

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ เพื่อให้ให้นักศึกษาได้ฝึกเทคนิคการทดสอบฤทธิ์ของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

บทนำ

สารกันเสีย คือส่วนผสมที่เติมเข้าไปในเนื้อผลิตภัณฑ์เพื่อรักษาตัวผลิตภัณฑ์ให้คงอายุการใช้งานได้นานขึ้นอย่างปลอดภัย เนื่องจากผลิตภัณฑ์ผมมีส่วนประกอบของน้ำ มีระดับค่า pH และอุณหภูมิที่แบคทีเรียชอบ จึงง่ายต่อการเป็นแหล่งเพาะพันธุ์เชื้อโรค และหากเราใช้ผลิตภัณฑ์ที่เสียแล้ว ผิวและหนังศีรษะก็มักจะมีอาการระคายเคืองหรือติดเชื้อได้ สารกันเสียจึงมีความสำคัญสำหรับความปลอดภัยของผู้บริโภค และไม่แนะนำให้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เคลมว่าปราศจากสารกันเสีย เพราะยังไม่ปลอดภัยเท่าที่ควร แม้สารกันเสียจะมีความสำคัญ แต่ไม่ได้หมายความว่าสารกันเสียทุกตัวจะปลอดภัย จึงเป็นที่มาว่าทำไมเราเลือกใช้สารกันเสียจากส่วนผสมธรรมชาติ

สารกันเสียจากส่วนผสมธรรมชาติ

สารกันเสียจากส่วนผสมธรรมชาติ คือ การเลือกสารจากธรรมชาติทำหน้าที่แทนสารกันเสียที่ได้จากสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อทำหน้าที่ยืดอายุของเนื้อผลิตภัณฑ์ให้ยังคงประสิทธิภาพ มีสภาพและกลิ่นที่ดี มีอายุการใช้งานรองรับกับช่วงเวลาที่ต้องผ่านขั้นตอนการขนส่งจากเดนมาร์ก การจัดเก็บในคลังสินค้าและร้านจำหน่ายจนกว่าจะถึงมือผู้บริโภค สารกันเสียจากส่วนผสมธรรมชาติ มี 2 ประเภทได้แก่

1. สารป้องกันเชื้อโรค ทำหน้าที่ป้องกันการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์
2. สารต้านอนุมูลอิสระที่จะป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้ตัวผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนสภาพ โดยจะทำหน้าที่ร่วมกับสารป้องกันเชื้อโรค

จุดเด่นสารกันเสียจากส่วนผสมธรรมชาติ

1. สารกันเสียจากธรรมชาติสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและสปอร์ของแบคทีเรียได้ดี
2. สารกันเสียจากธรรมชาติจะปลอดภัยมากกว่าสารกันบูดที่ผลิตจากสารเคมี โดยจะถูกย่อยไปเป็นกรดอะมิโนโดยเอนไซม์ในกระเพาะคน
3. สารกันเสียจากธรรมชาติมีความทนทานสูง สามารถใช้งานในสภาวะความเป็นกรด และ อุณหภูมิสูงได้
4. สารกันเสียจากธรรมชาติสามารถละลายน้ำได้ดี
5. สารกันเสียจากธรรมชาติไม่มีสีและกลิ่น จึงไม่กระทบต่อสินค้าที่จะนำไปใช้ผลิต
6. สารกันเสียจากธรรมชาติ ปลอดภัย 100% ดีกว่า สารกันบูดที่ผลิตจากสารเคมี เหมาะกับผู้บริโภคที่เน้นแนวสุขภาพ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพรในหองปฏิบัติการ

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ คือ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (micro biostatic) และ/หรือความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (microbicidal) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพร คือ การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่มีอยู่ในสมุนไพร

การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบขึ้นกับปัจจัยที่สำคัญ ต่อไปนี้

1. ลักษณะของงาน เช่น เป็นงานวิจัย งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำ หรือนาน ๆ ครั้ง
ทำงานที่ต้องรู้ค่า MBC งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่นาน ๆ ครั้ง และแต่ละครั้งมีจำนวนเชื้อที่

