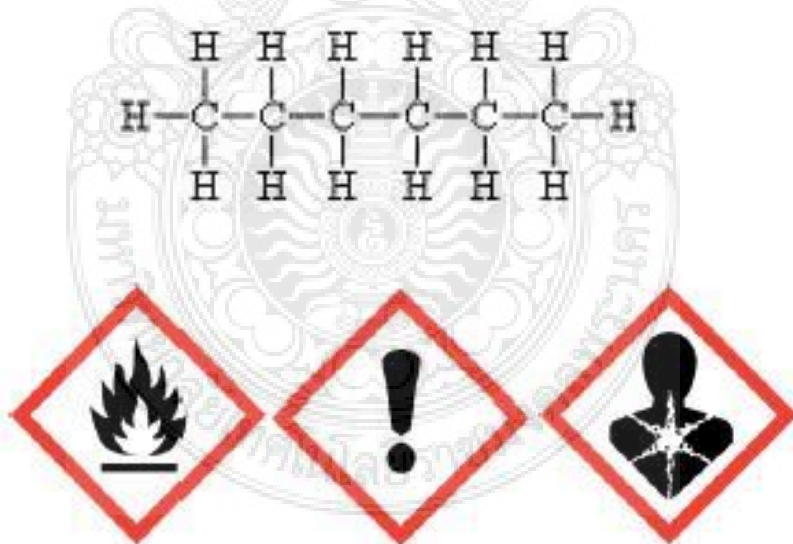
สูตรโครงสร้างโมเลกุล: CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>

น้ำหนักโมเลกุล: 86.1766

จุดหลอมเหลว: -100 ถึง -95 องศาเซลเซียส จุดเดือด: 69 องศาเซลเซียส

ความถ่วงจำเพาะ: 0.660 การละลายน้ำ: 10.5 มก./ลิตร

ดัชนีหักเหแสง: 1.375 จุดวาบไฟ: -27 องศาเซลเซียส ความไวไฟ: จัดเป็นวัตถุอันตรายที่เป็นของเหลว  
และไอระเหยที่มีความไวไฟสูงสารที่เข้ากันไม่ได้: สารออกซิไดซ์, แมกนีเซียมเปอร์คลอเรท, คลอรีน, ฟลูออรีน, พลาสติก



## การผลิต

เฮกเซนสามารถผลิตได้จากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบ หรือ ก๊าซปิโตรเลียมเหลว ผลพลอยได้จากกระบวนการกลั่นจะเกิดเฮกเซนหลายไอโซเมอร์ และจะเข้าสู่กระบวนการแยกให้ได้ n-hexane ที่บริสุทธิ์ การใช้ประโยชน์เฮกเซนเป็นสารอินทรีย์ระเหยชนิดหนึ่งที่ยอมรับใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิ

- การสกัดน้ำมันจากเมล็ดธัญพืชต่างๆ อาทิ ถั่วเหลือง เมล็ดฝ้าย ทานตะวัน เมล็ดข้าวโพด เป็นต้น

- ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมสี สีย้อม หมึกพิมพ์ กาว เป็นต้น- ใช้เป็นตัวทำละลายหรือสกัดสารในสมุนไพรต่างๆ การรับสารของมนุษย์- ค่า RfDo ของเฮกเซน (Reference dose โดยการกิน) เท่ากับ  $6.0 \times 10^{-2}$  มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน- ค่า RfDi ของเฮกเซน (Reference dose โดยการหายใจ) เท่ากับ  $5.71 \times 10^{-2}$  มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน

## ข้อมูลความปลอดภัย

มีการทดสอบความอันตรายของสารเฮกเซน โดยมีการทดสอบด้วยวิธีต่างๆ ทั้งการใช้แบบที่เรื้อรัง และเมื่อดูดดมของมนุษย์ พบไม่จัดเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ความเป็นพิษของเฮกเซนต่อระบบประสาท พบอาการที่สำคัญ คือ มีอาการแขน ขาอ่อนแรง และอาจเป็นอัมพาตได้ โดยพบอาการอ่อนแรงที่ขาอ่อน และเกิดอาการที่แขนตามมา ร่วมด้วยกับอาการปวดศีรษะ วิงเวียนศีรษะ มึนงง หายใจลำบาก มีอาการเบื่ออาหาร อาการเหล่านี้มักเกิดในคนที่ทำงานที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารตัวทำละลายต่างๆ เช่น คนงานประกอบรองเท้า คนงานทำสี เป็นต้น

ฤทธิ์ของเฮกเซนที่มีต่อ ระบบประสาทที่เกิดอาการวิงเวียนศีรษะ เชื่องซึม จะเกิดขึ้นบริเวณ cerebellum เกิดการกดระบบควบคุมการหายใจ ร่วมด้วยการออกฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้มีอาการเคลิบเคลิ้ม และหากได้รับสารพิษในปริมาณมากหรือเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการทำลายระบบ ประสาทส่วนกลางได้ ส่งผลทำให้เกิดควมผิดปกติของการทรงตัวเดินเซมีอาการ ความจำเสื่อม

