

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารสกัดคิเฟอร์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Effect of kefir extract on microorganism inhibition



Miss Patchanee-garn Pisitmate
Mr. Subancha Soman

A Special Project Submitted in Partial of the Requirement for the

Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ เรื่อง ผลของสารสกัดเคีเฟอร์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์
นักศึกษา นางสาวพัชณีการ พิสิฐเมธ
 นายสุบัญญัติ สัมอัน
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.มารีสา จาคูพรพิพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
 ลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. สุขใจ ชูจันทร์	
กรรมการ ผศ.ดร.มารีสา จาคูพรพิพัฒน์	
กรรมการ ดร. จิราภา ทิพย์	

.....
 (ผศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง)
 หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ เรื่อง	ผลของสารสกัดคิเฟอร์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์	
นักศึกษา	นางสาวพัชณีการ	พิสิฐเมธ
	นายสุบุญชา	สัมพันธ์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2550	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์	

บทคัดย่อ

จากการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ และสารสกัดคิเฟอร์จากจุลินทรีย์ธรรมชาติ โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staphyrococcus aureus*, *Staphyrococcus epidermidis* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิว พบว่าความเข้มข้นร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ของสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้สูงที่สุดเท่ากับ 24.11 มิลลิเมตร และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ของสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ พบว่าสามารถทำให้เกิดบริเวณยับยั้งได้สูงที่สุดเท่ากับ 8.11 มิลลิเมตร และเมื่อทดสอบกับเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว พบว่าเกิดบริเวณยับยั้งได้สูงสุด 17.11 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ของสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ และเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและจากจุลินทรีย์ธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทั้งสามชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อกับเตตราซัยคลินส์ที่เป็นชุดควบคุม ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อได้สูงสุด 30.11 มิลลิเมตร

Special Project Title	The Effect of kefir extract on microorganism inhibition	
Name	Miss Patchanekarn	Pisitmate
	Mr. Subancha	Soman
Department	Applied Biology	
Program	Microbiology	
Academic	2007	
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Dr. Marisa Jatupornpipat	

Abstract

The present study was conducted to evaluate the inhibition of microorganisms by kefirans (kefir extracts) from leavening agent and natural microorganisms against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and acne-inducing bacteria using disc diffusion method. The results found that 15 % of concentration of kefiran (kefir extracts) from leavening agent presented the greatest anti-microbial activity against *S. aureus* with inhibition zone of 24.4 mm. For inhibition of *S. epidermidis*, kefiran (kefir extracts) from leavening agent showed the high inhibition (8.11 mm) at concentration of 20%. The 25% of kefiran (kefir extracts) from leavening agent could be inhibited acne-inducing bacteria with inhibition zone of 17.11 mm. Comparative of inhibition against *S. aureus*, *S. epidermidis* and acne-inducing bacteria., showed no significantly different ($p \geq 0.05$). The anti-microbial activity of kefirans (kefir extracts) compared to positive control, tetracycline (inhibition zone of 30.11 mm).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงการพิเศษ เรื่อง ผลของสารสกัดคิเฟอร์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ โครงการนี้จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีได้หากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบคุณ ผศ.ดร. มารีสา จาดพรพิพัฒน์ และดร. จิดภา ทิน้อย ที่เสียสละเวลาให้คำแนะนำต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ และแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในขณะทำการทดลอง ตลอดจนกระทั่งโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ ๆ ปริญญาโทและเพื่อน ๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่าง ๆ ทำให้การทำโครงการพิเศษเป็นไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังใจในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงการพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฉ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	2
2 ทฤษฎีและหลักการ	8
2.1 ความหมายของคีเฟอร์	8
2.2 หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์	9
2.3 การอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในเม็คคีเฟอร์	10
2.4 แบคทีเรียโพรไบโอติก	13
2.5 ยีสต์	19
2.6 กรรมวิธีการผลิตคีเฟอร์	21
2.7 การทำผลิตภัณฑ์คีเฟอร์	21
2.8 ผิวหนัง	22
2.8.1 โครงสร้างผิว	24
2.9 สิว	28
2.9.1 สาเหตุของการเกิดสิว	28
2.9.2 ขั้นตอนของการเกิดสิว	29
2.9.3 ประเภทของสิว	31
2.9.4 สาเหตุของสิิวหัวขาวและสิิวหัวดำ	32
2.9.5 ผลข้างเคียงจากการเกิดสิว	32
2.9.6 การรักษาสิิว	33
2.9.7 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิิว	35
2.9.8 สารยับยั้งทางชีวรูป	39
2.9.9 เตตราซัยคลินส์	41
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสำนักงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1	วัตถุดิบและอุปกรณ์	43
3.1.1	วัตถุดิบ	43
3.1.2	อุปกรณ์	43
3.2	วิธีการทดลอง	44
3.2.1	การเตรียมทีเฟอร์	44
3.2.2	วิธีการสกัดสารสกัดทีเฟอร์ (ทีเฟอร์เรน) จากเมล็ดทีเฟอร์ และผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์	45
3.2.3	การคัดแยกจุลินทรีย์จากผิวของผู้ทดลองเพื่อใช้ในการทดสอบ การยับยั้งโดยสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์	45
3.2.4	ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์และ สารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง	45
3.2.5	ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์และ สารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง	46
4	ผลการวิจัยและวิจารณ์	47
4.1	การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์ สารสกัดทีเฟอร์ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ต่อการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i>	47
4.2	การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ นมทีเฟอร์และสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i>	52
4.3	การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์ และสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ต่อการยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i>	58
4.4	การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์ และสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ต่อการยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i>	63
4.5	การคัดแยกจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิวเพื่อใช้ในการทดสอบ การยับยั้งโดยสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว	70
4.7 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว	75
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	82
เอกสารอ้างอิง	83
ภาคผนวก ก	85
ภาคผนวก ข	89
ภาคผนวก ค	95



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงปริมาณสารประกอบและจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	10
2. สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากเม็คคีเฟอร์	12
3. รูปแสดงยาปฏิชีวนะที่ผลิตโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ	41
4. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยใช้เทคนิค การแพร่ผ่านวุ้น (disc diffusion) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน	47
5. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน	51
6. การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและ สารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่มีค่าความเข้มข้น แตกต่างกัน ณ.วันที่ 3	55
7. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. epidermidis</i> โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน	57
8. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. epidermis</i> โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน	61
9. การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดคีเฟอร์จากธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อ <i>S. epidermidis</i> โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่มีค่าความเข้มข้นแตกต่างกัน ณ.วันที่ 3	65
10. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในระยะเวลา 3 วัน	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
11. การยับยั้งของสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้น ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน	71
12. การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและ สารสกัดคีเฟอร์ จากจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่มีค่าความเข้มข้นแตกต่างกัน ณ.วันที่ 3	75



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. ลักษณะของเมดคิเฟอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว	8
2. ผลิตภัณฑ์นมหมักคิเฟอร์	9
3. การอยู่ร่วมกันแบบอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) ของเชื้อจุลินทรีย์ ในเมดคิเฟอร์ ได้แก่ ยีสต์และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกอาศัยอยู่ร่วมกัน ในร่างแหที่ประกอบด้วยโปรตีนและพอลิแซคคาไรด์	11
4. เชื้อ <i>Bifidobacteria</i> และ เชื้อ <i>Lactobacilli</i> ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ โพรไบโอติก	14
5. ลักษณะของยีสต์ <i>S.cerevisiae</i>	20
6. โครงสร้างผิวหนัง 3 ชั้นใหญ่	24
7. หนังกำพร้า (ผิวชั้นนอก)	26
8. หนังแท้ (ผิวหนังชั้นใน)	27
9. Subcutaneous Tissue ชั้นไขมัน	28
10. การเกิดสิว	31
11. ลักษณะของเชื้อ <i>Propionibacterium Acne</i>	35
12. ลักษณะเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	36
13. ลักษณะของเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i>	38
14. โครงสร้างของเพนนิซิลินที่ได้จากธรรมชาติ	40
15. โครงสร้างเตตราซัยคลินส์	42
16 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์ และสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> เป็นระยะเวลา 3 วัน	48
17 การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	50
18 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์ และสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ <i>S. aureus</i> เป็นระยะเวลา 3 วัน	52
19 การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
20 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ <i>S. epidermidis</i> เป็นระยะเวลา 3 วัน	58
21 การยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i> โดยสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	60
22 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อ <i>S. epidermidis</i> เป็นระยะเวลา 3 วัน	62
23 การยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i> โดยสารสกัดคีเฟอร์จากจุลินทรีย์เชื้อธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ	64
24 แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อที่แยกได้จากผิวของผู้ทดลอง เมื่อทำการย้อมแกรม	66
25 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว เป็นระยะเวลา 3 วัน	68
26 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยสารสกัดคีเฟอร์ จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความ เข้มข้น ต่าง ๆ	70
27 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวเป็นระยะเวลา 3 วัน	72
28 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยสารสกัดคีเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความ เข้มข้น	74

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ผลิตภัณฑ์นมหมัก (Fermented milk product or culture milk product) หมายถึง ผลิตภัณฑ์นมที่มีการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมให้เกิดเป็นกรดแลคติกและสารอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นในกระบวนการ การหมักในปริมาณเล็กน้อย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide) กรดอะซิติก (Acetic acid) อะเซตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และไดอะเซทิล (Diacetyl) เป็นต้น (Tamime and Robinson, 1985)

ผลิตภัณฑ์นมหมักมีต้นกำเนิดที่ไม่แน่ชัดว่าเริ่มต้นเมื่อใด แต่เริ่มแพร่หลายมาจากดินแดนตะวันออกกลาง จนแพร่ร้อนในแถบตะวันออกกลางสมัยโบราณที่มักทำอาชีพเลี้ยงสัตว์ เช่น วัว แพะ และอูฐ ในสมัยนั้นเมื่อรีคนมวัวแล้วไม่มีการทำความเย็น อีกทั้งดินแดนแถบนั้นในฤดูร้อนมีอุณหภูมิสูงที่สุดถึง 40 องศาเซลเซียส ประกอบกับการรีคนมก็รีดด้วยมือ มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งจากอากาศ สัตว์ตัว และจากมือคนรีด จึงทำให้น้ำนมที่รีดออกมาเกิดการบูดเสียได้ง่ายโดยมีรสเปรี้ยวและตกตะกอน ทำให้การขนส่งไปยังเมืองต่าง ๆ หรือแม้แต่การเก็บรักษาเป็นไปไม่ได้เลย ส่งผลให้คนส่วนใหญ่ในแถบนั้นได้บริโภคนมสดไม่บ่อยนัก และชนเผ่าเร่ร่อนจึงต้องบริโภคน้ำนมที่ผลิตทั้งหมดเอง เหตุนี้อาจเป็นต้นกำเนิดของการทำนมให้เกิดรสเปรี้ยว จากนั้นผลิตภัณฑ์นมหมักก็แพร่หลายออกไป (Nakazawa, 1992)

คีเฟอร์ (Kefir) มาจาก kef ภาษาตุรกี หมายถึง รสชาติที่พอใจ ดังนั้น คีเฟอร์ หมายถึง เครื่องดื่มประเภทนมหมักที่มีรสเปรี้ยวและมีแอลกอฮอล์เล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับจุลินทรีย์ที่เรียกว่า เม็ดคีเฟอร์ ซึ่งเม็ดคีเฟอร์เป็นก้อนเชื้อของคีเฟอร์มีสีเหลือง ขาว รูปร่างไม่แน่นอน เป็นเม็ดเล็ก ๆ คล้ายดอกกะหล่ำ (Guzel et al., 1999)

จุลินทรีย์ที่พบในเม็ดคีเฟอร์ได้แก่ แบคทีเรีย *Lactobacillus lactis ssp. Lactis*, *L. lactis ssp. Cremoris*, *L. acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. casei*, *Kruyveromyces marxianus var. marxianus* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า แบคทีเรียส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณผิวรอบ ๆ เม็ดคีเฟอร์ ส่วนยีสต์จะฝังอยู่ในกลุ่มคีเฟอร์แรตรงกลางเม็ดคีเฟอร์ (Vernam and Sutherland, 1994)

คีเฟอร์แรน (kefir) เป็นสารสกัดพวกโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่สามารถละลายน้ำได้ซึ่งได้มาจากการสกัดจากคีเฟอร์ ซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อรา และมีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็ง คีเฟอร์แรน เป็นของเหลวที่ล้อมรอบพวกแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกและยีสต์ (Kamila,2004)

มีผู้ทำการวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบการเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์จากการทดลองพบว่า สารสกัดคีเฟอร์แรน นั้นมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับเชื้ออย่างมาก และยังพบว่าสามารถรักษาบาดแผลที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ไวกว่ายาปฏิชีวนะอีกด้วย (Kamila,2005)

Mee (2007) ได้ทำการศึกษาการต่อต้านเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้ของคีเฟอร์ซึ่งจากการทดลองพบว่าคีเฟอร์นั้นสามารถลดอัตราการเกิดโรคหืดหอบลงได้อย่างมากกว่าการใช้ยารักษา

สิวเป็นโรคผิวหนังที่พบได้บ่อยที่สุด และมักเป็นในช่วงเข้าสู่วัยรุ่นช่วงอายุ 12-18ปี บางคนโชคดีเป็นไม่มาก แต่หลายคนเป็นมากจนมีสิวมืดโบน้ำ ทั้งเม็ดเล็กเม็ดใหญ่แถมรอยแผลเป็นและจุดด่างดำ บางคนอาจเป็นสิวที่หน้าอกและหลังด้วย สิวถึงแม้เป็นเรื่องธรรมชาติโดยเฉพาะช่วงเข้าสู่วัยรุ่น ไม่ใช่ปัญหาสุขภาพที่ก่อผลร้ายแรงถึงชีวิต แต่ก็นับว่ามีผลกระทบต่อสุขรูปจิต และบุคลิกภาพของผู้ที่เป็นสิว ทำให้หลายคนเกิดความไม่มั่นใจในตัวเอง อับอาย และอาจถึงเกิดภาวะซึมเศร้าได้ มีงานวิจัยพบว่า ผู้มีสิวมืดโบน้ำที่ยังเป็นมากและเป็นนาน จะมีความผิดปกติทางจิตใจ (www.healthybuddishop.com)

สิวเกิดจากการที่ฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) ซึ่งพบได้ทั้งหญิงและชาย กระตุ้นให้ต่อมไขมันโตขึ้นและผลิตไขมันมากขึ้น ทำให้เกิดการอุดตันของต่อมไขมัน ไขมันที่อุดตันนี้เรียกว่า คอมมิโดน (comedone) ต่อมไขมันที่มีไขมันคั่งค้างเมื่อมีขนาดใหญ่มากจะดันผิวหนังด้านบนให้มองเห็นเป็นเม็ดเล็กๆเรียกสิหัวขาว หากมีรูเปิดสู่ผิวหนังจะเรียกสิหัวดำ และหากมีติดเชื้อแบคทีเรีย *P.acne* ซึ่งตัวเชื้อจะสลายไขมันไตรกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันอิสระ ซึ่งเป็นตัวการให้เกิดสิวกักเสบซึ่งมีอาการอักเสบเป็นตุ่มนูนแดงหรือเป็นหนอง และมีการ อักเสบตามมา กลายเป็นสิวกักเสบ เมื่อหายอักเสบจะมีรอยดำ หรือแดงอยู่ชั่วคราว บางทีอาจเกิดเป็นแผลบวมลงไปด้วย บริเวณที่เกิดสิวมามากที่สุด คือ โบน้ำ โดยเฉพาะแก้ม และหน้าผาก นอกจากนี้หลังและลำคอก็อาจเกิดสิวได้ (www.healthybuddishop.com)

สาเหตุใหญ่ของการเกิดสิว คือ เกิดการอุดตันของต่อมไขมัน ซึ่งการอุดตันนี้อาจเกิดได้ 2 ทาง คือ

1. จากการกระตุ้นภายในร่างกายเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งฮอร์โมนเพศที่เรียกว่าแอนโดรเจน ซึ่งหลังมากในวัยรุ่นหรือ วัยหนุ่มสาว จะกระตุ้นให้ต่อม - ไขมันโตขึ้นและทำงานมากกว่าปกติ เกิดการขับไขมันผิวหนังมาก ทำให้เกิดอุดตันไขมันที่ ผิวหนังขับออกมามากก็คั่งค้างเกิดเป็นคอมมิโดนขึ้นมา

2. จากการกระตุ้นภายนอกร่างกาย โดยการใช้ยาแก้นแดด ร่องพื้น เครื่องสำอาง ยาบางชนิด น้ำมัน ยาฆ่าแมลงบางชนิด และฝุ่นละออง สามารถ รบกวนการทำงานของต่อมไขมันทำให้เกิดอุดตันเป็นสิวจนขึ้นมาได้

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยร่วมด้วยหลายอย่าง ส่งเสริมให้ต่อมไขมันซึ่งมีการอุดตันอยู่แล้วเกิดอักเสบได้ง่ายขึ้นปัจจัยเหล่านี้ได้แก่

1. เชื้อแบคทีเรีย (*P.acne*)
2. กรรมพันธุ์
3. ฮอร์โมนเปลี่ยนแปลง เช่น การมีรอบเดือน
4. ความเครียดทางอารมณ์และจิตใจ
5. การเสียดสีดูไถ
6. สารเคมี
7. เครื่องสำอาง
8. รังสีและแสงแดด

การอักเสบจะเกิดมากหรือน้อย ขึ้นกับว่าปัจจัยร่วมเหล่านี้มีปริมาณและระยะเวลาที่สัมผัสกับสาเหตุนั้นเป็นตัวร่วมด้วยแค่ไหน

จากสถิติจะพบว่า สิวมักเกิดในวัยรุ่นหรือวัยหนุ่มสาวสูงและลดลงตามวัย เพราะปริมาณฮอร์โมนรวมทั้งต่อมไขมัน ทำงานลดลง แต่ในปัจจุบันพบสิวนในกลุ่มคนวัยเริ่มทำงานมากขึ้นจากภาวะความเครียดและสัมผัสกับสิ่งกระตุ้นการเกิดสิว จากภายนอก ดังกล่าวในข้างต้น

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1.2.1 ศึกษาวิธีการสกัดสารจากคิเฟอร์
- 1.2.2 ศึกษาผลของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (เชื้อผิวหนัง)
- 1.2.3 ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากคิเฟอร์ที่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3. ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดคีเฟอร์ (Kamila,2005). ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดคีเฟอร์ และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (Kamila,2005) กับ เชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* และเชื้อที่ได้จากสิวของผู้ทดลอง เปรียบเทียบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดที่เกิดการยับยั้งกับเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* และเชื้อที่ได้จากสิวของผู้ทดลอง (Kamila,2005)

1.4. ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.4.1) การเตรียมคีเฟอร์

ใช้เชื้อในรูปผงสำเร็จจากบริษัท Wildness Family Naturals Lot. 4110208923 ทำการกระตุ้นหัวเชื้อโดยใช้ นํ้านมยูเอชที รสจืด จากโครงการสวนจิตรดา มาให้ความร้อนโดยการต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้โปรตีนเสียรูป และทำลายของจุลินทรีย์ทั้งหมด (Tamine and Robinson 1999) ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จึงทำการใส่หัวเชื้อ (นํ้านม 950 มิลลิลิตร ต่อ ผงเชื้อ 5 กรัม) จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นชั้นหนาและมีกลิ่นเปรี้ยว นำส่วนที่เป็นก้อนไปปั่นให้เข้ากันนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ขณะที่แช่ตู้เย็นกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ยังมีอยู่แต่น้อยลง) หัวเชื้อคีเฟอร์ที่ได้จะใช้เป็นหัวเชื้อในการทำคีเฟอร์ครั้งต่อไปได้ 7 ครั้ง ในคีเฟอร์ประกอบด้วยแบคทีเรีย และยีสต์ที่ยังมีชีวิต ตามคู่มือการใช้หัวเชื้อคีเฟอร์ผงของบริษัท Wildness Family Naturals