- ทดสอบน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test (เพื่อตัดปัญหาต้องเตรียมและเก็บสารละลายของตัวยาที่ต้องใช้ใน dilution test) ขณะที่งานที่ต้องการรูค่า MBC ของตัวยาจะนิยมใช้ broth dilution test
2. ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้าหรือเลือกเฟ้นการใช้อาหารมาก (fastidious dilution test) จะนิยมใช้ broth dilution test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือดหรือไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) มักใช้ agar diffusion test หรือเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ควรเลือก dilution test
 3. จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น มีจำนวนเชื้อทดสอบมากและต้องการหาค่า MIC จะนิยมทำ agar dilution test
 4. ชนิดของยาทดสอบ เช่น ตัวยาแพร่กระจาย (diffuse) ใน agar medium ไม่ดีจะนิยมหาค่า MIC ด้วยวิธี dilution test เป็นต้น
 5. จำนวนยาทดสอบ เช่น มีตัวยาจำนวนมากแต่มีเชื้อจำนวนน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test

กิจกรรมนักศึกษา

1. ทำแบบทดสอบก่อนเรียน
2. แบ่งกลุ่ม 3-4 คน
3. ปฏิบัติการทดลอง
4. สรุปรายงานผลการทดลอง
5. ทำแบบฝึกหัด
6. ทำแบบทดสอบหลังเรียน

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar
3. น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
4. สารกันเสียสังเคราะห์ ได้แก่ phenoxyethanol
5. ขมิ้นผงบรรจุแคปซูล
6. ฟ้ายละลายโจรบรรจุแคปซูล
7. ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ
8. Autopipette ขนาด 10 - 100 ไมโครลิตร
9. ทิป Autopipette ขนาด 100 - 200 ไมโครลิตร
10. cock borer
11. ethanol 95% ในขวดฝาปิด
12. ปิเปตแก้วปราศจากเชื้อขนาด 1 มิลลิลิตร
13. ซ้อนตักสาร
14. กระดาษขังสาร
15. ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไฟแช็ค
16. แอลกอฮอล์สำหรับเช็ดโต๊ะ
17. ผ้าเช็ดโต๊ะ
18. ปากกา label

19. เวอร์เนียคาร์ลิเปอร์ (Vernier caliper) หรือไม้บรรทัด
20. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
21. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)
22. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

การทดลองปฏิบัติการ

การเตรียมสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติ

1. ชั่งหรือปิเปตสารกันเสียสังเคราะห์ ปริมาณ 0.01 กรัม หรือ 0.01 มิลลิลิตร ลงผสมในน้ำกลั่นปริมาณ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไป vortex ให้ผสมเข้ากัน
2. ชั่งผงขมิ้น ปริมาณ 0.01 กรัม ลงผสมในน้ำกลั่นปริมาณ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไป vortex ให้ผสมเข้ากัน
3. ชั่งผงฟ้าทะลายโจร ปริมาณ 0.01 กรัม ลงผสมในน้ำกลั่นปริมาณ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไป vortex ให้ผสมเข้ากัน

การทดลองที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

1. เขียนฉลาก ได้แก่ กลุ่ม วันเดือนปี และแบ่งเขตพื้นที่เป็น 4 ส่วน ตามจำนวนตัวอย่างทดสอบ บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ
2. นำเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* มาเกลี่ย (Swab) ให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Cotton swab)
3. นำ cock borer มาจุ่ม 95% ethanol แล้วลั่นไฟ ทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 30-60 วินาที แล้วนำมาเจาะรูบริเวณตรงกลางช่องแบ่งเขต และนำเศษรู้นอก
4. ปิเปตน้ำกลั่น สารละลายสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม
5. นำ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิเปอร์ (Vernier caliper) หรือไม้บรรทัด บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

การอ่านผล

น้ำกลั่น สารละลายสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติจะแพร่ซึมออกไปโดยรอบ ถ้าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ จะเกิด clear zone บริเวณรอบ paper strip หรือหลุมวุ้น ให้วัดความกว้างของ clear zone ด้วยไม้บรรทัด โดยวัดคร่อม paper strip หรือหลุมวุ้น จดบันทึกความกว้าง clear zone

รายงานปฏิบัติการ

เรื่อง การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติ

วันที่ทำการทดลอง.....

ชื่อผู้รายงาน.....รหัส.....

บันทึกผลการทดลอง

1. จงถ่ายภาพงานเพาะเชื้อทดสอบฤทธิ์ของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

2. บันทึกผลการทดสอบฤทธิ์ของสารกันเสียสังเคราะห์และสารกันเสียจากธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

เชื้อแบคทีเรียก่อโรค	ความกว้าง clear zone (mm)			
	น้ำกลั่น	สารกันเสียสังเคราะห์ ชื่อ.....	สารกันเสียธรรมชาติ ชื่อ.....	สารกันเสียธรรมชาติ ชื่อ.....
<i>E. coli</i>				

สรุปผลการทดลอง

.....
.....
.....
.....
.....