1. เฮกเซนจัดเป็นสารมีพิษ ห้ามรับประทานหรือสูดดม และควรใช้ในสถานที่ที่มีการระบายอากาศที่ดี
2. สารละลายเฮกเซน และไอระเหยมีความไวไฟสูง ต้องหลีกเลี่ยงความร้อน และประกายไฟขณะใช้งาน
3. เป็นอันตรายต่อผิวหนัง และทางตา ทำให้เกิดการอักเสบ ระคายเคือง ควรสวมหน้ากาก หรือผ้าปิดจมูก สวมถุงมือ รองเท้า และสวมเสื้อผ้าให้มิดชิดขณะใช้งาน
4. เมื่อสัมผัสกับผิวหนังหรือตา ให้ล้างด้วยน้ำสะอาด หากมีอาการรุนแรงให้รีบพบแพทย์ทันที
5. การสูดดมหรืออยู่ในสถานที่ที่มีไอระเหยจะทำให้เกิดอาการวิงเวียน ร่างกายอ่อนเพลีย แขน ขาชา ให้รีบออกห่างหรือนำผู้ป่วยออกจากสถานที่ดังกล่าวทันที



6. การกลืนกินจะทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียนศีรษะ แขนขา ชา จึงรีบปฐมพยาบาล และนำส่งแพทย์ทันที

7. เมื่อใช้งานเสร็จ ควรปิดฝาให้แน่น

8. ควรเก็บในที่มืดซิด อุณหภูมิระหว่าง 0 ถึง 40 องศาเซลเซียส ห่างจากแสงแดด ปะกายไฟ และแหล่งความร้อนต่างๆ รวมถึงสารที่เข้ากันไม่ได้ในข้างต้น

#### 1. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300โคโลนี หากเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้ง 3 จานเพาะเชื้อรายงานผลการตรวจนับเป็นหน่วยโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง (cfu /g) หรือโคโลนี (APHA, 2001)

1.1 ถ้าจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาจำนวนอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีถ้าจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีให้จำนวนโคโลนีและคำนวณให้อยู่ในรูปโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง (cfu /g)

$$\text{ดั่งสมการ CFU/g} = c (V1n1 + 0.1n2) d$$

เมื่อ V1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช่ในการเพาะเชื้อ

c = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300โคโลนี

n1 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300 โคโลนีในระดับความเข้มข้นแรก

n2 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300 โคโลนีในระดับความเข้มข้นที่สอง

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง30-300 โคโลนี

คำนวณในรูปโคโลนีโดยมีวิธีคำนวณดังตัวอย่างต่อไปนี้เช่นนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อได้ 20 โคโลนีที่ระดับความเข้มข้น 10-1 หรือ 1:10ปริมาตรสารละลายที่ใช่ในการเพาะเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ย 20 โคโลนีปริมาตรสารละลายที่ใช่ในการเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ย  $20/0.1 = 200$  โคโลนีคือ ที่ระดับความเข้มข้น 10-1 มีจำนวนโคโลนีจำนวน 200 โคโลนี/ 1 มิลลิลิตรถ้าที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนี  $(200 \times 1)/10-1$ โคโลนีหรือ  $200 \times 10$  โคโลนีหรือ2000 โคโลนี/1 มิลลิลิตรดังนั้น ปริมาตรสารละลายที่ใช่ในการเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนีทั้งหมด 2000 โคโลนีถ้าปริมาตรสารละลายที่ใช่ในการเพาะเชื้อทั้งหมด 50 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนีทั้งหมด  $2000 \times 50 = 100,000$  โคโลนีคือ ตัวอย่างผลล้นจี 5 ผล มีจำนวนโคโลนีทั้งหมด 100,000 โคโลนีดังนั้น คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อผลล้นจีเท่ากับ  $100,000/5 = 2 \times 10^4$ โคโลนีหรือเขียนในรูปลอการิทึมฐานสิบ ( $\log^{10}$ ) ได้เท่ากับ 4.30  $\log$  โคโลนีต่อผลล้นจี

1.2 ถ้าทุกความเจือจางมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 30 โคโลนีใทรายงานผลการตรวจนับโคโลนีที่ความเจือจางต่ำสุดในรูปโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่างตามขอ 1.1 เปรณคาโดยประมาณ (estimate aerobic plate count)

1.3 ถ้าทุกความเจือจางไม่มีโคโลนีขึ้นเลยใทรายงานว่า มีจำนวนน้อยกว่า (<) ความเจือจางที่ต่ำสุดเซนที่ความเจือจาง 1:100 ไม่มีโคโลนีขึ้นเลย ใทรายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนแบคทีเรีย <100 โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม(โดยประมาณ) หรือ ที่ความเจือจาง 1:10 ไม่มีโคโลนีขึ้นเลย ใทรายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนแบคทีเรีย <10 โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (โดยประมาณ)

1.4 ถ้ามีจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 โคโลนีถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนีไม่มากนักให้นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในความเจือจางสูงสุดคำนวณเณคาเฉลี่ยออกมาและรายงานผลเณคาโดยประมาณแบคทีเรียทั้งหมดถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนีมากเกิน 10 โคโลนีต่อพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตรให้นับจำนวนโคโลนีที่พบในพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร (โดยแบ่งเณของขนาด 1 ตารางเซนติเมตรแล้วนับจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่องนั้นจำนวน 13 ช่อง แบบสุ่ม) รวมจำนวนโคโลนีโดยประมาณ(โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม) ของตัวอย่างนั้นถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนีมากจนไม่สามารถนับได้ใทรายงานว่า “TNTC” (Too Numerous To Count) และต้องเตรียมตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ครั้งต่อไป