ใช้เมล็ดคีเฟอร์ และทำการกระตุ้นเมล็ดคีเฟอร์โดยใช้ นํ้านมยูเอชที รสจืด จากโครงการสวนจิตรดา จากนั้นจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นแยกเมล็ดคีเฟอร์ ที่เกิดจากการหมักนมได้โดยใช้ตะแกรงกรองและล้างด้วยนํ้าเย็น ที่ถูกฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนที่จะนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงครั้งต่อไป

1.4.2) วิธีการสกัดสารสกัดคีเฟอร์ (คีเฟอร์แรน) จากเม็คคีเฟอร์และจากหัวเชื้อคีเฟอร์

- การสกัดสารสกัดคีเฟอร์ (คีเฟอร์แรน) ที่อยู่ภายในเม็คคีเฟอร์ โดยการนำเม็คคีเฟอร์ ไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำเม็คคีเฟอร์มาใส่ในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ทำการผสมโดยใช้เครื่องเขย่าแบบรักษาอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงทันที และทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 16000 g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาผสมในในเอทานอลเย็นที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนที่เท่ากัน นำมาละลายในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงอีกครั้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Kamila,2004)

- การสกัดสารสกัดคีเฟอร์ (คีเฟอร์แรน) ที่อยู่ภายในเคิร์ดคีเฟอร์ ไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำเคิร์ดคีเฟอร์มาใส่ในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ทำการผสมโดยใช้เครื่องเขย่าแบบรักษาอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงทันที และทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 16000 g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาผสมในในเอทานอลเย็นที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนที่เท่ากัน นำมาละลายในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงอีกครั้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Kamila,2004)

1.4.3) การคัดแยกจุลินทรีย์จากสลิวของผู้ทดลองเพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งโดยสารสกัดคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

คัดเลือกหัวสลิวที่มีลักษณะเป็นสะเก็ด หรือเป็นหัวขาวซึ่งไม่ได้รับอากาศ จากนั้นทำความสะอาดบริเวณรอบ ๆ หัวสลิวด้วยแอลกอฮอล์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับเชื้อที่ผิวหนัง ใช้เข็มที่ฆ่าเชื้อแล้วทำการแกะสะเก็ดออกโดยใส่ลงไปใต้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อทำการเจือจางโดยการทดสอบนี้จะทำถึงที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} จากนั้นทำการปิเปตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้วิธีการสเปรตเพลท (spread plate) (Vernam, 1994) จากนั้นทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ในลักษณะของโคโลนี เมื่อครบกำหนดแล้วทำการแยกเอาโคโลนีเดี่ยว ๆ มาคัดแยก (streak) ลงในอาหารปิเปตไออะคาร์ (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) อีกครั้งเพื่อให้เชื้อที่ได้บริสุทธิ์ นำไปบ่มเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ มาลงในอาหารเยิงเอ็นเอ (NA) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) เพื่อใช้ทำการทดสอบต่อไป

1.4.4) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง

เตรียมสารสกัดคีเฟอร์ตามวิธีที่ 1.4.2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (Kamila,2005) นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยวิธีการแพร่ผ่านวุ้น (disk diffusion method) เตรียมอาหารบีสเฮไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง เตรียมอาหารบีสเฮบี อะการ์ (TSB agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง และเตรียมอาหารบีสเฮไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากสิวของผู้ทดลอง ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยวิธีสเปกโทรฟลททิงไว้ให้แห่งจากนั้นนำสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ใช้ในการทดลองมาปิเปตลงในกระดาษเปเปอร์ดิส (paper disk) โดยที่กระดาษ 1 แผ่นต่อความเข้มข้นหนึ่งระดับ แล้วนำมาวางในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจผลโดยการวัดการเกิดอินฮิบิชั่น โซน (inhibition zone) หรือ ดูการเกิดเคลียร์ โซน เปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก และกระดาษเปเปอร์ดิสที่ไม่มีสารซึ่งให้ผลเป็นลบ ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ กันต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง (Kamila,2005)

1.4.5) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง

เตรียมสารสกัดคีเฟอร์ตามวิธีที่ 1.4.2 ที่ระดับความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 และ 20 (Kamila,2005) นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยวิธีดิสดิฟฟิเคชันการแพร่ผ่านวุ้น เตรียมอาหารบีสเฮไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง เตรียมอาหารบีสเฮบี อะการ์ (TSB agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง และเตรียมอาหารบีสเฮไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากสิวของผู้ทดลอง ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยวิธีสเปกโทรฟลททิงไว้ให้แห่งจากนั้นนำสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ใช้ในการทดลองมาปิเปตลงในกระดาษเปเปอร์ดิส (paper disk) โดยที่กระดาษ 1 แผ่นต่อความเข้มข้นหนึ่งระดับ แล้วนำมาวางในอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการตรวจผลโดยการวัดการเกิดอินฮิบิชั่น โซน (inhibition zone) หรือ ดูการเกิดเคลียร์โซน เปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก และกระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารซึ่งให้ผลเป็นลบ ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ กันต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง (Kamila,2005)

1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้กรรมวิธีและปริมาณสารคีเฟอร์เรน ที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิตครีมทาผิวจากผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์



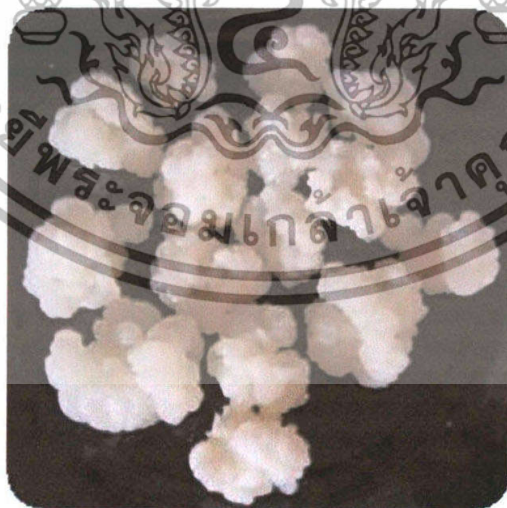
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ความหมายของคีเฟอร์

คีเฟอร์ (Kefir) คือ นมเปรี้ยวพื้นบ้านของรัสเซีย มีแหล่งผลิตเริ่มแรกแถบเทือกเขาคอเคซัส ปัจจุบันมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในประเทศรัสเซีย ยุโรปและอเมริกา ผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดนี้ต่างจากชนิดอื่นตรงที่นอกจากจะมีรสเปรี้ยวเนื่องจากมีกรดแลคติก (Lactic acid) เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 0.8 แล้วยังมีกลิ่นเหล้าอ่อนๆด้วยเนื่องจากมีเอทิลแอลกอฮอล์ (Alylcohol) เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 0.8 ถึง 1.0 (นภา,2534) โดยคีเฟอร์จะมีลักษณะคล้ายกับโยเกิร์ตแต่จะใช้หัวเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก หรือแบคทีเรียโพรไบโอติกและยีสต์ซึ่งอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพา (Symbiosis) ทำให้เกิดลักษณะเป็นก้อนเหนียวยืดหยุ่นมีสีครีมคล้ายดอกกะหล่ำ เรียกว่าคีเฟอร์เกรนหรือเม็คคีเฟอร์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 ถึง 20 มิลลิเมตร มีรูปร่างไม่แน่นอน แสดงคั้งรูปที่ 1 จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในจะมีกิจกรรมทางเอนไซม์ในการหมักย่อยโปรตีนและน้ำตาลในนมให้เป็นกรดหลายชนิด และยีสต์จะช่วยหมักย่อยน้ำตาลในนมให้เป็นแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 0.08 ถึง 2 เมื่อมีการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง) และสารให้กลิ่น (acetaldehyde) ทำให้คีเฟอร์มีกลิ่นเฉพาะตัวซึ่งมีกลิ่นคล้ายการหมักที่เกิดจากยีสต์ที่ต่างจากโยเกิร์ตทั่วไป เม็คคีเฟอร์จะไม่ละลายในน้ำและตัวทำละลายส่วนใหญ่เมื่อแช่เม็คคีเฟอร์ในน้ำนมจะคูดัมนม แล้วพองตัวออกจากรุ่นกลายเป็นสีขาว (www.vcharkam.com)

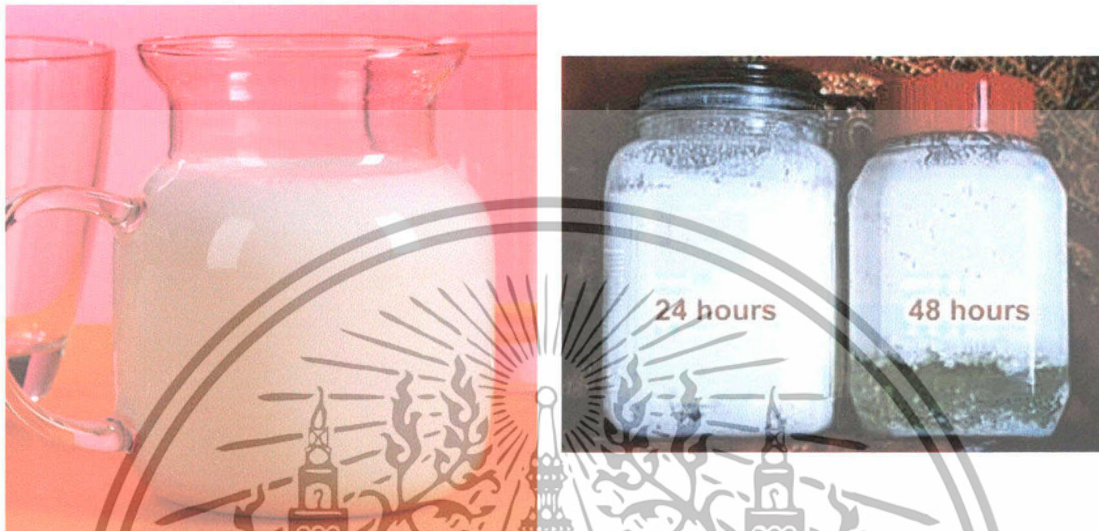


รูปที่ 1 : รูปแสดงลักษณะของเม็คคีเฟอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

ที่มา : <http://www.raw-milk-facts.com/images/KefirPic.jpg>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คีเฟอร์ที่ผลิตได้จะมีลักษณะขุ่น มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นแอลกอฮอล์อ่อน ๆ แสดงดังรูปที่ 2 โดยสามารถรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น คือ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 14 วัน ในระหว่างการเก็บรักษานี้ ปริมาณสารประกอบต่าง ๆ ในคีเฟอร์จะมีการลดปริมาณลงด้วย (Macrae และคณะ, 1993)



รูปที่ 2 : ผลผลิตกึ่งนมหมักคีเฟอร์

ที่มา: <http://images.google.co.th/images?q=kefir+&gbv=2&ndsp=18&svnum=10&hl=th&start=126&sa=N>

2.2 หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์

จุลินทรีย์ที่อยู่ในเมคคีเฟอร์ประกอบด้วยยีสต์ (yeast) และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก การศึกษายีสต์ที่แยกจากเมคคีเฟอร์ซึ่งมีรายงานไว้ต่าง ๆ กัน La Riviere และคณะ (1967) พบ *Torulopsis holmii* และ *Saccharomyces delbueckii* นั้นมีอัตราส่วน 10 ต่อ 1 ยีสต์ทั้งสองชนิดนี้มีประมาณ 1.4 ถึง 3.3×10^8 เซลล์ต่อกรัมของเมคคีเฟอร์ Iwasawa และคณะ (1982) พบว่า *Streptococcus exiguus* เป็นจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในเมคคีเฟอร์ นอกจากนั้นยังมีรายงานการพบ *C. (Torula) kefir* และ *C. pseudotropicalis* ในเมคคีเฟอร์จากแหล่งอื่น ๆ สำหรับแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกส่วนใหญ่นั้นได้แก่ *Lactobacillus* spp. โดยพบ *Leuconostoc* spp. และ *Streptococcus* spp. ประมาณร้อยละ 1 และ 0.1 ตามลำดับ มีรายงานการศึกษาแรก ๆ ว่าแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกที่หมักได้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ *Lactobacillus brevis* ATCC 8007 เป็นแลคโตบาซิลลัสที่พบมาก และมีบทบาทสำคัญในการสร้างเมือกของคีเฟอร์เรน อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาต่อมาอีกหลายรายงานที่พบว่า *Lactobacillus* ที่อยู่มากในเมคคีเฟอร์เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกชนิดที่พบเฉพาะในเมคคีเฟอร์ชนิดนี้และตั้งชื่อว่า *Lactobacillus kefir*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวอนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารประกอบและจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ลักษณะ	ระยะเวลาในการเก็บรักษา	
	24 ชั่วโมง	มากกว่า 7 วัน
ความเป็นกรดต่าง	4.5	4.45
ปริมาณกรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	8.18	8.37
ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	0.25	0.25
ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	1.05	1.05
ปริมาณแบคทีเรียคอคโคไล (โคโลนีต่อกรัม)	20.3×10^{11}	19×10^{11}
ปริมาณแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัส (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)	11×10^8	10.5×10^8
ปริมาณยีสต์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)	5×10^5	4.9×10^5
ความหนืด (cst)	1.070	1.075

ที่มา : Macrae และคณะ (1993)

คีเฟอร์แรน (Kefiran) เป็นสารสกัดพวกพอลิแซ็กคาไรด์ ที่สามารถละลายน้ำได้ซึ่งได้มาจากการสกัดคีเฟอร์ ซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อรา และมีฤทธิ์ต่อต้านมะเร็ง คีเฟอร์แรนเป็นของเหลวที่ล้อมรอบพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ (Kamila,2004)

2.3 การอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในเมดคีเฟอร์ (<http://www.nsruc.ac.th/>)

รูปแบบการอาศัยแบบคีเฟอร์ นี้เรียกว่า โพรไบโอติก (probiotic) คำว่า โพรไบโอติก ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ.2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิดในปี พ.ศ.2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก คือสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ คำจำกัดความล่าสุด ซึ่งเสนอ

โดย Fuller ในปี พ.ศ.2530 อธิบายคำว่า โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในเม็คคิเฟอร์มีความสมดุลโดยธรรมชาติ ถึงแม้ว่าการหมักคิเฟอร์จะมีได้ใช้เทคนิคการทำให้ปลอดเชื้อ ก็จะไม่พบการปนเปื้อนของเชื้ออื่น จุลินทรีย์เหล่านี้อาศัยซึ่งกันและกัน เนื่องจากยีสต์ที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในน้ำนมได้ จึงต้องอาศัยสารอาหารที่สังเคราะห์โดยแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ในขณะที่แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกต้องพึ่งสารเพิ่มการเจริญ (Growth factor) ที่สลายจากเซลล์ยีสต์ที่ตาย โดยมีหลักฐานการทดลองสนับสนุนในเรื่องนี้ กล่าวคือพบว่าแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกที่แยกจากเม็คคิเฟอร์จะเจริญได้ดีในน้ำนมก็ต่อเมื่อเติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน สามารถแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกที่อยู่ใกล้กับยีสต์มีรูปร่างทั้งรูปแท่งสั้น และแท่งยาว ซึ่งส่วนใหญ่จะตายและผนังเซลล์ย่อยสลายแล้ว โดยที่แบคทีเรียรูปร่างแท่งยาวนี้จะฝังตัวอยู่ในส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรต

เมื่อสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงลักษณะของกลิ่นเชื้อผสมชนิดนี้ พบว่าก่อนที่จะมีลักษณะเป็นก้อนเหมือนดอกกะหล่ำ เชื้อจะอยู่ร่วมกัน แสดงดังรูปที่ 3 ในลักษณะเป็นแผ่นซึ่งมีด้านหนึ่งเรียบและด้านหนึ่งขรุขระ เมื่อเลี้ยงในน้ำนมมานานขึ้น แผ่นเชื้อมันจะม้วนตัวไปเรื่อยจนเป็นก้อน



รูปที่ 3 : การอยู่ร่วมกันแบบอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) ของเชื้อจุลินทรีย์ในเม็คคิเฟอร์ ได้แก่ ยีสต์และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกอาศัยอยู่ร่วมกันในร่างแหที่ประกอบด้วยโปรตีนและพอลิแซคคาไรด์ (Teknotext, 1995)

ที่มา : www.foodsciencecentral.com/recordimages/1/3/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากเม็คคีเฟอร์

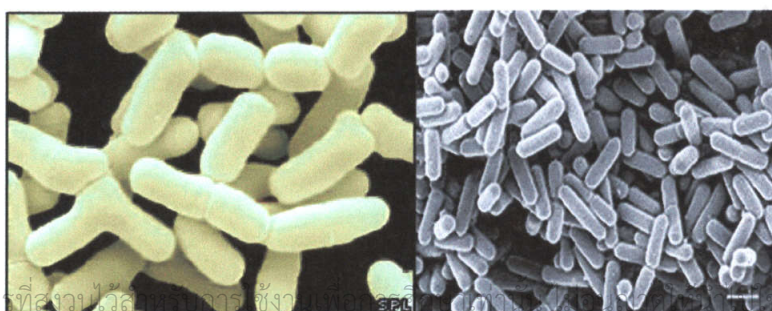
Lactobacilli	Streptococci/Lactococci	Yeasts
- <i>L.acidophilus</i>	- <i>Lactococci lactis subsp. Lactis</i>	- <i>Candida kefir</i>
- <i>L.brevis</i>	- <i>L.lactis var.diacetylactis</i>	- <i>C.pseudotropicalis</i>
- <i>L.casei</i>	- <i>L.lactis subsp.cremoris</i>	- <i>C.rancens</i>
- <i>L.casei subsp.</i> <i>Pseudoplanctarum</i>	- <i>Streptococci salivarius</i> <i>subsp.thermophilus</i>	- <i>C.tenuis</i>
- <i>L.paracasei subsp.</i> <i>Paracasei</i>	- <i>S.lacti</i> - <i>Enterococcus durans</i>	- <i>K.marxianus</i> <i>var.marxianus</i>
- <i>L.cellobiosus</i>	- <i>Leuconostoc cremoris</i>	- <i>K.bulgaricus</i>
- <i>L.delbrueckii subsp.</i> <i>Bulgaricus</i>	- <i>L.Mesenteroides</i>	- <i>Saccharomyces sp.</i>
- <i>L.delbrueckii subsp.lactis</i>		- <i>Torulopsis holmii</i>
- <i>L.fructivorans</i>		- <i>Saccharomyces lactis</i>
- <i>L.helveticus subsp.lactis</i>		- <i>Sacc.carlsbergensis</i>
- <i>L.hilgardii</i>		- <i>Sacc.unisporus</i>
- <i>L.kefiri</i>		- <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i>
- <i>L.kefiranoferiens</i>		-
- <i>L.kefirgranum sp.</i>		<i>Zygosaccharomycesrou</i>
- <i>L.parakefir sp.</i>		<i>xii</i>
- <i>L.lactis</i>		
- <i>L.plantarum</i>		
Units Count of Microbes in Gram Stained Kefir Grains	The Means Range	
Bacilli [single cells,pair, chains]	Bacilli 66,62-69 ร้อยละ	
Streptococci [pair,chains]	Streptococi 16,11-12 ร้อยละ	
Yeast[single cels]	Yeast 18,16-20	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 แบคทีเรียโพรไบโอติก (<http://www.bangkokbiznews.com>)

โพรไบโอติก หมายถึง กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งพบได้ในบริเวณลำไส้ที่เรียกว่าแกสโตรอินเทสทิแนล (Gastrointestinal (GI) Tract) และยังรวมถึงจุลินทรีย์ที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในอาหารในรูปแบบที่มีชีวิต อาหารประเภทโพรไบโอติกโดยทั่วไปมีส่วนผสมของจุลินทรีย์หนึ่งชนิดหรือมากกว่าก็ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ต้องได้รับการศึกษาและตรวจสอบอย่างแน่ชัดแล้วว่าไม่มีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค ส่วนเกณฑ์สำหรับการเลือกเบื้องต้นก็จะต้องเป็นสายพันธุ์ที่มาจากมนุษย์ เคยอยู่ในลำไส้มนุษย์มาก่อนและสามารถจะปรับตัวอยู่ในลำไส้และยังคงมีชีวิตเมื่อถูกกรดในกระเพาะทนต่อความเป็นด่างของน้ำดีที่ทนต่อน้ำย่อยและภูมิคุ้มกันเฉพาะที่และไม่ถูกกระทบจากอาหารและปฏิสัมพันธ์จากแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นจนสามารถลงไปที่เกาะยึดกับผิวเยื่อลำไส้และแบ่งตัวเติบโตทำหน้าที่ได้ เมื่อนำมาผสมอาหารและเก็บรักษาก็ยังมีชีวิตอยู่ได้ระยะหนึ่ง

จุลินทรีย์ที่เป็นโพรไบโอติกส่วนใหญ่ได้แก่ แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ เช่น พวกแบคทีเรียเดส (*Bacteroides*), ไบฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacteria*), คลอสทริเดียม (*Clostridia*) และที่มากที่สุด ก็คือแลคโตแบซิล (*Lactobacilli*) เป็นต้น เมื่อมนุษย์บริโภคเข้าไปแล้วจะเป็นตัวช่วยควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ร่างกายไม่ต้องการให้อยู่ในปริมาณที่ไม่ก่อให้เกิดโรค หรือก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ให้แก่ร่างกายได้ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่ได้รับการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของโพรไบโอติก เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดต่างๆ แบคทีเรียที่เป็นโพรไบโอติกมีคุณสมบัติปกป้องร่างกายไม่ให้ได้รับอันตรายจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และยังสามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยสารอาหารบางประเภทที่ระบบการย่อยในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ให้เป็นสารที่มีประโยชน์และร่างกายดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่สู่สาธารณะโดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้เกี่ยวข้อง ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 : เชื้อ *Bifidobacteria* และ เชื้อ *Lactobacilli* ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ โพรไบโอติก

ที่มา http://newsimg.bbc.co.uk/media/images/41974000/jpg/_41974478_bifidobacterium_203b.jpg

<http://www.wema.com/img2000/Lactobacilli.bmp>

โพรไบโอติก ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด

ความหมายของโพรไบโอติกในปัจจุบัน คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

คำว่าจุลินทรีย์ (microorganism) หมายถึง สิ่งที่มีชีวิตซึ่งส่วนใหญ่มีขนาดเล็กมากจนมองด้วยตาเปล่าไม่เห็นที่อาจมีโทษหรือมีประโยชน์ต่อเราก็ได้แบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

1. ไวรัสเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่สุด ได้แก่ เชื้อเอดส์ ไข้หวัด และริบ เป็นต้น
2. ราหรือยีสต์ ได้แก่ โรคผิวหนังที่ขึ้นตามที่อับชื้น มักทำให้มีอาการคัน
3. พาราไซต์ ได้แก่ เชื้อ ไข้มาลาเรีย
4. แบคทีเรีย น่าจะเป็นคำที่รู้จักแพร่หลายมากที่สุดในบรรดาจุลินทรีย์ที่กล่าวมาแล้ว และคนมักนึกถึงแต่เชื้อ โรคอย่างเดียว ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้แก่ เชื้อวัณโรค เชื้อที่ทำให้เจ็บคอ หรือเชื้อที่ทำให้เราท้องเสีย จากอาหารเป็นพิษ เป็นต้น แต่ยังมีแบคทีเรียที่ดีมีประโยชน์ต่อร่างกายเราได้แก่ แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ได้ ซึ่งอาจเรียกว่า แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก หรือ

โพรไบโอติกนั่นเอง ได้แก่ *Enterococcus faecalis* , *L.acidophilus* , *S.thermophilus*, *B.bifidum*

แบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ตั้งแต่แรกเกิด ทำหน้าที่ช่วยย่อยอาหารและผลิตสารอาหารที่ดีมีประโยชน์ได้แก่ กรดอะมิโน กรดแลคติก พลังงาน วิตามินเค วิตามินบี และสารปฏิชีวนะธรรมชาติหลายชนิด ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย

เมธนิคอฟ (Methnicof) และนักวิจัยจำนวนมาก ได้ศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก พบว่าแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกช่วยรักษาโรคได้หลายชนิดได้แก่

1. ออสทีโอโพโรซิส (Osteoporosis) หรือโรคกระดูกผุ

อาการของโรคนี้คือ การผุกร่อนของกระดูก ทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพหรือถึงตายได้ มักพบในสตรีวัยหมดประจำเดือน บางคนเกิดอาการปวดรุนแรงตามเนื้อตัว บางคนตัวจะหดสั้นลงหรือหลังโก่ง สาเหตุหลักมาจากการที่ปริมาณ แคลเซียม ในกระดูกลดลง เพราะอาหารที่รับประทาน ในแต่ละวันมีแคลเซียมน้อย หรือเกิดจากความเครียดเนื่องจากวัยที่มากขึ้น และสุขภาพที่เสื่อมถอย ทำ

ให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมได้น้อยลง ปัญหาเหล่านี้แก้ไขได้ด้วยการดื่มนม บางคนมีอาการแพ้เอ็กสารนี้เป็นเอ็กสารที่สว่นไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอ็กสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมัน คือ ไม่สามารถคัมนมสดได้ เนื่องจากขาดเอนไซม์แลคเตส แต่หากนำน้ำมันไปผ่านกระบวนการหมักโดยใช้แลคโตบาซิลลัสจะสามารถรับประทานได้โดยไม่มีปัญหาผลิตภัณฑ์นมหมักนี้มีแลคซีมในปริมาณมากเท่า ๆ กับนมสด ทำให้ลดปัญหาการขาดแลคซีมและการไม่ดูดซึมแลคซีมได้แบบที่เรายังช่วยให้ร่างกายดูดซึมแลคซีมได้มากขึ้น ทำให้มีการทดแทนแลคซีมในกระดูที่ลดลง

2. คอเลสเตอรอล (Cholesterol)

บทบาทของคอเลสเตอรอลในเลือดเป็นสิ่งที่เกี่ยวข้องกันมานานว่ามีประโยชน์หรือมีโทษแต่หากมีระดับคอเลสเตอรอลสูงเกินไป จะมีความเสี่ยงต่อเส้นเลือดหัวใจอุดตันมากขึ้น แม้จะสรุปไม่ได้ว่าสาเหตุของโรคนี้ คือ คอเลสเตอรอล แต่คนที่มีความคอเลสเตอรอลสูงมักได้รับคำแนะนำให้พยายามลดระดับลง โดยมีงานวิจัยส่วนหนึ่งยืนยันว่า การใช้แบคทีเรีย *Lactobacillus* spp. จะช่วยได้ ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิจัยกับมนุษย์และสัตว์ทดลองอีกชนิดหนึ่ง คือ หมู

ในปี พ.ศ. 2517 มีการวิจัยเกี่ยวกับ “ชนเผ่ามาซาซาย” ในแอฟริกา เพื่อศึกษาผลของสารอิมัลซิฟาย (emulsifier) ที่เติมลงในน้ำมันต่อระดับคอเลสเตอรอล ผลการวิจัยแสดงว่าสารอิมัลซิฟายไม่ช่วยในการลดระดับคอเลสเตอรอล แต่น้ำมันที่ผ่านการหมักโดย *Lactobacillus* spp. สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลได้ ไม่ว่าจะเติมสารอิมัลซิฟายหรือไม่ก็ตาม ในการวิจัยใช้ชายหนุ่มนักรบเผ่ามาซาซายจำนวน 24 คน ให้รับประทานเนื้ออย่างเดียวนาน 2 วัน หลังจากนั้นให้รับประทานเฉพาะน้ำมันที่ผ่านการหมักวันละ 8 ลิตรติดต่อกัน 3 อาทิตย์พบว่าระดับคอเลสเตอรอล ในเลือดลดลง 19.28 มิลลิกรัมต่อเลือด 100 กรัม (ในช่วงการทดลองนี้ผู้ที่มิมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจะมีระดับคอเลสเตอรอลลดลง)

ในปี พ.ศ. 2522 นักวิจัยโดยใช้กลุ่มอาสาสมัคร พบว่าเมื่อก่อนรับประทานนมสดหรือไม่ได้รับประทานผลิตภัณฑ์นมหมัก คอเลสเตอรอลจะไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมื่อรับประทานโยเกิร์ตติดต่อกัน 1 สัปดาห์ ระดับคอเลสเตอรอลจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด

ในปี พ.ศ. 2527 นักวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยโอกลาโฮมาสเตท (Oglahomastate University) นำคอเลสเตอรอลบริสุทธิ์มาป้อนให้หมูรับประทานในจำนวน 1000 มิลลิกรัมต่อวัน ครั้งหนึ่งของหมูที่นำมาทดลองได้รับประทานในทั้งคอเลสเตอรอลและนมหมักจาก *L.acidophilus* ผลการวิจัยพบว่าหมูทั้งหมดมีระดับคอเลสเตอรอลสูงขึ้นแต่หมูที่รับประทานนมหมัก คือ เพิ่มขึ้นเพียง 9 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร แทนที่จะเป็น 18 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร งานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งของสถานียทดลองเกษตรในรัฐเนบราสก้า พบว่าเมื่อนำหมูมาป้อนนมที่ผ่านการหมักโดยอะซิโดฟิลัสเป็นเวลา 30 วัน มีคอเลสเตอรอลลดลงร้อยละ 23

นักวิจัยทำการทดลองกับชาวมาซาซายกล่าวว่า ในนมหมักมีสารไฮดรอกซีเมทิลกลูตาเรทช่วยยับยั้งเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์คอเลสเตอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ให้โทษ

การหมักน้ำนมด้วย *Lactobacillus spp.* ทำให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid) กรดเบนโซอิก (benzoic acid) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ซึ่งทุกตัวมีฤทธิ์จะฆ่าจุลินทรีย์นมที่หมักด้วย *L.acidophilus* จะมีสารปฏิชีวนะ 3 ชนิดคือ อะซิโดลิน (Acidoline) อะซิโดฟิลิน (Acidophilin) และแลคโตซิดิน (Lactosidin) นมที่หมักด้วย *L.bulgalicus* จะผลิตสารปฏิชีวนะ 1 ชนิด คือ บุลแกริแคน (Bulgalican)

อะซิโดฟิลิน และบูลแกริแคน สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้ป่วยเนื่องจากอาหารเป็นพิษ คือ *Clostridium botulinum, Staphylococcus aureus* เช่นกัน นอกจากนี้ เด็กที่รับประทานนมแม่จะมี *Bifidobacteria spp.* สามารถฆ่าเชื้อเหล่านี้ได้เช่นกัน นอกจากนี้เด็กที่รับประทานนมแม่จะมี *Bifidobacteria spp.* มากและมีภูมิคุ้มกันต่ออาการผื่นแดงทางผิวหนังที่มักจะพบในเด็กที่ไม่ได้รับประทานนมแม่

Lactobacillus spp. จะผลิตกรดแลคติกซึ่งช่วยทำลายเชื้อโรค ส่วน *Bifidobacteria bifidum* นั้นจะผลิตกรดอะซิติกซึ่งฆ่าเชื้อโรคได้เช่นกัน

สารปฏิชีวนะของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกจะเลือกทำลายเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรคเท่านั้น ไม่เหมือนยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไป ซึ่งทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดทั้งที่มีประโยชน์และก่อเกิดโรค

4. การแพ้น้ำนม

ในน้ำนมมีน้ำตาลแลคโตส ซึ่งในผู้ใหญ่ทั่วไปหรือบางคนจะไม่สามารถย่อยน้ำตาลนี้ได้ เพราะขาดเอนไซม์ที่จำเป็น ทำให้เกิดอาการท้องร่วงรุนแรงเมื่อรับประทานนม จากการสำรวจพบว่าประชากรในยุโรปเหนือร้อยละ 2 ถึง 8 มีอาการนี้ ส่วนประชากรในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแอฟริกามีอาการนี้ถึงร้อยละ 60

คนที่มีอาการแพ้น้ำนมจะขาดเอนไซม์แลคเตส (lactase) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส โดยแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกจะผลิตเอนไซม์แลคเตสชื่อเบตา - กาแลคโตซิเดส (beta - galactosidase) ทำหน้าที่ย่อยสลายแลคโตสให้เป็นกลูโคสกับกาแลคโตส จากนั้นกลูโคสจะถูกนำมาใช้ผลิตกรดแลคติกนอกจากนี้ แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกยังช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแลคเตสขึ้นมาเอง

การรับประทานน้ำนมที่ผ่านการหมักด้วยแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกช่วยให้คนที่มีอาการแพ้น้ำนมได้รับสารแคลเซียมและสารอาหารอื่น ๆ ทำให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นที่นิยมในประเทศที่คนส่วนใหญ่มีอาการแพ้น้ำนม

5. การขาดสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกซึ่งช่วยแก้ปัญหาการแพ้น้ำนม ทำให้คนบางกลุ่มได้รับสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายโดยไม่ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วย นอกจากนี้แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกยังช่วยแก้ปัญหาการขาดสารอาหารในลักษณะอื่นได้อีก

การหมักโดย *Lactobacillus* spp. ทำให้เกิดการสังเคราะห์วิตามินบีคอมเพล็กซ์ (Vitamin B complex) ซึ่งถ้าอยู่ในอาหารชนิดอื่นจะถูกทำลายขณะทำให้อาหารสุกใน โยเกิร์ตจะพบกรดโฟลิก (Pholic acid) ไนอาซิน (Niacin) หรือวิตามินบี 3 และไรโบเฟลวิน (Riboflavin) ในนมมักจะพบวิตามินบี 12 วิตามินบี 6 และ กรดแพนโทเทนิค (Pentotyinc acid)

ในน้ำนมมีปริมาณกรดโฟลิก และไนอาซินเป็น 0.13 ถึง 0.73 และ 71 ถึง 96 ไมโครกรัมต่อน้ำนม 100 กรัม ตามลำดับ แต่ในโยเกิร์ตปริมาณ สารดังกล่าวจะสูงขึ้นเป็น 3.9 และ 130 ถึง 141 ไมโครกรัมต่อโยเกิร์ต 100 กรัม ตามลำดับ

แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกนอกจากจะช่วยเพิ่มสารอาหารในผลิตภัณฑ์นมหมักแล้วยังช่วยรักษาปริมาณสารอาหารที่มีอยู่แล้วไม่ให้ลดลง ในตะวันออกกลางมักใช้ถั่วเหลืองเป็นอาหารหลัก แต่มีปัจจัยบางอย่างเช่น สารยับยั้งไฟเทท (Phytate) และ ทริปซิน (trypsin) ทำให้ย่อยยากและร่างกายไม่สามารถนำไปโปรตีนจากพืชเหล่านี้ไปใช้งานได้ เมื่อนำถั่วเหลืองมาหมักให้เป็นชีอัว เต้าหู้ เทมเป้ และมิโซ จะช่วยทำลายปัจจัยดังกล่าวหรือยับยั้งไม่ให้ทำงานได้

อาหารชนิดอื่น ที่ผ่านการหมักด้วยแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกได้แก่ กะหล่ำปลีดอง (เชื่อกันว่าเป็นอาหารหลักของกองทัพเจกิตซ่าน เมื่อครั้งบุกทำสงครามในยุโรป) แดงกวาดอง ขนมหังไธร์ และขนมหัง (Sourdough) ซึ่งอาหารเหล่านี้ยังไม่มีผู้ศึกษาคุณสมบัติโยชน์ แต่ก็คาดว่าน่าจะพบสารที่มีประโยชน์เช่นเดียวกัน

6. การลดความชื้นเส้ร่า

มีหลักฐานหลายประการที่บ่งชี้ว่า *Lactobacillus* sp. มีบทบาทสำคัญในการช่วยลดความวิตกกังวลและความชื้นเส้ร่า ทั้งนี้เนื่องจากหลังจากการหมัก *Lactobacillus* sp. จะผลิตกรดอะมิโนหลายชนิด หนึ่งในจำนวนนั้น คือ ทริปโตเฟน ซึ่งมีฤทธิ์ลดความชื้นเส้ร่า ดังนั้นผลิตภัณฑ์นมหมักน่าจะช่วยลดความชื้นเส้ร่าได้ ผลสรุปนี้เป็นจริงหรือไม่สามารถพิสูจน์ได้แน่ชัด

7. มะเร็ง

การใช้แบคทีเรียเพื่อต้านมะเร็งมีมานานก่อนที่เมทริกคอฟจะค้นพบข้อเท็จจริงเกี่ยวกับ *Lactobacillus* sp. แต่ว่าแบคทีเรียที่เคยใช้เป็นแบคทีเรียชนิดอื่น ใน พ.ศ. 2524 ดร. วิลเลียม โคลีย์ รายงานไว้ในวารสารศัลยแพทย์ถึงความสำเร็จในการใช้สารพิษจาก *Streptococcus* sp. ในการรักษาโรคมะเร็งเขาได้ความคิดนี้มาจากรายงานเก่า ๆ ทางการแพทย์ที่บ่งชี้ว่าคนไข้โรคมะเร็งหลายคนที

หายจากโรค เพราะเกิดอาการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ต่อมาอีก 50 ปีมีการวิจัยจำนวนมากที่สนับสนุนผลการทดลองของโคลีย์

ปัจจุบันการแพทย์และการสาธารณสุขเจริญขึ้น คนมีโอกาสดูแลสุขภาพที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียชนิดรุนแรงน้อยลง และในขณะเดียวกันเปอร์เซ็นต์คนที่เป็นมะเร็งก็เพิ่มขึ้นเมื่อร่างกายได้รับเชื้อแบคทีเรียจะกระตุ้นให้มีการสร้าง ที-ลิมโฟไซท์ (T-lymphocyte) และอินเตอร์เฟอรอล (Interferon) ที่เป็นส่วนสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง

8. แก้วสว ฝ้า

การรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มี *L.acidophilus* ช่วยลดการเกิดสิวและอาการบวมแดงและช่วยให้ผิวพรรณผ่องใสขึ้น และยังสามารถใช้ *L.acidophilus* ผสมกับหางนม ทำเป็นครีมลอกหน้าได้

9. การกำจัดสารพิษจากตับ

ความเครียดจากสภาวะแวดล้อมภายนอกและความผิดปกติภายในร่างกาย มลพิษในอากาศ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และใช้สารเสพติดล้วนส่งผลกระทบต่อตับและอาจทำให้ไม่สามารถกำจัดสารพิษออกจากเลือดได้ดีเท่าที่ควร ใน พ.ศ. 2511 นักวิจัยให้คนไข้โรคตับ 20 คน รับประทานแบคทีเรีย *Bifidobacteria* sp. และพบว่าแอมโมเนียในเลือดลดลง ฟีนอลในซีรัม และอะมิโนไนโตรเจนซึ่งเป็นสารพิษลดลงด้วย

10. ระบบย่อยอาหารผิดปกติ

ดังที่กล่าวไว้ในตอนที่เกี่ยวกับความสามารถในการทำลายเชื้อโรคแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ มักจะถูกยับยั้งโดยสารเคมีที่ผลิตจากแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก เช่น *L.acidophilus*, *L.bulgaricus* และจากปัจจัยจาก *Bifidobacteria* sp. ทำให้สุขภาพของลำไส้ดีและระบบการย่อยอาหารดีด้วย

11. Traveller's Trots

บางครั้งอาจเรียกชื่อโรคนี้ว่า “การแก๊สแค้นของมอเตซูมา” เป็นโรคบิดชนิดหนึ่ง เกิดขึ้นกับนักท่องเที่ยวที่เพิ่งเคยมาประเทศที่มีอากาศร้อน เนื่องจากได้รับเชื้อ *E.coli* ถ้ารับประทานอาหารเสริม *L.acidophilus* ติดต่อกัน 2 อาทิตย์ก่อนเดินทางและนำติดตัวไปด้วยระหว่างเดินทางจะช่วยป้องกันโรคนี้ได้ แบคทีเรียโพรไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพและเหมาะสมอย่างยิ่งกับผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะ หรือผู้สูงอายุ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ในลำไส้ลดน้อยลง รวมทั้งบุคคลทั่วไปควรรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียโพรไบโอติกอย่างต่อเนืองกันทุกวัน เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณ และรักษาจำนวนจุลินทรีย์สุขภาพให้แก่ร่างกาย

2.5 ยีสต์ (Yeasts) (กำเนิด 2534)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์มานานแล้ว คุณสมบัติของยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ได้อย่างรวดเร็ว โดยยีสต์จะเปลี่ยนของเหลวที่มีเอกสารเป็นเอกสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลเป็นเครื่องส่วนประกอบ ได้แก่ น้ำผลไม้ต่าง ๆ ให้เป็นแอลกอฮอล์ มีหลักฐานว่ามีการใช้ยีสต์ในการทำเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และใช้ยีสต์ในการทำขนมปังตั้งแต่ 3000 ปีก่อนคริสตกาล

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไป มีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1 ถึง 5 ไมโครเมตร ยาวตั้งแต่ 1 ถึง 5 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลม แต่ละ สปีชีส์จะมีลักษณะเฉพาะของตนเอง แต่อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสรีรวิทยาของยีสต์ ยีสต์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนทำให้เคลื่อนที่ไม่ได้ กระบวนการหมักของยีสต์

เมื่อเติมกลูโคสในอาหารเลี้ยง *S.cerevisiae* กลูโคส จะเข้าสู่เซลล์โดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเข้าสู่เซลล์แล้วจะเปลี่ยนแปลงไป กระบวนการนี้จะทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP 2 โมเลกุล ซึ่ง ATP นี้ นำไปใช้กระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthesis) เพื่อให้เซลล์เจริญต่อไป ถ้าขาดแหล่งไนโตรเจน กลูโคสจะถูกสะสมอยู่ในเซลล์ กลูโคสจะถูกใช้ไปประมาณ ร้อยละ 70 และ 30 จะถูกสะสมไว้ยีสต์มีการใช้อาหารที่สะสมไว้อย่างช้า ๆ ระหว่างการหมักหรือการเพาะเลี้ยง เรียกว่า ขบวนการหมักภายในเซลล์ (endogenous fermentation)

รูปที่ 15 : ลักษณะของยีสต์ *S.cerevisiae*

ที่มา <http://mckeogh.googlepages.com/>

ผลิตภัณฑ์พลอยได้ (By-product) จากการหมัก

ตามทฤษฎีได้เอทานอลประมาณร้อยละ 51.1 โดยน้ำหนักและได้คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.9 แต่ในทางปฏิบัติแล้ว ปริมาณเอทานอลที่ได้จะต่ำกว่าทฤษฎี คือ ได้ประมาณร้อยละ 48 และมีผลพลอยได้หลายอย่าง และประมาณร้อยละ 1 ของน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นองค์ประกอบของเซลล์ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังระเหยออกไปจากระบบอีกด้วย

สารที่จัดเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. กลีเซอรอล (glycerol) ประมาณร้อยละ 2.5 ถึง 3.0 เป็นผลพลอยได้ที่มีมากที่สุด เกิดจากการเพิ่มไฮโดรเจนให้กับสารไดไฮดรอกซีอะซิโตน ฟอสเฟต(dihydroxyacetone phosphate) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในกระบวนการหมัก
2. กรดอินทรีย์ ประมาณร้อยละ 0.02 ถึง 0.05 กรดอินทรีย์ที่เป็นผลพลอยได้ ได้แก่ กรดซัคซินิก (succinic acid), กรดอะซิติก (acetic acid), กรดแลคติก (lactic acid)
3. อัลดีไฮด์และคีโตน มีประมาณร้อยละ 0.01 ถึง 0.04 ที่พบมากที่สุดคือ อัลดีไฮด์ (aldehyde) เกิดจากการเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากกรดออกโซ (oxo acid) ระหว่างการเกิดแอลกอฮอล์มีตั้งแต่ฟอร์มาดีไฮด์ (formaldehyde) ไปจนถึงเฮกซานอล (hexanol) ไอโซอัลดีไฮด์ (isoaldehyde) พวกอัลดีไฮด์ทำให้รสของเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์เสียไป ส่วนประเภทคีโตนจัดเป็นตัวช่วยให้กลิ่น รสหอมหวานกับเครื่องดื่ม เรียกว่า organoleptically compound สารเหล่านี้จะถูกผลิตขึ้นน้อยมาก สารนี้เป็นตัวชี้คุณรูปของเครื่องดื่ม สารนี้บางที่ไม่ได้มาจากยีสต์เอง แต่มาจากวัตถุดิบที่นำมาใช้หรือบางทีเกิดจากยีสต์เปลี่ยนวัตถุดิบไปหรือมาจากถังหมักที่เป็นไม้ เช่น ถังไม้โอ๊คทำให้ไวน์มีรสคิ สารประเภทคีโตน เช่น ไดอะซีทิล (diacetyl) ,2-3 เพนแทนไดโอน (2-3 pentanedione) ทำให้เกิดรสเนยกับบัตเตอร์สกอตช์ (butterscotch) และท็อฟฟี่ (toffee) ความเข้มข้นในบัตเตอร์สกอตช์ มีถึง0.1ถึง0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. แอลกอฮอล์เชื้อเพลิง (higher alcohol หรือ fusel alcohol หรือ fusel oil) ได้มีการศึกษาสารประเภทนี้กันมากเพราะมีผลต่อคุณรูปของเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ เกิดจากการดึงคาร์บอนไดร้ออกไซด์ออกจากกรดคีโต (keto acid) ที่จะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนแล้วมีการเติมไฮโดรเจน แอลกอฮอล์กลุ่มนี้ที่พบได้แก่ โพรพานอน (propanone), เมทิล-1-โพรพานอล หรือ ไอโซบิวทานอล (methyl-1-propanol หรือ iso-butanol), เมทิล-1-บิวทานอล หรือ ไอโซ-เอมีลแอลกอฮอล์ (methyl-1-butanol หรือ isoamyl alcohol) และ 2-เมทิล-1-บิวทานอล (2-methyl-1-butanol หรือ optically active amyl alcohol)

2.6 กรรมวิธีการผลิตคิเฟอร์ (Texnotext, 1995)

การเตรียมหัวเชื้อ เป็นการเตรียมสารตั้งต้นก่อนการลงเชื้อเพื่อกระตุ้นเชื้อในเมดคิเฟอร์ให้ทำงาน โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส โดยใส่หัวเชื้อประมาณร้อยละ 3 จากนั้นทำการบ่มประมาณ 20 ชั่วโมง ระหว่างการบ่มจะมีการคนเป็นเวลา 10 ถึง 15 นาที ทุก ๆ 2 ถึง 5 ชั่วโมง เมื่อถึงค่าพีเอชประมาณ 4.5 จะทำการคนอีกครั้งและทำการกรองเอาเมดคิเฟอร์ออกโดยใช้ตะแกรงสแตนเลสที่มีรูขนาด 3 ถึง 4 มิลลิเมตร หัวเชื้อที่อยู่บนตะแกรงนำมาล้างด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็น สามารถเก็บไว้ใช้ได้ใหม่อีกโดยเชื้อจะโตขึ้นประมาณร้อยละ 10 ต่อสัปดาห์ ส่วนที่ได้จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสประมาณ 2 ถึง 3 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้ สำหรับการผลิตคิเฟอร์ปริมาณมาก ส่วนที่กรองสามารถนำไปใช้ได้ทันที

2.7 การทำผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ (Texnotext, 1995)

- การเตรียมส่วนผสม ซึ่งจะต้องมีการปรับค่าปริมาณไขมัน โดยปกติจะมีค่าประมาณร้อยละ 0.5 ถึง 0.6 ซึ่งไขมันจะมีผลต่อคุณรูปของคิเฟอร์ในแง่ของความรู้สึกเมื่อรับประทาน มีการปรับปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมันในน้ำนม มีการเติมสารคงตัว และมีการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน
- การให้ความร้อน เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างมาก เพราะนอกจากจะมีผลต่อความเข้มข้นของนมแล้ว ยังมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อน นอกจากนี้ยังช่วยกำจัดอากาศที่มีอยู่ในน้ำนม ซึ่งทำให้สภาวะแวดล้อมเหมาะแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกอย่างมาก
- การใส่เชื้อ หลังจากให้ความร้อนแล้ว จะทำให้นมเย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 32 องศาเซลเซียส แล้วจึงใส่หัวเชื้อลงไปประมาณร้อยละ 2 ถึง 3
- การบ่ม ช่วงระยะเวลาในการบ่มจะแบ่งออกเป็น 2 ช่วงด้วยกัน คือช่วงสร้างกรด และช่วงที่เกิดการหมักสมบูรณ์
- การทำให้เย็น ผลิตภัณฑ์จะถูกทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 ถึง 8 องศาเซลเซียสโดยการใช้เครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก

2.8 ผิวหนัง (<http://www.cosmeccs.com>)

ผิวหนัง เป็นอวัยวะขนาดใหญ่ น้ำหนักรวม 4 กิโลกรัม และคลุมพื้นผิว 1.8 ตารางเมตร ผิวหนังประกอบด้วยหนังกำพร้า (epidermis) หนังแท้ (dermis) และชั้นไขมัน (subcutaneous tissue) ผิวหนังกำพร้าจะห่อหุ้มเก็บความชุ่มชื้นและป้องกันไม่ให้สารพิษหรือสิ่งแปลกปลอมซึมเข้าสู่ร่างกาย รวมทั้งยังช่วยควบคุมอุณหภูมิของร่างกายให้อยู่ในระดับปกติ ในชั้นหนังแท้และชั้นไขมันจะประกอบด้วยต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน เส้นประสาท หลอดเลือด หลอดน้ำเหลือง และรูขุมขน นอกจากนี้ชั้นไขมันยังเป็นฉนวนป้องกันการกระแทกที่จะเป็นอันตรายต่ออวัยวะภายในอีกด้วย ผิวหนังชั้นนอกสุดคือหนังชั้นขี้ไคล (stratum corneum) จะเป็นเซลล์ผิวหนังซึ่งไม่มีนิวเคลียส และมีส่วนประกอบของสารเคอราติน (keratin) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีความเหนียวมากจึงทำให้ผิวหนังสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะภายนอกได้เนื่องจากสารเคอราตินจะไม่ละลายน้ำ สารพิษจึงไม่สามารถซึมเข้าในชั้นหนังแท้ได้และชั้นเคอราตินยังช่วยห่อหุ้มไม่ให้ความชุ่มชื้นจากผิวหนังระเหยออกภายนอก ในชั้นนอกสุดของหนังชั้นขี้ไคลจะมีน้ำมันหล่อเลี้ยงเคลือบผิว น้ำมันหล่อเลี้ยงผิวประกอบด้วยน้ำมันหรือไขมันจากการย่อยสลายเซลล์ผิวหนัง เช่น โคเลสเตอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในทางอื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

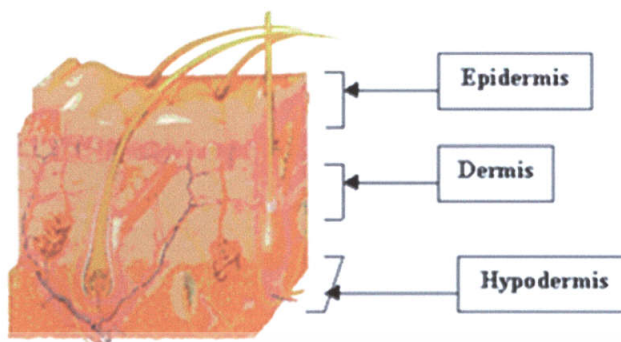
(cholesterol), ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride), กรดไขมันอิสระ (free fatty acid), ฟอสโฟลิปิด (phospholipids) , สฟิงโกลิปิด (sphingolipid) และเซราไมด์ (ceramide) ชนิดต่างๆ ในน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวยังมีส่วนประกอบของโปรตีนและกรดอะมิโนซึ่งได้จากการย่อยของเซลล์ผิวหนัง ส่วนผสมเหล่านี้จะช่วยอุ้มน้ำไว้ในชั้นหนังขี้ไคลน้ำมันหรือไขมันบนชั้นผิวหนังขี้ไคลบางส่วนยังได้จากต่อมไขมันซึ่งสร้างไขมันส่งมาตามรูขุมขนเปิดออกในชั้นหนังขี้ไคล น้ำมันและไขมันจากต่อมไขมันจะมีส่วนประกอบต่างจากไขมัน ของเซลล์ผิวหนัง ในแต่ละบุคคลชนิดและปริมาณของน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวจะแตกต่างกัน น้ำมันหล่อเลี้ยงผิวช่วยให้ผิวหนังชั้นขี้ไคลโปร่งแสง (transparent) เรียบลื่น (lubricate) มีความยืดหยุ่น (flexible) และชุ่มชื้น (moisture) ในรูขุมขนและผิวของผิวหนังชั้นขี้ไคลจะมีเชื้อจุลินทรีย์อาศัยอยู่หลายชนิด เช่น แบคทีเรียกลุ่ม *Propionibacterium* 3 ตัว คือ *P.acne*, *P.granulosum* และ *P.avidum* กลุ่มเชื้อ *Micrococcaceae* คือ *Staphylococcus epidermidis* และ *Aerobic coryneform* กลุ่มเชื้อยีสต์คือ *Pityosporum* หรือ *Malasseziafurfur* ในพื้นผิวหนังแต่ละส่วนจะมีจำนวนและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกันและยังมีแตกต่างกันในแต่ละบุคคล เชื้อ *P.acne* พบมากในบริเวณใบหน้าหน้าอกและหลัง ซึ่งมีรูขุมขนหนาแน่นและมีความมันของผิวมากกว่าบริเวณอื่นน้ำมันดังกล่าวจะช่วยเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *P.acne* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคผิวหนัง ส่วนเชื้อ *Micrococcaceae* จะแบ่งตัวเพิ่มขึ้นในบริเวณอับชื้นเหงื่อ เช่น ในรอยพับต่างๆ และเชื้อ *Aerobic coryneform* จะย่อยสลายเหงื่อทำให้เกิดกลิ่นตัวขึ้น ดังนั้นชนิดและจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ของผิวหนังจะแตกต่างกันผกผันตามสภาพของผิวว่ามีความมันหรือความชื้นเท่าใด แต่ผิวหนังส่วนใหญ่จะมีความสมดุลของชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์เพราะผิวหนังชั้นขี้ไคลมีความแข็งแรงแห้งไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อโรค และการหลุดลอก (exfoliate) ของผิวจะของผิวจะช่วยจำกัดเชื้อจุลินทรีย์และน้ำมันส่วนเกินออกไป และในน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.1 ถึง 6.8 ซึ่งไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และในน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวยังมีสารต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งได้จากเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลล์ผิวหนังหรือการย่อยสลายของเชื้อจุลินทรีย์เอง และยังพบ ไรโบไซม์ (IgA) ในชั้นผิวหนังขี้ไคล โดยสร้างจากต่อมเหงื่อซึ่งจะช่วยกดการเจริญเติบโตของเชื้อโรคซึ่งมีอันตรายได้อย่างดีดังนั้นผิวหนังปกติจะมีระบบทำความสะอาดผิวอัตโนมัติในชั้นผิวหนังมีต่อมเหงื่อซึ่งช่วยควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย เหงื่อซึ่งไหลออกมาจะรวมกับน้ำมันหล่อเลี้ยงผิว โดยเหงื่อจะเพิ่มปริมาณน้ำ เกลือแร่และสารอุ้มน้ำซึ่งสร้างจากเซลล์ต่อมเหงื่อ ได้แก่ กรดแลคติกซึ่งจะช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง (humectant) น้ำมันหล่อเลี้ยงผิวจึงเป็นส่วนผสมสร้างจากเซลล์หลายชนิด เช่น ไขมันและน้ำมันจากต่อม ไขมันและไขมันจากการย่อยสลายของส่วนประกอบของเซลล์เองกรดอะมิโนและ โปรตีนจากการย่อยสลายเซลล์ผิวหนัง สารต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์จากการย่อยสลายของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาศัยอยู่ในชั้นผิวหนัง น้ำเกลือแร่และสารอุ้มน้ำสารภูมิคุ้มกันจากต่อมเหงื่อ ส่วนผสมนี้ยากที่มนุษย์จะสามารถปรุงตำรับขึ้นมาทดแทนได้ ผิวบริเวณใบหน้าจะมีความมันมากกว่าผิวหนังบริเวณอื่น เพราะผิวหนังหน้ามีต่อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมันหนาแน่นกว่า โดยเฉพาะบริเวณหน้าผากและจมูก ในแต่ละบุคคลผิวจะมีความมันแตกต่างกันลักษณะของผิวและความมันของผิวถูกควบคุมโดยหน่วยพันธุกรรม จึงยังไม่สามารถแก้ปัญหาหาผิวมันหรือแห้ง ได้อย่างถาวร แต่ความก้าวหน้าทางวิชาการรวมทั้งเทคโนโลยีในการตรวจลักษณะผิวและการพัฒนาเครื่องสำอางทำให้มีผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมในแต่ละชนิดของผิวเกิดขึ้น ผิวหนังปกติ ผิวซึ่งมีการสร้างชั้นหนังขี้ไคลที่มีคุณรูปและมีน้ำมันหล่อเลี้ยงซึ่งสร้างจากชั้นผิวหนัง และต่อมไขมันเคลือบผิวในปริมาณที่พอเหมาะ ผิวจะเรียบใส โปร่งแสงอ่อนนุ่ม ยืดหยุ่น จึงทำหน้าที่เก็บความชุ่มชื้น และเป็นเกราะป้องกันอันตรายจากสารภายนอกร่างกายได้สมบูรณ์ครบถ้วน เช่น ผิวในวัยเด็ก และเมื่อเข้าสู่วัยรุ่นการสร้างน้ำมันในต่อมไขมันจะเพิ่มขึ้น เพราะมีฮอร์โมนเพศชายสูงขึ้น ซึ่งจะกระตุ้นต่อมไขมันให้สร้างไขมันมากขึ้นใบหน้าจึงมัน โดยเฉพาะบริเวณจมูกและหน้าผาก แต่เมื่อวัยสูงขึ้นจะมีความเสื่อมของเซลล์ทั่วร่างกาย และเซลล์ในชั้นผิวหนังก็จะสร้างน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวน้อยลง ผิวมันวัยรุ่นจะมีผิวมันขึ้น โดยเฉพาะวัยรุ่นชาย ในคนผิวมันผิวหนังจะหนาขึ้น บางรายจะเห็นรูขุมขนขยายใหญ่ และมีขุยอุดตันบริเวณรูเปิด ทำให้ผิวสากและหยาบขึ้น ผิวมันจะพบร่วมกับสิวและผื่นอักเสบแบบรังแค (seborrheic dermatitis) บางคนจะมีหนังศีรษะมันร่วมด้วย คนผิวมันจะพบริ้วรอยน้อยกว่าคนผิวแห้ง ผิวแห้ง ผิวที่แห้งตึงเมื่อสัมผัสจะไม่เรียบ ถ้าแห้งมากจะพบชั้นหนังขี้ไคลแตกเป็นรอยลายงา ผิวหนังชั้นขี้ไคล จะไม่สามารถเก็บความชุ่มชื้นได้ และการดูดซึมสารภายนอกเข้าไปในชั้นผิวหนังจะเพิ่มสูงขึ้น คนผิวแห้งจึงเกิดการระคายเคืองและแพ้ง่าย ผิวแห้งอาจเกิดจากการชำระล้างมากเกินไปทำให้สูญเสียน้ำมันหล่อเลี้ยงผิว ส่วนผู้สูงอายุผิวจะแห้งเพราะเซลล์ทุกเซลล์ทำงานเสื่อมลง แต่ในบางคนมีผิวแห้ง โดยพันธุกรรม ผิวผสม โดยปกติผิวหนังเป็นผิวผสม คือ มีความมันบริเวณหน้าผากและจมูก เพราะต่อมไขมันมีมากในบริเวณดังกล่าว ส่วนแก้มเป็นผิวนิโคธรรมดา แต่ถ้าล้างหน้ามากเกินไปอาจผิวบริเวณแก้มแห้งได้

2.9.1 โครงสร้างผิวแบ่งออกเป็น 3 ชั้นใหญ่ แสดงดังรูปที่ 6 (<http://www.cosmeccs.com>)

1. Epidermis หนังกำพร้า (ผิวชั้นนอก)
2. Dermis หนังแท้ (ผิวหนังชั้นใน)
3. Subcutaneous Tissue ชั้นไขมัน



รูปที่ 6 : โครงสร้างผิวหนัง 3 ชั้นใหญ่

ที่มา : http://mayskin.blogspot.com/2008/01/blog-post_20.html

1. หนังกำพร้า (ผิวชั้นนอก) แสดงดังรูปที่ 7

เป็นผิวหนังชั้นนอกสุด ซึ่งมีความสำคัญต่อการใช้เครื่องสำอาง ชั้นหนังกำพร้า จะแบ่งออกเป็น 4 ชั้นย่อย คือ

1.1 ผิวหนังชั้นเบอซัล (Basal Layer 1 ชั้น)

เป็นชั้นของเซลล์ที่มีหน้าที่ผลิตเซลล์ใหม่ โดยเซลล์เบอซัลทุกตัวจะได้รับสารอาหารบำรุงจากเส้นโลหิตฝอย (Capillaries) ที่เข้าไปหล่อเลี้ยงเซลล์ทุกตัวให้แข็งแรงระหว่างเซลล์ Basal ประมาณ 7 ตัว จะมีเซลล์เมลานินไซต์ (Melanocytes) 1 ตัว เซลล์เมลานินไซต์จะมีหน้าที่ผลิตเซลล์เมลานิน (Melanin) ซึ่งเป็นตัวกำหนดเซลล์สีผิว เวลาที่ผิวโดนแสงแดด จะกระตุ้นตัวเมลานินไซต์ให้ผลิตสี Melanin ซึ่งเป็นสาเหตุของกรมเกิดฝ้า กระ จุดด่างดำ บนใบหน้า

1.2 Germinative Layer (Spinous layer) (10 ถึง 13 Layers)

เป็นชั้นของเซลล์ผิวใหม่ (ลูกเซลล์) เซลล์แต่ละตัวจะเชื่อมตัวติดกัน โดยมีของเหลว คือน้ำเหลือง ไทลน่าน และหล่อเลี้ยงเซลล์ทุกตัว ให้แข็งแรงทำให้ผิวมีความยืดหยุ่น

1.3 ผิวหนังชั้นเซลล์ผิวใหม่ (Granular Layer 2 ถึง 3 ชั้น)

ลักษณะเซลล์จะเป็นรูปกลมรี ตัวกรองแสงที่ส่องเข้าผิว และเป็นตัวผลักดันเซลล์ผิวขึ้นสู่ชั้นบนสุด (Cornified Layer) โดยมีบารริเออร์ (Barrier Zone) เป็นเขตกั้นระหว่างชั้นกรานูลา (Granular Layer) กับชั้นคอนนิไฟล์ (Cornifile Layer) จะป้องกันน้ำไม่ให้เข้าสู่ร่างกาย และกันความชุ่มชื้นในร่างกาย ไม่ให้ระเหยออก (เวลาอาบน้ำหรือดำน้ำ น้ำจึงไม่สามารถเข้าสู่ร่างกายได้)

1.4 ชั้นคอนนิไฟล์ (10 ถึง 20 ชั้น)

ชั้นนี้เป็นชั้นบนสุดของหนังกำพร้า ประกอบด้วยเซลล์ผิวที่ตายแล้ว (สะเก็ดเซลล์หรือซีไคล) ชั้นนี้มีความชุ่มชื้นของผิว ทำให้ผิวเรียบ โดยการดูดซับความชื้น (ร้อยละ 20 ถึง 25) เป็นเขตกั้นระหว่างชั้นหนังแท้ (Dermis) กับชั้นหนังกำพร้าลักษณะเป็นคลื่น (รูปปั้นครึ่งตัวท่อนบน)

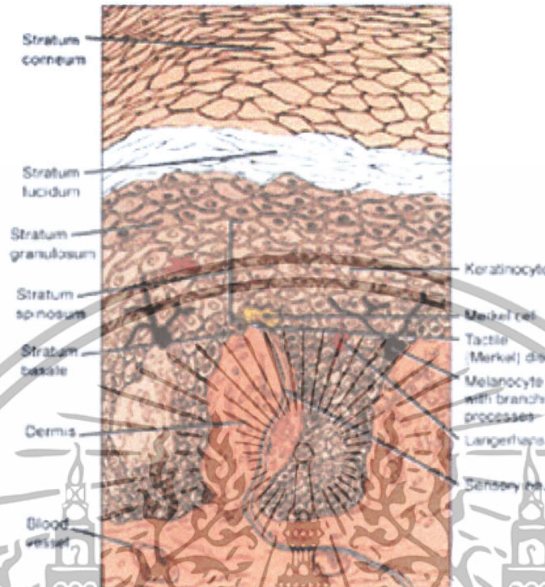
จะให้การบำรุงและสารอาหารกับชั้นเบอซัล โดยผ่านเส้นเลือดฝอย ทำให้ชั้นเบอซัล มีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับผูกพันทางกฎหมายในการค้า

สมบัติ แข็งแรง ที่จะผลิตเซลล์ผิวใหม่ได้ตลอดเวลาการทำงานของผิวหนังชั้นนอก (Epidermis)

ไม่ว่ากรรมใดๆที่ส่งผล อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากมีการนำไปใช้

เริ่มจากชั้น เบอซัล จะผลิตเซลล์ผิวใหม่อยู่ตลอดเวลา และผลัดกันขึ้นมาบนผิวใช้เวลา 28 วัน เพราะฉะนั้นบนผิวจึงประกอบด้วยเซลล์ผิวที่ตายแล้ว หรือเรียกว่า ขี้ไคล สิ่งที่จะขจัดเซลล์ผิวที่ตายแล้ว ให้หลุดออกจากผิวคือการใช้โฟมล้างหน้า , การขัดหน้า , นวดหน้า , ลอกหน้า



รูปที่ 7 : หนังก่ำพริ้ว (ผิวชั้นนอก)

ที่มา : <http://www.cpe15.com/numberone/line/Scotch%2520Skin%2520Secting.gif>

2. หนังก่ำ (ผิวหนังชั้นใน) แสดงดังรูปที่ 8

เป็นชั้นที่อยู่ใต้ชั้นหนังก่ำพริ้ว และร้อยละ 95 ของผิวก็คือ ส่วนของชั้นหนังก่ำ ซึ่งมีหน้าที่สำคัญ 3 ประการคือ

1. การบำรุงหรืออาหารหล่อเลี้ยงผิว , ร่างกาย (Nourishment)
2. การขับถ่าย (Secretion)
3. ความรู้สึก (Sensation)

2.1 การบำรุงหรืออาหารหล่อเลี้ยงผิว , ร่างกาย

คาพิลลารี (Capillaries) เส้นโลหิตฝอยจะดูดซึมสารอาหารที่มีประโยชน์เพื่อไปหล่อเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และหล่อเลี้ยงเซลล์ผิวทั้งยังช่วยส่งเสริมระบบขับถ่ายของเหงื่อและน้ำให้ขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย

ของเหลวลิมฟาติก (Lymphatic Fluid) น้ำเหลืองไหลผ่านโครงสร้างผิวเพื่อให้การบำรุงคอลลาเจน (Collagen Fiber) โยคอลลาเจนโอปอรัมและดูดซับความชุ่มชื้นตามธรรมชาติซึ่งร่างกายสร้างขึ้น

เส้นใยอีลาสติน (Elastin Fiber) ใยอีลาสติน เป็นส่วนที่ทำให้ผิวหนังมีความกระชับและ

ยืดหยุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การขับถ่าย (Secretion)

ต่อมเหงื่อ (Sweat Gland) พร้อมของเสีย และแร่ธาตุต่างๆที่ร่างกายไม่ต้องการใช้งานแล้ว ออกจากร่างกาย (ต่อมเหงื่อจะมี 600 ต่อต่อตารางเมตร)

ต่อมไขมัน (Sebaceous Gland) มีหน้าที่ขับถ่ายไขมัน น้ำมัน เพื่อหล่อเลี้ยงเส้นขน ผิวหนัง และเส้นผม ต่อมไขมันจะอยู่ติดกับด้านข้างของรูขุมขน บริเวณต่างๆของร่างกายจะมีปริมาณของต่อมไขมันมากน้อยต่างกัน บริเวณที่มีต่อมไขมันมาก จะเป็นบริเวณกึ่งกลางของร่างกาย เช่น กึ่งกลางศีรษะ (ประมาณ 400 ต่อต่อตารางเซนติเมตร) บริเวณหน้าผาก จมูก คาง บริเวณกึ่งกลางของร่างกายด้านหน้า และด้านหลัง บริเวณที่ไม่มีต่อมไขมันเลยก็คือ ฝ่าเท้า ริมฝีปาก การขับถ่ายของต่อมไขมัน จะทำให้ผิวมีส่วนช่วยป้องกันความชุ่มชื้นได้ผิวไม่ให้ระเหยออกไปจะทำให้ผิวเรียบ

2.3. ความรู้สึก (Sensation)

ในชั้นของหนังแท้ (Dermis) จะมีเส้นประสาทสัมผัสแสดงความรู้สึก ร้อน หนาว เจ็บ และความรู้สึกอ่อนนุ่ม เย็นสบาย ชุ่มชื้น เมื่อผิวหนังได้สัมผัสการใช้เครื่องสำอาง เมื่อเวลาอากาศร้อน ประสาทสัมผัสจะรู้สึกร้อน แล้วจะไปกระตุ้นการทำงานของต่อมเหงื่อ และต่อมไขมันให้ขับถ่ายเหงื่อและน้ำมันออกมามากกว่าปกติ ถ้าอากาศหนาว รูขุมขนและต่อมเหงื่อจะหดตัว



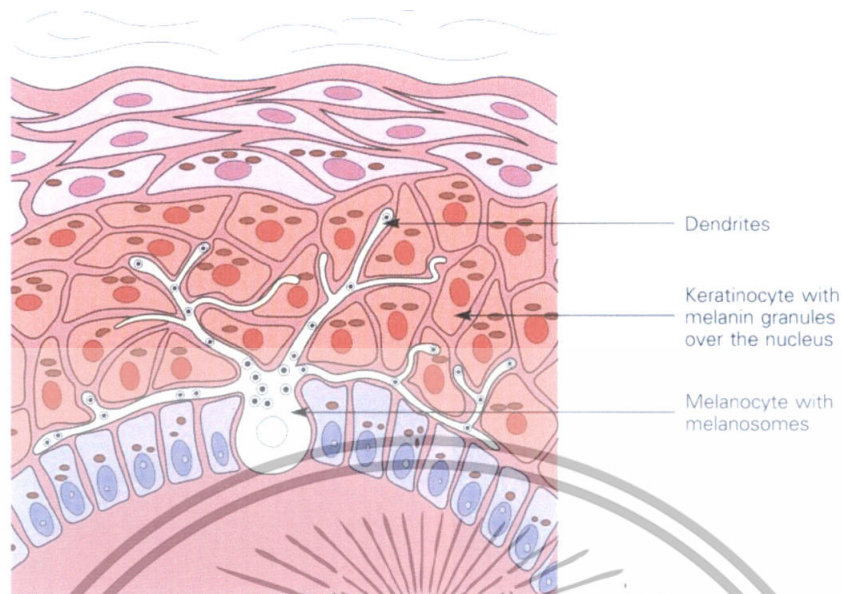
รูปที่ 8 : หนังแท้ (ผิวหนังชั้นใน)

ที่มา : <http://202.129.59.165/chai/47162/picture/5.jpg>

3. Subcutaneous Tissue ชั้นไขมัน แสดงดังรูปที่ 9

ไขมันจำนวนมากที่ถูกจัดเก็บอยู่ในชั้นนี้ จะรักษาอุณหภูมิในร่างกายให้อบอุ่นตลอดเวลา และยังเป็นที่สะสมไขมันส่วนเกิน ไขมันชั้นนี้มีผลกับรูปร่างอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 : Subcutaneous Tissue ชั้นไขมัน

ที่มา : <http://www.inderm.go.th/Health/knowledge/Skin4.jpg>

2.9 สิว (www.clinicneo.co.th)

ปกติร่างกายจะขับไขมันผิวหนังออกมาเพื่อให้ความชุ่มชื้นผิวโดยต่อมไขมันใต้ผิวหนัง ซึ่งมีทางออกบริเวณรูขุมขนเมื่อเกิดเหตุใดก็ตามที่ทำให้เกิดการอุดตันบริเวณทางออก จะทำให้เกิดสิ่งอุดตันหรือ คอมมีโดน (Comedone) และมีการอักเสบตามมา กลายเป็นสิวกักเสบ เมื่อหายอักเสบจะมีรอยดำหรือแดงอยู่ชั่วคราวบางที่อาจเกิดเป็นแผลบวมลงไปด้วย บริเวณที่เกิดสิวมากที่สุด คือ ใบหน้า โดยเฉพาะแก้มและหน้าผากนอกจากนี้หลังและลำคอก็อาจเกิดสิวได้

2.9.1 สาเหตุของการเกิดสิว (www.clinicneo.co.th)

1. ต่อมไขมันเซบัลชีอัส (Sebaceous) สร้างไขมันมากเกินไป โดยอาจเกิดจากสาเหตุ ฮอร์โมนเพศชายแอนโดรเจน ชนิดเทสโตสเตอโรน (Testosterone) ซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตและการสร้างไขมัน (Sebum) สูงมากกว่าปกติแล้วไขมันเกิดการอุดตันในท่อไขมันที่ระบายไขมันออกสู่ผิวหนังด้านนอกอันนำมาซึ่งปัญหาสิวกุดตัน
2. เกิดจากการสะสมหมักหมมของเชื้อแบคทีเรียชนิด *P.acne* ที่ตำแหน่งลึก ๆ ของท่อไขมัน เชื้อ *P.acne* จะย่อยไขมันจากต่อมไขมันให้เป็นกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) โดยอาศัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารตัวอย่าง ก่อให้เกิดการอักเสบของสิวได้ ซึ่งมักพบในเด็กวัยรุ่นอายุประมาณ 15-16 ปี ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปี จะพบน้อยในเด็กที่อายุต่ำกว่า 12 ปี ความรุนแรงของสิวจะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในท่อไขมัน แต่จะไม่สัมพันธ์กับเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนังเลย
3. พบปฏิกิริยาของการอักเสบ โดยเชื้อแบคทีเรีย *P.acne* ซึ่งเป็นการอักเสบโดยไม่ได้เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันของร่างกาย
 4. ปัญหาผิวแพ้ง่าย (Sensitive skin) มักพบเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสิวได้บ่อยเช่นกัน
 5. สิวจากเครื่องสำอาง (Acne cosmetica) มักเกิดจากการใช้เครื่องสำอางบางชนิด แล้วเกิดอาการแพ้
 6. สิวจากสเตียรอยด์ มักเกิดในผู้ที่ใช้ครีมทาที่ผสมสเตียรอยด์ ในการรักษาผิวแพ้ หรือรับประทานยา Prednislone เป็นประจำ เช่นผู้ป่วยโรคไต Nephrotic syndrome หรือ SLE
 7. ฮอร์โมนเปลี่ยนแปลงเช่นในภาวะใกล้หรือหมดประจำเดือน
 8. พันธุกรรม เป็นสิ่งที่ยังไม่มีข้อพิสูจน์แน่ชัดแต่พบว่า เด็กที่เป็นสิวมักจะมีพ่อแม่เป็นสิวถึง ร้อยละ 45 แต่ในเด็กที่ไม่เป็นสิวมักจะมีพ่อแม่เป็นสิวแค่ร้อยละ 8 เท่านั้น
 9. การรับประทานยาปฏิชีวนะ หลายชนิดอาจทำให้เกิดสิวหรืออาจทำให้เกิดสิวมามากขึ้น ยาบางชนิดอาจทำให้เกิดสิวลเฉพาะกับบางคนเท่านั้น แต่ในกลุ่มคนส่วนใหญ่อาจไม่เกิดก็ได้
 10. ความเครียด
 11. อาชีพและสิ่งแวดล้อม การทำงานในที่ที่มีอากาศร้อนชื้น เหงื่อออกมาก ทำให้เกิดการบวมของท่อไขมันและเกิดสิวมตามมา การทำงานที่ต้องสัมผัสกับน้ำมันก็อาจทำให้เกิดสิวได้
 12. อาหาร มีความเชื่อว่าอาหารบางชนิด เช่นช็อกโกแลต อาหารที่มีไขมันมาก มีผลทำให้เกิดสิวได้แต่มีการศึกษาว่าความสัมพันธ์ระหว่างอาหารกับความรุนแรงของสิวไม่ได้มีความเกี่ยวข้องกัน

2.9.2 ขั้นตอนของการเกิดสิวหลัก ๆ 5 ขั้นตอน (www3.easywebtime.com)

แต่ละขั้นตอนก็แตกต่างกันในแต่ละบุคคล ซึ่งทั้ง 5 ขั้นตอนนี้อยู่เหนือความควบคุมของมนุษย์เมื่อเราไม่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ทั้ง 5 ขั้นตอนได้ แสดงดังรูปที่ 10 สิ่งที่ดีที่สุดที่มนุษย์อย่างเราจะสามารถทำได้คือเข้าใจและใส่ใจต่อปัจจัยทั้งหมดนี้ ฮอร์โมน โดยมากปัญหาสิวมจะเริ่มเกิดขึ้นตอนที่เราริเริ่มแตกเนื้อหนุ่มเนื้อสาว เมื่อร่างกายของเราเริ่มผลิตฮอร์โมน ชื่อแอนโดรเจน (Androgens)ฮอร์โมนตัวนี้กระตุ้นให้ต่อมไขมัน (Sebaceous Glands) ขยายใหญ่ขึ้น ซึ่งที่จริงแล้วก็เป็นที่ไปโดยธรรมชาติคนที่มีปัญหาเรื่องสิวม ต่อมไขมันนี้จะถูกกระตุ้นโดยแอนโดรเจนอย่างรุนแรงมากผิดปกติ บางครั้งอาจมีอาการต่อเนื่องจนเป็นผู้ใหญ่ ฮอร์โมนแอนโดรเจน เป็นเหตุที่ทำให้ผู้หญิงบางคนมีสิวมมากเป็นพิเศษช่วงก่อนหรือหลังประจำเดือนบางรายเป็นสิวมมากขึ้นขณะตั้งครรภ์ ไขมันมากไป เมื่อต่อมไขมันถูกขยายให้ใหญ่ขึ้นโดยฮอร์โมนแอนโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคโรเจน ต่อมาไขมันก็จะเริ่มผลิตน้ำมันมากขึ้นน้ำมันนี้เป็นมอยเจอร์ไรเซอร์ธรรมชาติของร่างกายของเราแต่เมื่อถูกผลิตมากเกินไปและขณะที่มันกำลังเดินทางจากต่อมไขมันสู่ปากกรูชน้ำมันนี้ก็จะไปผสมเข้ากับ แบคทีเรีย และเซลล์ที่ตายแล้วที่อยู่ในรูขนของเรา และเนื่องจากน้ำมันหลังจากการผสมกับเซลล์ที่ตายแล้ว จะเข้มข้นเป็นพิเศษจึงทำให้เกิดการอุดตันของรูขนอันเป็นสาเหตุให้เกิดสิว โดยปกติเซลล์ที่ตายแล้วในรูขนจะค่อย ๆ ถูกกำจัดออกสู่ปากกรูชนโดยน้ำมันหรือเหงื่อ แต่โดยส่วนมากในกลุ่มวัยรุ่นเมื่อแอนโดรเจน กระตุ้นให้ต่อมไขมันใหญ่ขึ้นและผลิตน้ำมันมากขึ้น เซลล์ผิวหนังในรูขนก็จะผลิตและตายรวดเร็วยิ่งขึ้นด้วย เมื่อมีเซลล์ที่ตายอยู่มากโอกาสที่จะเกิดการอุดตันในรูขนจึงมีมากขึ้นเป็นทวีคูณ

แบคทีเรีย ชื่อ *Propionibacterium Acne* หรือ *P. acne* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามปกติบนผิวหนัง และรูขนของเรา ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของความสมดุลที่ธรรมชาติสร้างไว้ให้ แต่เมื่อรูขนของเราเกิดอุดตัน *P.acne* แบคทีเรียซึ่งไม่ชอบออกซิเจนนี้ จะสามารถแบ่งตัวได้อย่างรวดเร็วมากผิดปกติจนเป็นสาเหตุของการอักเสบในรูขนการอักเสบ แต่จากการศึกษาพบว่าในหญิงอายุกลางคนการต้านเชื้อจะรุนแรงที่สุด



รูปที่ 10 : การเกิดสิว

ที่มา : www.cosmeccs.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.3 ประเภทของสิว (www.clinicneo.co.th)

1. สิวอักเสบ

คือการที่สิวจุดต้นได้รับการติดเชื้อแบคทีเรียที่เรียกลุ่ม *Propionibacterium acne* (*P.acne*) แล้วแบคทีเรียนี้ปล่อยเอนไซม์ที่จะกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ โดยมีความรุนแรงแตกต่างกัน แล้วแต่จำนวนเชื้อและขนาดของสิวจุดต้น แบ่งออกเป็น 5 ประเภท ดังนี้

- สิวนูนแดง (Papule)
- สิวหัวหนอง (Pustule)
- สิวหัวช้าง (acne conglobata) มักเกิดแผลเป็นเมื่อหาย
- สิวซีสต์ (acne cyst) มักเกิดแผลเป็นเมื่อหาย
- สิวตุ่มนูนหนอง (Papulopustular acne) มักเกิดแผลเป็นเมื่อหาย

2. สิวอุดตัน

เป็นประเภทของสิวที่พบได้บ่อย มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ของปัญหาสิว ซึ่งพบได้ทุกกลุ่มอายุ ทุกเพศ แต่ส่วนใหญ่จะพบในวัยรุ่น และวัยหนุ่มสาวเกิดได้บ่อยบริเวณใบหน้า ลำคอ และลำตัว (โดยเฉพาะที่หลัง) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีต่อมไขมัน Sebaceous gland จำนวนมาก

- สิวหัวขาว หรือสิวหัวปิด
- สิวหัวดำ หรือสิวหัวเปิด
- สิวสเตียรอยด์

2.9.4 สาเหตุของสิวหัวขาวและสิวหัวดำ(www.2poto.com)

น้ำมันส่วนเกิน และเซลล์ผิวเก่าที่มีมากผิดปกติจะรวมตัวกันเป็นสารสีขาวนวล ๆ อุดรูขุมขนไว้ ถ้าส่วนบนของรูขุมขนถูกปิดด้วยผิว ก็จะเรียกว่า สิวหัวขาว (Whitehead/Milia) ถ้าไม่มีอะไรขวางรูขุมขน ส่วนบนของสารขาวๆ ที่ก่อตัวจะถูกอากาศจนกลายเป็นสีดำ เรียกว่า สิวหัวดำ (Blackhead) สิวหัวขาวและสิวหัวดำจะกลายเป็นสิวกักเสบเมื่อแบคทีเรียเติบโตในส่วนที่อุดตัน การอักเสบและน้ำมันส่วนเกินจะทำให้กำแพงของต่อมไขมันรั่ว และน้ำมัน เซลล์ผิวเก่า แบคทีเรียจะกระจายตัวไปทั่วเนื้อเยื่อผิวโดยรอบ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจึงต้องเข้าไปต่อสู้ซ่อมแซมผิว จึงทำให้บวมเป็นตุ่มสิวอย่างที่เห็น

2.9.5 ผลข้างเคียงจากการเกิดสิว แบบต่าง ๆ (www.geocities.com)

1. ผลข้างเคียงจากการเกิดสิวอักเสบ
 1. รอยดำจากสิว
 2. รอยแดงซ้ำ ซึ่งอยู่ได้นาน เป็นเดือนๆ
 3. รอยหลุมจากสิว (Icepick-scar)
2. ผลข้างเคียงจากการเกิดสิवादตัน มักเกิดจากการพยายามแกะ และ บีบเพื่อให้สิवादตันหลุด และขาดความชำนาญในการกดสิว มักพบได้บ่อยคือ
 1. รอยดำจากสิว
 2. รอยหลุมจากสิว หรือ Icepick-scar
 3. สิवादตันเกิดมากขึ้น เนื่องจากการกดหรือบีบ แล้วทำให้ท่อไขมันบริเวณข้างเคียงเกิดอุดตันจากการบาดเจ็บ

2.9.6 การรักษาสิว (www.bloggang.com)

วิธีการรักษาโดยทั่วไปคือ ต้องลดการทำงานของต่อมไขมัน ลดจำนวนเชื้อ *P.acne* ในท่อไขมันและลดอาการอักเสบแบ่งได้ดังนี้

1. เบนโซอิล เปอร์ออกไซด์ (Benzoyl peroxide) เป็นตัวยาที่ลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *P.acne* และลดการอักเสบได้ดีร้อยละ 50 ถึง 70 ของสิวกอักเสบ มักอยู่ในรูปของครีม หรือเจล ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2.5 ถึง 5 BP. โดยมักใช้ทาทั้งวัน 5 ถึง 10 นาทีแล้วล้างออก เนื่องจากมีการระคายเคือง ถ้าทาทั้งวัน อาจทำให้ผิวหนังแห้ง แดง และแห้งเป็นขุยได้มักใช้รักษาสิวกอักเสบรุนแรงได้ดีแพนออกซิล (Panoxyl) และ เบนแซก (Benzac) เป็นตัวอย่างยาที่มีขายทั่วไป
2. ยาในกลุ่มแรกคือยาปฏิชีวนะ ใช้ในการกำจัดเชื้อ *P. acne* ที่เป็นสาเหตุของสิวกอักเสบ ยาที่ใช้ในการกำจัดเชื้อ มีอยู่ทั้งในรูปแบบของยาทาเฉพาะที่ และยารับประทาน ซึ่งปัจจุบัน การรับประทานยาปฏิชีวนะ เพื่อรักษาสิว มีเพิ่มสูงมากขึ้น การเลือกใช้ยาที่ถูกต้อง และเหมาะสมกับความรุนแรงของสิว จะช่วยให้การรักษามีประสิทธิภาพ ลดผลข้างเคียง และลดอัตราการดื้อยาของเชื้อลงได้ เตตราซัยคลินส์ (Tetracycline) เป็นยาดั้วแรกที่ถูกเลือกใช้ในการรักษาสิวกอักเสบ เนื่องจากสามารถทำลายเชื้อ *P. acne* ได้ดี และไม่ค่อยพบการดื้อยาของเชื้อมากนัก มีฤทธิ์ลดการอักเสบของสิว ควรรับประทานก่อนอาหารประมาณ 30 ถึง 60 นาที อาหารหรือยาที่มีธาตุเหล็ก แคลเซียมและยาลดกรด จะรบกวนการดูดซึมของยา ขนาดของยาที่ใช้คือ วันละ 1 กรัม แบ่งให้วันละสองครั้ง ผลข้างเคียงของยาในกลุ่มนี้ มีการระคายเคืองต่อทางเดินอาหารอาจทำให้ผิวหนังไวต่อแสงได้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ด็อกซีซัยคลินส์ (Doxycycline) เป็นยาในกลุ่มเดียวกับเตตราซัยคลินส์ มีประสิทธิรูปเหมือนกับเตตราซัยคลินส์ เชื้อที่คือต่อเตตราซัยคลินส์ มักจะคือต่อด็อกซีซัยคลินส์ ด้วยแต่ยามีการดูดซึมได้ดีกว่าเตตราซัยคลินส์ ขนาดยาที่ใช้ อยู่ที่ 50 ถึง 200 มิลลิกรัม ต่อวัน โดยรับประทานหลังอาหารเพื่อลดการระคายเคืองต่อทางเดินอาหาร

- มินอซัยคลินส์ (Minocycline) เป็นยาในกลุ่ม Tetracycline สามารถดูดซึมได้ดีเมื่อทานพร้อมอาหาร สามารถลดการอักเสบของสิว และฆ่าเชื้อ *P. acne* ได้ดีกว่าเตตราซัยคลินส์ แต่ไม่ควรเลือกใช้เป็นยาตัวแรกเริ่มการรักษา ควรจะใช้ในกรณีที่เชื้อคือต่อเตตราซัยคลินส์ นอกจากนั้นยายังมีราคาสูง ขนาดของยาที่ใช้เริ่มที่ 100 มิลลิกรัมต่อวัน สามารถเพิ่มขนาดยาเป็น 150 ถึง 200 มิลลิกรัมได้ถ้าไม่ตอบสนองต่อการรักษา

- อิริโทรมัยซิน (Erythromycin) เป็นยาทางเลือก ในกรณีที่ผู้ป่วยแพ้ยาในกลุ่มเตตราซัยคลินส์ และ เพนิซิลิน มีข้อดีคือ ช่วยลดการอักเสบของสิวได้บางส่วน แต่อัตรการคือยาของเชื้อ *P. acne*ต่อยิริโทรมัยซินมีสูงกว่ายาในกลุ่มอื่นๆจึงไม่เป็นที่นิยม

- ไตรเมโทพริม (Trimetoprim (Bactrim)) สามารถฆ่าเชื้อ *P. acne* ได้ดีในระดับหนึ่ง แต่มีอัตราการคือยาที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ และยากกลุ่มนี้อาจทำให้เกิดการแพ้ยาชนิดรุนแรง จึงควรใช้ในกรณีที่จำเป็น ได้แก่กรณีที่สิวกอักเสบไม่ตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นมาตรฐาน และอาจเป็นรูขุมขนอักเสบจากเชื้อกลุ่มแกรมลบซึ่งยากกลุ่มนี้สามารถรักษาได้ดี

3. ยาสอร์โอมิน ใช้ในการรักษาสิวในเพศหญิงเท่านั้น ใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยมีลักษณะฮอร์โมนเพศชายสูง เช่นมีผิวมัน ขนขึ้นมาก เป็นสิว หรือไม่ตอบสนองต่อยาทา หรือ ต้องการคุมกำเนิดร่วมด้วย โดยยากกลุ่มสอร์โอมิน จะมีฤทธิ์ลดสอร์โอมินแอนโดรเจน ที่ทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของต่อมไขมัน ทำให้ต่อมไขมันผลิตไขมันลดลงจึงสามารถลดการเกิดสิวได้ ยาที่นิยมใช้คือยาในกลุ่มเอสโตรเจน (estrogen) กับ ไชโปรเทอโรน อะซีเตท (cyproterone acetate) ยาที่นิยมใช้ในบ้านเราคือไดแอน 35 (Diane 35) ทานเหมือนยากคุมกำเนิดทั่วไป คือวันละหนึ่งเม็ด จะเริ่มเห็นผลการรักษาเมื่อทานยาไปประมาณ 6 ถึง 8 สัปดาห์

4. กรดอะซีเลอิก (Azelaic acid) มักใช้ในรูปยาทาหรือยาละ 20 กรดอะซีเลอิก มักใช้ในระยะแรก แต่อาจระคายเคืองได้

5. ยากลุ่มเรตินอยด์ (Retinoids) เช่น โรแอกคิวเทน (Roaccutane), อนุพันธ์ของกรดวิตามินเอ (Isotretinoin) ใช้รักษาได้ทั้งสิวกุดตัน และสิวกอักเสบรุนแรงที่ไม่ตอบสนองหรือคือต่อยาแก้อักเสบหรือยาปฏิชีวนะในข้อ 2 แต่ยาก่อนข้างมีราคาแพงและห้ามใช้ในสตรีมีครรภ์ และให้หยุดยาก่อนการตั้งครรภ์ 1 เดือน

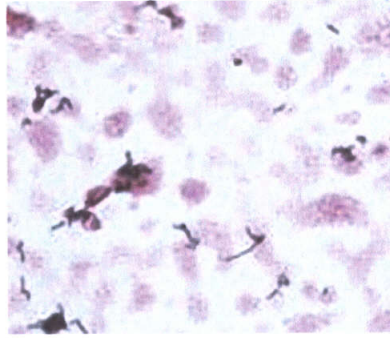
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การฉีดสิว กรณีที่สิวลักเสบรุนแรง นูนแดงเจ็บ สิวหัวช้าง เพื่อป้องกันการเกิดแผลเป็นและทำให้สิวยาวได้เร็ว ควรกระทำโดยแพทย์ที่เชี่ยวชาญเท่านั้น เนื่องจากอาจเกิดรอยหลุมแผลเป็นจากยาได้
8. กรดวิตามินเอชนิดรับประทาน อนุพันธ์ของกรดวิตามินเอ (Isotretinoin) ชนิดรับประทาน เป็นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของต่อมไขมัน ทำให้การสร้างไขมันจากต่อมไขมันลดลงถึงร้อยละ 70 ถึง 80 ขึ้นอยู่กับขนาดยา นอกจากนั้น ยายังทำให้การหลุดลอกตัวของชั้นผิวหนังรอบรูขุมขนเป็นปกติขึ้น และยังช่วยลดการอักเสบซึ่งเป็นการแก้ไขภาวะสิ่วที่สองสาเหตุหลักอย่างมีประสิทธิภาพ

2.9.7 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิ่ว

เชื้อ *Propionibacterium acne*

Propionibacterium acne (*P.acne*) แสดงดังรูปที่ 11 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เปลี่ยนรูปร่างได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่ต้องการอากาศ เฟอร์เมนต์กรดแลคติก คาร์โบไฮเดรต พอลิไฮดรอกซีแอลกอฮอล์ (polyhydroxyalcohol) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต้องการอาหารซับซ้อน เจริญซ้ำเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนังคน เชื้อตัวนี้อยู่ในส่วนลึก ๆ ของต่อมรูขุมขนได้ เพราะเชื้อเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ เชื้อจะใช้ไขมันเป็นอาหาร จึงพบในบริเวณที่มีต่อมไขมันมาก เช่นที่หน้าและหนังศีรษะ จะพบมากเป็น 10 ถึง 100 เท่า ของที่หนังส่วนบน *P.acne* จะมีโปรตีนไอไลติก และ แอนติเจนชนิดี สูงกว่าและทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงกว่า เมื่อฉีดใต้ผิวหนังเชื้อตัวนี้ย่อยไขมันจากต่อมไขมันให้เป็น กรดไขมันอิสระ โดยอาศัยเอนไซม์ไลเปส นอกจากนั้น *P.acne* ยังหลั่งเอนไซม์ โปรติเอส ไฮยารูโรนิเนส ซึ่งสารเหล่านี้จะทำให้เกิดกระบวนการอักเสบขึ้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณของ *P.acne* ไม่ได้แปรตามความรุนแรงของการเกิดสิ่ว เมื่อรูขุมขนเกิดการอักเสบจากแบคทีเรีย เม็ดเลือดขาวจะถูกส่งไปเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยธรรมชาติ วิธีการนี้เรียกว่าเคโมแทกซิส (chemotaxis) เรียกก่ายๆ ว่าการดำนเชื้อ ตรงนี้ทำให้สิ่วของเราออกสีแดง บวม เจ็บ แม้แต่การดำนเชื้อก็จะไม่เท่ากันในแต่ละบุคคลนอกจากนี้ยังพบ *P.granulosum* ที่บริเวณรูขุมขนแต่ไม่มีจำนวนมากเท่า *P.acnes* ซึ่งพบได้มากที่สุด (Vernam and Sutherland, 1994)



รูปที่ 11 : ลักษณะของเชื้อ *Propionibacterium Acne*

ที่มา : http://www.bangkokhealth.com/cimages/acne_02.jpg

เชื้อ *Staphylococcus aureus*

เชื้อ *Staphylococcus aureus* จัดอยู่ใน

Kingdom : bacteria

Phylum : firmicutes

Class : cocci

Order : bacillales

Family : Staphylococcaceae

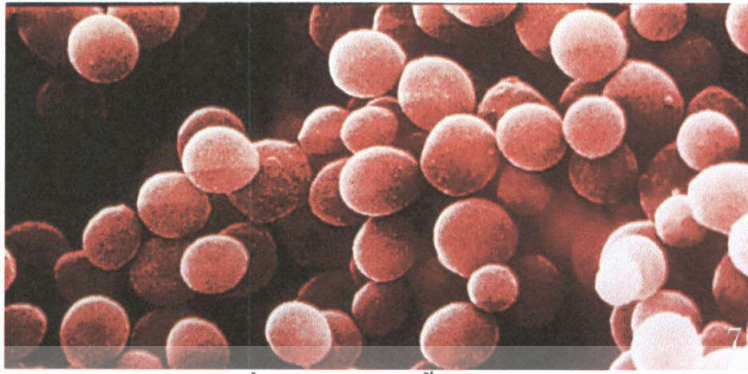
Genus : *Staphylococcus*

Species : *aureus*

เชื้อ *Staphylococcus aureus* แสดงดังรูปที่ 12 เป็นแบคทีเรียเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นเป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5 ถึง 1.5 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทองเป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็น โปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี แต่จากอาหารเหลวอาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น มีบางสายพันธุ์สร้างแคปซูลหรือเมือก (slime) ช่วยให้เชื้อเพิ่มความรุนแรงในการก่อโรค เชื้ออายุน้อยติดสีแกรมบวกเมื่ออายุมากขึ้นติดสีแกรมลบ(Vernam and Sutherland, 1994)

S.aureus สามารถย่อยน้ำตาลได้หลายชนิด โดยจะย่อยได้ทั้งแบบใช้ออกซิเจน (respiration) และแบบการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจน (fermentation) ผลผลิตของการหมักย่อยน้ำตาลจะได้กรดแลคติก แต่ไม่ให้ก๊าซ *S.aureus* จะทนความแห้งและความร้อนได้ดี (50 องศาเซลเซียส 30 นาที) นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือความเข้มข้นสูง โซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 15 (NaCl 15 %) ซึ่งต่างกับแบคทีเรียทั่วไป (Vernam and Sutherland, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 : ลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : <http://chswab.lr.k12.nj.us/psidelsky/S.aureus.jpeg>

เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

Kingdom : bacteria

Phylum : firmicutes

Class : cocci

Order : bacillales

Family : Staphylococcaceae

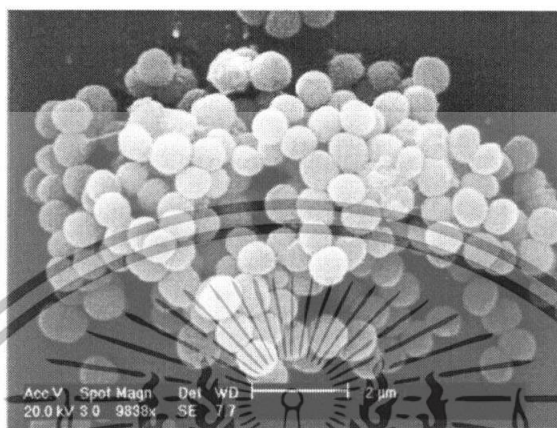
Genus : *Staphylococcus*

Species : *epidermidis*

รูปร่างและลักษณะของ *S. epidermidis* แสดงดังรูปที่ 13 แยกจากสปีชีส์ที่สำคัญและก่อโรคบ่อยที่สุดในกลุ่มโคแอกกูเลส เนกาทีฟสแตปทีโลคอคโคไล (coagulase – negative staphylococci หรือเรียก CNS) ชื่อเดิมคือ *staphylococcus albus* คำว่า *albus* มาจากรากศัพท์ “album” ซึ่งแปลว่าสีขาว เนื่องจากโคโลนีมีสีขาวเหมือนชอล์ค เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ติดสีม่วงในแกรมสเตรน มีรูปร่างทรงกลม เรียงตัวเป็นลักษณะของพวงงูเนื่องจากการแบ่งตัวของแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นลักษณะของสามมิติ ไม่สร้างแคปซูล ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ดีทั้งในที่ที่มีอากาศออกซิเจน และไม่มียากาสออกซิเจน (facultative anaerobe) เป็นเชื้อประจำถิ่นของผิวหนังและเยื่อเมือกของร่างกายเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคต่ำ (<http://std.kku.ac.th>) รูปร่างและลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์ของ *S. epidermidis* แยกจากสปีชีส์อื่น ๆ ในจีนัส *Staphylococcus* ไม่ได้ ขนาดของเซลล์ค่อนข้างใหญ่กว่า *S. aureus* โคโลนีมีสีขาวเหมือนชอล์ค และ บางครั้งอาจมีเฮโมไลซิส (hemolysis) ทนทานต่อเกลือได้ดี ผันงเซลล์เป็นกลีเซอรอล ไคร โคอิค แอซิด (glycerol teichoic acid) หรือโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide B) ปฏิกริยาทางชีวเคมีที่สำคัญที่ใช้แยกจาก *S. aureus* คือ *S. epidermidis* ให้ผลเป็นลบในการทดสอบ โคแอกกูเลส (coagulase) ,เทอร์โมนิวคลีเอส (thermonuclease) และไม่ละลายน้ำตาลแมนนิทอล แต่นิยมใช้มากที่สุดคือ การทดสอบโคแอกกูเลส (coagulase) ห้องปฏิบัติการบางแห่งอนุโลมเรียก CNS ที่แยกได้ว่า *S. epidermidis* ซึ่งความจริงไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่โดยห้องเรียนจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูง และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกต้องนัก การพิสูจน์แยก *S.epidermidis* กับ สปีชีส์อื่น ๆ ในกลุ่ม CNS มีความยุ่งยากจึงไม่นิยมทำในห้องปฏิบัติการทั่วไป



รูปที่ 13 : ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา : <http://www.blackwellpublishing.com/products/journals/suppmat/mmi/mmi3671/mmi3671figS2.jpg>

กมลวรรณ ได้ทำการวิจัย โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพรเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว โดยนำตัวอย่างสมุนไพร 2 ชนิด คือ ใบพลู และเหง้าขมิ้นชัน มาสกัดและทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acne* พบว่าสารสกัดจากใบพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดจากเหง้าขมิ้นชัน (<http://bio.sci.tsu.ac.th/research/fileupload/451021002.doc>)

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ทำการวิจัย พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวได้และยังออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุเกิดรอยแผลเป็นของสิวอักเสบสูงถึงร้อยละ 77.8 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถนำมาพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ราคาไม่แพงที่เป็นสมุนไพรแท้ๆ ใช้กัน (http://km.neo-2.net/index.php?option=com_content&task=view&id=2011&Itemid=50)

ปัญจรักษ์ ได้ทำการวิจัยพบว่า สารสกัดแคโรทีนจากน้ำกลั่นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ในเบื้องต้น แต่ไม่สามารถยับยั้งได้อย่างสิ้นเชิง แต่สารสกัดแคโรทีนที่สกัดโดยเอทานอลไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้เลย

สุพัตตา และคณะ ได้ทำการวิจัยพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่ปลูกในท้องถิ่นภาคเหนือ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว และ พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการรักษาสิบรวมถึงการศึกษาคงตัวของตำรับ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เวชสำอางรักษาสิวที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น

(www.irpus.org/project_file/2549_2007-06-04_I24902009.pdf)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.8 สารยับยั้งทางชีวรูป <http://www.school.net.th>

สารยับยั้งทางชีวรูป หมายถึง สารเคมีหรือจุลินทรีย์ที่เติมลงในอาหารหรือใช้ในการผลิตยา เพื่อป้องกันหรือชะลอการเสื่อมเสียของอาหารและรักษาโรค อันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจเป็น ยีสต์ รา หรือแบคทีเรีย คุณสมบัติของสารต้านจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในยานั้น ต้องเป็นสารที่ทำให้ผลดีในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี ภายใต้ง่อนไขกว้างขวาง มีช่วงในการทำงานอย่างเพียงพอ มีความคงตัวในยารักษาโรคและ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ที่เติมลงไปหรือองค์ประกอบของยานอกจากนี้ต้องไม่เป็นสารที่ทำให้เกิดพิษต่อร่างกายด้วย การใช้สารต้าน จุลินทรีย์ในยาต้องใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเท่านั้นซึ่งประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นและองค์ประกอบทางเคมี ตัวอย่างจุลินทรีย์ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Penicillium*, *Cephalosporium* เริ่มมีการใช้อย่างแพร่หลายเมื่อ 50 ปีก่อน แบคทีเรียเองก็มีการพัฒนาการต้านทานอย่างไม่หยุดหย่อนเนื่องจากเคยมีความพยายามที่นำมาใช้เพื่อการพัฒนาและศึกษาส่วนประกอบใหม่ ๆ อยู่เสมอ นอกจากการรักษาด้วยยับยั้งจุลินทรีย์แบบเดิมแล้ว

กลไกการทำงานของยาปฏิชีวนะ (คุษฎี, 2003)

ยาปฏิชีวนะหลายชนิดที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์มีกลไกการทำลายเชื้อโรคด้วยวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เมื่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลายหรือถูกยับยั้งการสร้างหรือการเชื่อมต่อของส่วนประกอบของผนังเซลล์ในเซลล์ที่กำลังเจริญเติบโต จะทำให้เกิดความว่องไวต่อแรงดันออสโมติกมีผลทำให้เซลล์ตายได้ ยาปฏิชีวนะที่มีผลต่อผนังเซลล์ ได้แก่ เพนนิซิลลิน เซฟาโลสปอรินส์
2. ยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนถัดจากผนังเซลล์เข้ามา ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ และยังเป็นที่ตั้งสร้างสารประกอบบางอย่างให้แก่ผนังเซลล์ด้วย ซึ่งยาปฏิชีวนะหลายชนิดสามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายที่ไปแล้วเซลล์ตายในที่สุด ยาปฏิชีวนะเหล่านี้ได้แก่ พอลิมัยซินบี คอลิสติน
3. ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก เซลล์จุลินทรีย์ต้องการกรดนิวคลีอิก 2 ชนิดในการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ต่าง ๆ เพื่อการเจริญและแบ่งตัว คือ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ และก่อนที่จะมีการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ต่าง ๆ เพื่อการเจริญและแบ่งตัว คือ ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอและก่อนที่จะมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอจะต้องมีการสร้างนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นยาปฏิชีวนะที่ขัดขวางการสร้างดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และนิวคลีโอไทด์ของเชื้อจุลินทรีย์จะทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่มีผลต่อการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ ไรฟลามพิซิน โนโวไบโอซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ยาปฏิชีวนะหลายชนิดสามารถรบกวนกระบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียโดยไม่รบกวนการสร้างโปรตีนของเซลล์มนุษย์ ซึ่งยาปฏิชีวนะบางชนิดมีผลเพียงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เท่านั้น และเมื่อหยุดยาหรือลดขนาดลง กระบวนการสร้างโปรตีนของจุลินทรีย์ก็จะกลับสู่สภาวะเดิม ยาปฏิชีวนะที่มีผลเพียงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล ดินโคมายซิน ยาปฏิชีวนะบางชนิดสามารถทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ผิดไปและกลับสู่สภาวะเดิมไม่ได้ ผลคือจุลินทรีย์ตาย เช่น ยาในกลุ่มอะมิโน
5. รบกวนกระบวนการสร้างพลังงาน กระบวนการสร้างพลังงานหรือเมทาบอลิซึมที่สำคัญเกิดขึ้นภายในเซลล์จุลินทรีย์ คือ การสังเคราะห์สารเตตราไฮโดรโฟลิกแอซิด (tetrahydrofolic acid) ซึ่งเป็นสารจำเป็นของเซลล์สิ่งมีชีวิตเพื่อใช้เป็นโคแฟกเตอร์ในการเผาผลาญสารพวกที่มีคาร์บอน 1 อะตอมเป็นองค์ประกอบในการสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด จุลินทรีย์บางชนิดจะได้สารดังกล่าวจากการสลายสาร โพลิกแอซิดที่มีอยู่ในอาหาร แต่ในแบคทีเรียทั่วไปจะสังเคราะห์สารชนิดนี้ใช้เอง (คุชฎี,2003)



รูปที่ 14 : รูปแสดงโครงสร้างของเพนิซิลินที่ได้จากธรรมชาติโดยมี 6 อะมิโนเพนิซิลินิกแอซิดเป็นแกนกลางและมีแขนงที่แตกต่างกันออกไป ดังนี้

- ก. ชนิดเพนิซิลินจี แขนเป็น เบนซิลเพนิซิลิน
- ข. ชนิดเพนิซิลินวี แขนเป็นฟิโนซัยเมททิลเพนิซิลิน
- ค. ชนิดเพนิซิลินเอฟ แขนเป็นเพนติโนวเพนิซิลิน (Pelczar *et al.*, 1988)

คุณสมบัติของยาปฏิชีวนะที่ดีควรมีลักษณะ ดังนี้ (คุชฎี,2003)

1. สามารถทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้หลายชนิด มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้กว้าง
2. ฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรคที่ไวต่อยาจะต้องไม่เกิดการดื้อยาเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

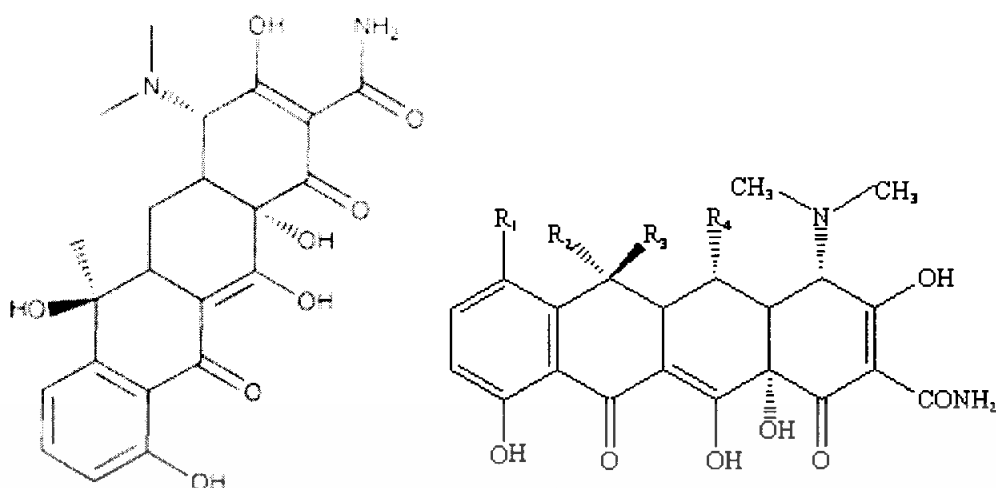
3. เมื่อใช้ยาเป็นระยะเวลาานจะต้องไม่เกิดอาการข้างเคียง (side effect) ต่าง ๆ ที่ไม่พึงปรารถนา เช่น ประสาทสมองถูกทำลาย เกิดการแพ้ (allergic) หรือการระคายเคืองต่อระบบไตหรือระบบทางเดินอาหาร
4. จะต้องไม่ทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกาย (normal flora) เนื่องจากจะทำให้เกิดการเสียสมดุลของธรรมชาติ อันเป็นผลทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนได้
5. ต้องยังมีฤทธิ์เมื่ออยู่ในพลาสมา (plasma) และของเหลวในร่างกาย
6. ละลายน้ำได้และมีความคงตัว
7. ระดับการฆ่าเชื้อในร่างกายต้องเร็วและคงอยู่เป็นเวลานาน

ตารางที่ 3 รูปแสดงยาปฏิชีวนะที่ผลิตโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ (Berdy, 1985)

กลุ่มของจุลินทรีย์	จำนวนยาปฏิชีวนะ
แบคทีเรียต่าง ๆ ที่ไม่ใช่แอกติโนมัยซิท (actinomycetes)	950
แอกติโนมัยซิท (actinomycetes)	4600
เชื้อรา	1600

เตตราซัยคลินส์ (tetracyclines) (Riviere, 1977)

เตตราซัยคลินส์เป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อ *Streptomyces* สูตรโครงสร้างของยานี้แสดงดังรูปที่ 15 บางชนิดสามารถผลิตได้โดยวิธีการกึ่งสังเคราะห์ทางเคมี เช่น เตตราซัยคลินส์ (tetracyclines) และ คลอโมซัยคลิน (clomocycline) ได้จากกระบวนการกึ่งสังเคราะห์ของคลอเตตราซัยคลิน (chlortetracycline) (ได้จากเชื้อ *Streptomyces aureofaciens*) เมทาซัยคลิน (methacycline) ได้จากกระบวนการกึ่งสังเคราะห์ของออกซีเตตราซัยคลิน (oxytetracycline) (ได้จากเชื้อ *Streptomyces rimosus*) ไดเมทิลคลอเตตราซัยคลิน (dimethylchlortetracycline) ได้มาจากสายพันธุ์กลายของเชื้อ *Streptomyces aureofaciens* และ มิโรซัยคลิน (minocycline) เป็นอนุพันธ์ของเตตราซัยคลิน



รูปที่ 15 : โครงสร้างเตตราซัยคลินส์

ที่มา : <http://www.blackwellpublishing.com>

ยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราซัยคลินส์มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้าง มีผลต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ตลอดจนพวก *Chlamydia*, *rickettsia*, *mycoplasma* และ *leptospira* เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้าง จึงใช้ได้ดีในกรณีติดเชื้อจากแบคทีเรียหลายชนิดพร้อมกันได้ แต่ไม่ควรใช้พร่าเพรีอ เพราะยาเตตราซัยคลินส์จะไปยับยั้งการเจริญของพวกจุลินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายทำให้เชื้อบางชนิดที่ไม่ถูกยับยั้งเกิดการแพร่ขึ้นมาโดยเฉพาะเชื้อยีสต์ ซึ่งนอกจากยานี้จะไม่มีผลต่อเชื้อและยังกระตุ้นให้เชื้อมีการเจริญมากขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุ

1. นมโค ยูเอชที ผลิตจากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา
2. ผงเชื้อคีเฟอร์ จากบริษัท Wilderness Family Naturals
3. เม็ดคีเฟอร์ (Kefir grain)
4. อุปกรณ์ในการย้อมแกรม
5. เชื้อ *Staphylococcus aureus* บริสุทธิ์
6. เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* บริสุทธิ์
7. เชื้อ Unknow ที่ได้จากผิวของผู้ทดลอง
8. อาหารเลี้ยงเชื้อบีเอช ไออะการ์ (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อทีเอสบีอะการ์ (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก)
10. อาหารเลี้ยงเชื้อเอ็นเอ (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก)
11. เอทานอลเย็น
11. กระจาดเบปเปอร์ดิส (paper disk)
12. น้ำกลั่น

3.1.2 อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักของบริษัท Sartorius รุ่น BP 221S
2. ตู้ปลอดเชื้อของบริษัท ISSCO รุ่น BVT 123
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ของบริษัท SHEL LAB รุ่น 2020
4. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ของบริษัท Binder รุ่น control E2
5. ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ของบริษัท Intercool รุ่น Sander Intercool
6. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ของบริษัท Tomy รุ่น SS-325
7. ไมโครเวฟ (Microwave Oven) ของบริษัท SHARP รุ่น 40 million
8. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ของบริษัท Memmert รุ่น 600
9. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
10. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
11. กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1) การเตรียมทีเฟอร์

ใช้เชื้อในรูปแบบสำเร็จจากบริษัท Wildness Family Naturals Lot. 4110208923 ทำการกระตุ้นหัวเชื้อโดยใช้น้ำมันยูเอชที รสจืด จากโครงการสวนจิตรดา มาให้ความร้อนโดยการต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้โปรตีนเสียรูป และทำลายของจุลินทรีย์ทั้งหมด (Tamine and Robinson 1999) ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จึงทำการใส่หัวเชื้อ (น้ำมัน 950 มิลลิลิตร ต่อ ผงเชื้อ 5 กรัม) จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นชั้นหนาและมีกลิ่นเปรี้ยว นำส่วนที่เป็นก้อน ไปปั่นให้เข้ากัน นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ขณะที่แช่ตู้เย็นกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ยังมีอยู่แต่น้อยลง) หัวเชื้อทีเฟอร์ที่ได้จะใช้เป็นหัวเชื้อในการทำทีเฟอร์ครั้งต่อไปได้ 7 ครั้ง ในทีเฟอร์ประกอบด้วยแบคทีเรีย และยีสต์ที่ยังมีชีวิต ตามคู่มือการใช้หัวเชื้อทีเฟอร์ผงของบริษัท Wildness Family Naturals

ใช้เมล็ดทีเฟอร์ และทำการกระตุ้นเมล็ดทีเฟอร์โดยใช้น้ำมันยูเอชที รสจืด จากโครงการสวนจิตรดา จากนั้นจึงนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นแยกเมล็ดทีเฟอร์ ที่เกิดจากการหมักนมได้โดยใช้ตะแกรงกรองและล้างด้วยน้ำเย็น ที่ถูกฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนที่จะนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงครั้งต่อไป

3.2.2) วิธีการสกัดสารสกัดทีเฟอร์ (ทีเฟอร์แรน) จากเมล็ดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์

- การสกัดสารสกัดทีเฟอร์ (ทีเฟอร์แรน) ที่อยู่ภายในเมล็ดทีเฟอร์ โดยการนำเมล็ดทีเฟอร์ ไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำเมล็ดทีเฟอร์มาใส่ในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ทำการผสมโดยใช้เครื่องเขย่าแบบรักษาอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงทันที และทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 16000 g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาผสมในในเอทานอลเย็นที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนที่เท่ากัน นำมาละลายในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงอีกครั้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Kamila,2004)

- การสกัดสารสกัดทีเฟอร์ (ทีเฟอร์แรน) ที่อยู่ภายในเคิร์ดทีเฟอร์ ไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำเคิร์ดทีเฟอร์มาใส่ในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ทำการผสมโดยใช้เครื่องเขย่าแบบรักษาอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงทันที และทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 16000 g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาผสมในในเอทานอลเย็นที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนที่เท่ากัน นำมาละลายในน้ำร้อนในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงอีกครั้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Kamila,2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3) การคัดแยกจุลินทรีย์จากสิวของผู้ทดลองเพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งโดยสารสกัดทีเฟอร์ และผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์

คัดเลือกหัวสิวที่มีลักษณะเป็นสะเก็ด หรือเป็นหัวขาวซึ่งไม่ได้รับอากาศ จากนั้นทำความสะอาดบริเวณรอบ ๆ หัวสิวด้วยแอลกอฮอล์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับเชื้อที่ผิวหนัง ใช้เข็มที่ฆ่าเชื้อแล้วทำการแกะสะเก็ดออกโดยใส่ลงไปใต้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อทำการเจือจางโดยการทดสอบนี้จะทำถึงที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} จากนั้นทำการปิเปตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้วิธีการสเปรทเพลท (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ข) จากนั้นทำการบ่มเชื้อเป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ในลักษณะของโคโลนี เมื่อครบกำหนดแล้วทำการแยกเอาโคโลนีเดี่ยว ๆ มาคัดแยก (streak) ลงในอาหารบิเฮชไออะการ์ (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) อีกครั้งเพื่อให้เชื้อที่ได้รับบริสุทธิ์ นำไปบ่มเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ มาลงในอาหารเยิงเอ็นเอ (NA) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.4) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง

เตรียมสารสกัดทีเฟอร์ตามวิธีที่ 3.2.2 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 (Kamila,2005) นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยวิธีการแพร่ผ่านวุ้น เตรียมอาหารบิเฮชไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง เตรียมอาหารบิเฮชไอ อะการ์ (TSB agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง และเตรียมอาหารบิเฮชไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากสิวของผู้ทดลอง ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยวิธีสเปรทเพลททิ้งไว้ให้แห้งจากนั้นนำสารสกัดทีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ใช้ในการทดลองมาปิเปตลงในกระดาษเปเปอร์ดิส (paper disk) โดยที่กระดาษ 1 แผ่นต่อความเข้มข้นหนึ่งระดับ แล้วนำมาวางในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจผลโดยการวัดการเกิดอินฮิบิชันโซน (inhibition zone) หรือ คูการเกิดเคลียร์โซน เปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก และกระดาษเปเปอร์ดิสที่ไม่มีสารซึ่งให้ผลเป็นลบ ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ กันต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนังโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ One- Way ANOVA และทำการหาความสัมพันธ์ของสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อกับสารสกัดทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติโดย Paired-Sample test (Kamila,2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนัง

เตรียมสารสกัดคีเฟอร์ตามวิธีที่ 3.2.2 ที่ระดับความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 และ 20 (Kamila,2005) นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยการแพร่ผ่านวุ้น เตรียมอาหารบิเฮชไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง เตรียมอาหารที่เฮชบี อะการ์ (TSB agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง และเตรียมอาหารบิเฮชไอ อะการ์ (BHI agar) (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากผิวหนังของผู้ทดลอง ที่ปริมาณเชื้อ 3×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธี McFarland ซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยวิธีสเปรทเพลททิ้งไว้ให้แห้งจากนั้นนำสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ใช้ในการทดลองมาปเปดลงในกระดาษเปเปอร์ดิส (paper disk) โดยที่กระดาษ 1 แผ่นต่อความเข้มข้นหนึ่งระดับ แล้วนำมาวางในอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจผลโดยการวัดการเกิดอินฮิบิชั่นโซน (inhibition zone) หรือ ดูการเกิดเคลียร์โซน เปรียบเทียบกับเตตราไซคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก และกระดาษเปเปอร์ดิสที่ไม่มีสารซึ่งให้ผลเป็นลบ ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ กันต่อการยับยั้งเชื้อผิวหนังโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ One- Way ANOVA และทำการหาความสัมพันธ์ของสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อกับสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติโดยPaired-Sample test (Kamila,2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อ โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดซึ่งให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์บริสุทธิ์ สารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ เตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวก กระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 4)



ตารางที่ 4 การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิค การแพร่ผ่านวุ้น (disc diffusion) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น วัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)			
	0	1	2	3
Dc	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
D1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	6.55 ^a
D2	0 ^b	3.33 ^a	3.33 ^a	3.33 ^a
D3	0 ^d	15.66 ^c	22.55 ^b	24.11 ^a
D4	0 ^d	6.55 ^c	10.77 ^b	12.99 ^a
D5	0 ^c	7.55 ^b	8.44 ^a	8.44 ^a
C+	30.10			
C-	0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Dc = ผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์บริสุทธิ์

D1 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

D2 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

D3 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

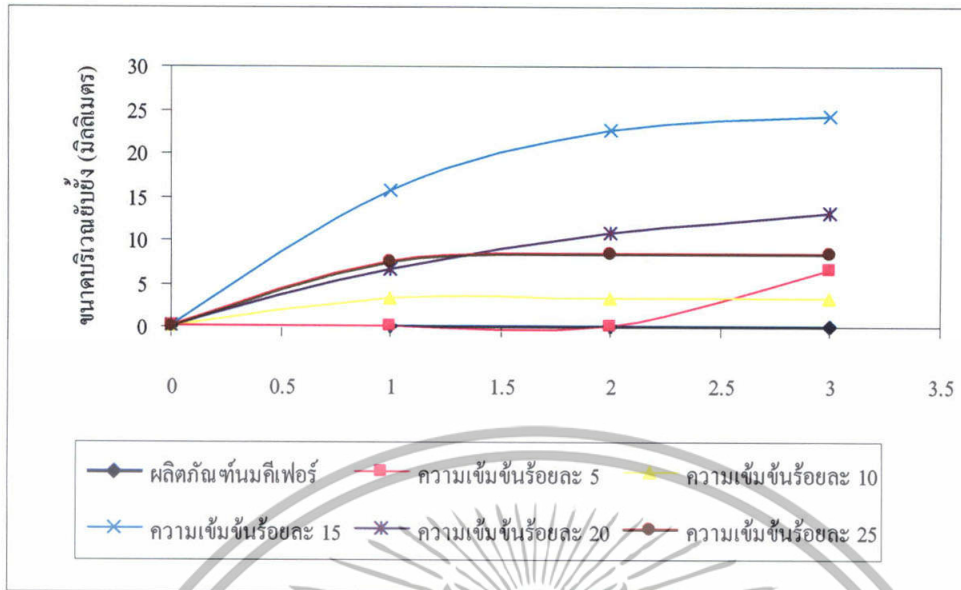
D4 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

D5 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเบเปอร์ติส ไม่มีสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 Time course ของการยับยั้ง โดยผลึกถ่านกัมมันต์เฟอร และสารสกัดคิเฟอรจากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 25) ต่อเชื้อ *S. aureus* เป็นระยะเวลา 3 วัน

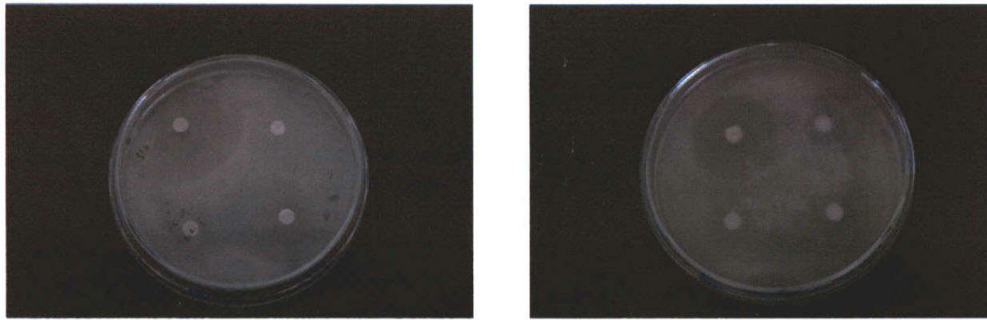
จากตารางที่ 4 และรูปที่ 16 ผลของผลึกถ่านกัมมันต์เฟอรและสารสกัดคิเฟอรที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* พบว่าผลึกถ่านกัมมันต์เฟอรที่ได้หลังจากการกรองเมดิคิเฟอรออกแล้ว ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน ผลของสารสกัดคิเฟอรจากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (D1) แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 17 (ก) โดยวัดขนาดบริเวณการยับยั้ง ได้เท่ากับ 6.55 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (D2) เมื่อทดสอบจะยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 1 โดยวัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 3.33 มิลลิเมตร หลังจากนั้นจะไม่มีการยับยั้งเพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 17 (ข) ซึ่งพบว่าในวันที่ 1, 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (D3) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 24.11 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 17 (ค) พบว่ามีความสอดคล้องกับระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (D4) คือ เมื่อทดสอบจะยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 12.99 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 17 (ง) พบว่าในทุกวันที่ทำการทดสอบจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 (D5) จะยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 โดยวัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 8.44 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 17 (จ) พบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อนำผลึกถ่านกัมมันต์เฟอรและ

เอ็กสแทรกต์เป็นเอ็กสแทรกต์ที่ส่งมอบให้กับการใช้งานเพื่อการค้าเท่านั้น เมื่อผู้ซื้อได้เพิ่มใบสั่งซื้อเอกสารการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดคิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลพบพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 16 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 15 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ ร้อยละ 20 25 10 และร้อยละ 5 ตามลำดับ ยกเว้นที่ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์ อัตราการเกิดบริเวณยับยั้งจะคงที่ที่ 0



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก

ข



ค

ง

รูปที่ 17 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดกึ่งเพื่อรังกหัวเชื้อผงสำเร็จ ณ. วันที่ 3 ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง) ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์บริสุทธิ์ และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วันเปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ เตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวก กระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 5)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น วัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)			
	0	1	2	3
Ec	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
F1	0 ^d	7.33 ^c	9.11 ^b	11.66 ^a
F2	0 ^d	4.00 ^c	17.22 ^b	21.66 ^a
F3	0 ^c	10.55 ^b	15.55 ^a	15.55 ^a
F4	0 ^c	4.77 ^b	7.22 ^a	7.22 ^a
F5	0 ^c	7.88 ^b	13.77 ^a	13.77 ^a
C+	29.99			
C-	0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Ec = ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์บริสุทธิ์

F1 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

F2 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

F3 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

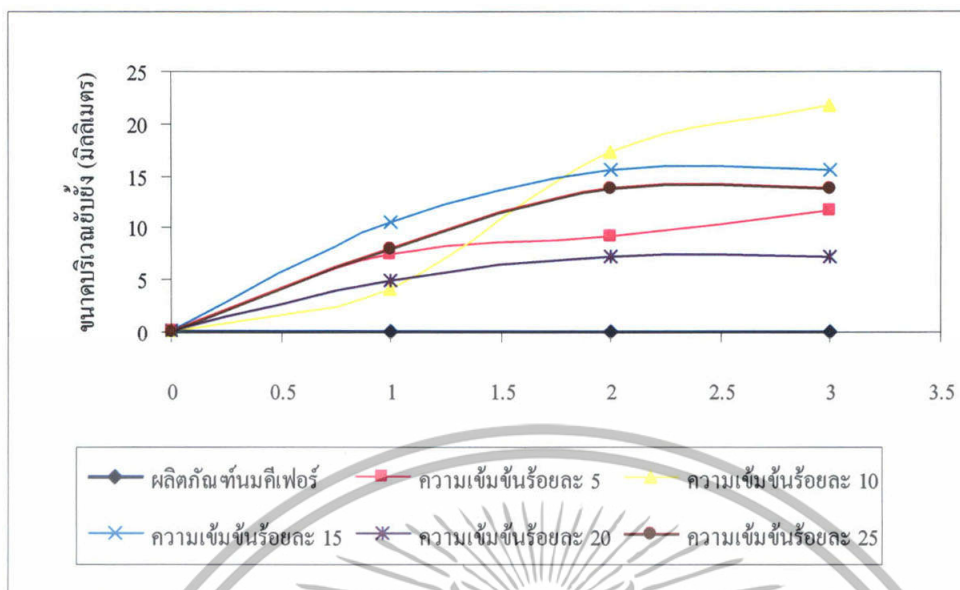
F4 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

F5 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเบเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



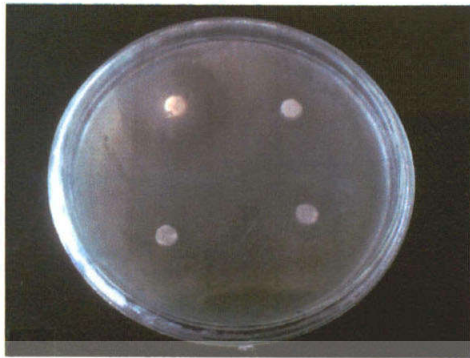
รูปที่ 18 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 25) ต่อเชื้อ *S. aureus* เป็นระยะเวลา 3 วัน

จากตารางที่ 5 และรูปที่ 18 ผลของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* พบว่าผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ที่ได้หลังจากการกรองเมดคีเฟอร์ออกแล้วไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน สำหรับสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (F1) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 11.66 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 19 (ก) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยจะมีความสอดคล้องกันกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (F2) กล่าวคือ จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 21.66 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 19 (ข) โดยพบว่าในทุกวันที่มีการทำการทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (F3) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 15.55 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 19 (ค) พบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกันกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (F4) และที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 (F5) กล่าวคือ จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 7.22 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 19 (ง) และ 13.77 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 19 (จ) ตามลำดับ เมื่อนำผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์มาทำการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

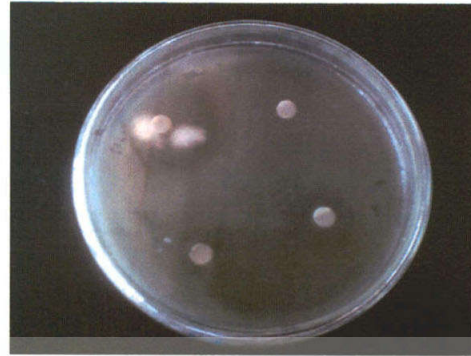
เฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวกพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 18 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ จะมีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งคงที่ที่ 0 ส่วนสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 10 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ ร้อยละ 15 25 5 20 ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก



ข



ค

ง



จ

รูปที่ 19 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยสารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ณ. วันที่ 3 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง) ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและ สารสกัดคิเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่มี ค่าความ เข้มข้นแตกต่างกัน ณ.วันที่ 3

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)	
	สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผง สำเร็จ	สารสกัดคิเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ
5	6.55	11.66
10	3.33	21.66
15	24.11	15.55
20	12.99	7.22
25	8.44	13.77
เตตราซัยคลินส์	30.10	29.99
เปปเปอร์ดีสก์ที่ไม่มีสารสกัด	0	0

หมายเหตุ

ค่า p value หมายถึงค่าที่ทดสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่าง

ค่า p value < 0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 99

ค่า p value อยู่ในช่วง $0.01 < p \text{ value} < 0.05$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ค่า p value > 0.05 = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

จากตารางที่ 6 เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการยับยั้ง ณ. วันที่ 3 ระหว่างสารสกัดคิเฟอร์ จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติพบว่าสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อ ผงสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 จะเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 24.11 มิลลิเมตร รองลงมา คือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 25 5 10 ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารสกัดคิเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 จะมีการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 21.66 มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 25 5 20 ตามลำดับ และเมื่อทำการ เปรียบเทียบในภาพรวม (ภาคผนวก ก) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 15 ของสารสกัดคิ เฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ จะเกิดบริเวณยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 10 ของสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ผลพบพบว่า เตตราซัยคลินส์ จะมีการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดคิเฟอร์ทั้งสองสาร จากการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาคผนวก ค) หลายกลุ่มด้วยกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ และ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติพบว่าทั้งสองสารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งค่าที่ได้เท่า 0.423

4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์และสารสกัดคิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์ และสารสกัดคิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดซึ่งให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์บริสุทธิ์, สารสกัดคิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ เตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวก กระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 7)



ตารางที่ 7: การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)				
	วัน	0	1	2	3
Dc		0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
D1		0 ^b	0 ^b	0 ^b	1.88 ^a
D2		0 ^b	4.88 ^b	7.22 ^a	7.22 ^a
D3		0 ^b	0 ^b	0 ^b	3.33 ^a
D4		0 ^c	6.77 ^b	8.11 ^a	8.11 ^a
D5		0 ^b	6.88 ^a	6.88 ^a	6.88 ^a
C+		30.10			
C-		0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Dc = ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์บริสุทธิ์

D1 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

D2 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

D3 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

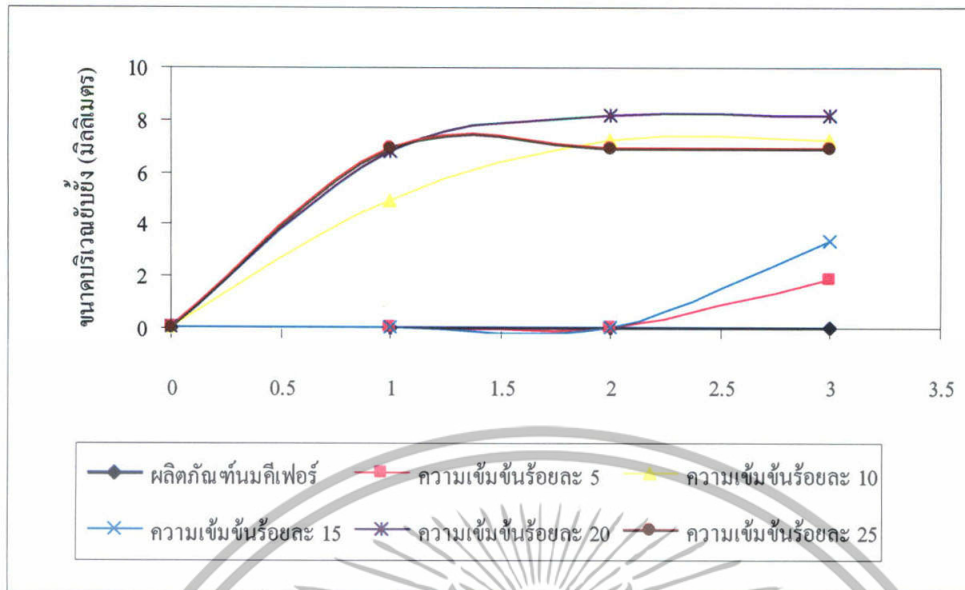
D4 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

D5 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเปเปอร์คิสไม่มีสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 20 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 25) ต่อเชื้อ *S. epidermidis* เป็นระยะเวลา 3 วัน

จากตารางที่ 7 และรูปที่ 20 ผลของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* พบว่าผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ที่ได้หลังจากการกรองเมดคีเฟอร์ออกแล้วไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน สำหรับสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (D1) พบว่าจะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 1.88 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 21 (ก) ซึ่งในวันที่ 0 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (D2) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 7.22 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 21 (ข) ซึ่งพบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (D3) พบว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* คือไม่เกิดการยับยั้งในวันที่ 0 ถึง 2 และในวันที่ 3 เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.33 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 21 (ค) ซึ่งในวันที่ 0 ถึง 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (D4) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 8.11 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 21 (ง) ซึ่งพบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 (D5) จะ

เยื่อสารนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการใช้งานเพื่อการค้า โดยมีผู้ผลิตที่สนใจจะยื่นขอขึ้นทะเบียนการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 1 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 6.88 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 7 และรูปที่ 21 (จ) โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เมื่อนำผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวกพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 20 การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* โดยสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 20 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงที่สุด รองลงมาคือ ร้อยละ 10 25 5 และร้อยละ 15 ตามลำดับ ยกเว้นที่ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ จะมีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งคงที่ที่ 0



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก

ข



ค

ง



จ

รูปที่ 21 การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* โดยสารสกัดทีเพอร์จากเชื้อผงสำเร็จ ณ. วันที่ 3 ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง) ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดซึ่งให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์บริสุทธิ์ สารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วันเปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ เตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวก กระจายเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 8)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. epidermis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกันในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น วัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)			
	0	1	2	3
Ec	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
F1	0 ^c	2.33 ^b	2.33 ^b	2.55 ^a
F2	0 ^b	0.11 ^a	0.11 ^a	0.11 ^a
F3	0 ^c	3.33 ^b	3.33 ^b	3.88 ^a
F4	0 ^c	2.33 ^b	2.55 ^a	2.55 ^a
F5	0 ^c	4.77 ^b	4.77 ^b	6.88 ^a
C+	30.66			
C-	0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Ec = ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์บริสุทธิ์

F1 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

F2 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

F3 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

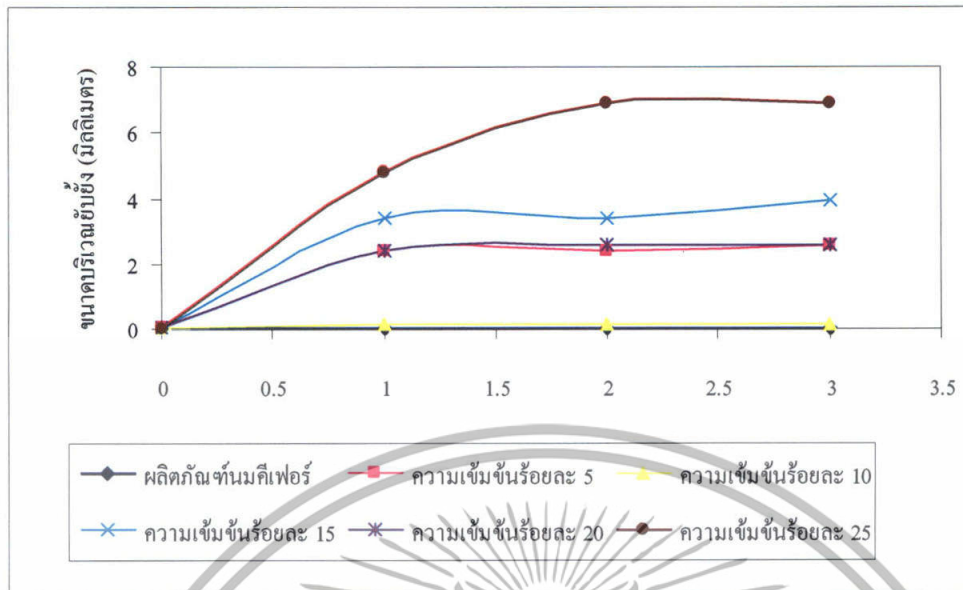
F4 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

F5 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเปเปอร์คิสก์ที่ไม่มีสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 22 Time course ของการยับยั้งโดยผลึกก้นหมึกเฟอร์ และสารสกัดฟีลอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 25) ต่อเชื้อ *S. epidermidis* เป็นระยะเวลา 3 วัน

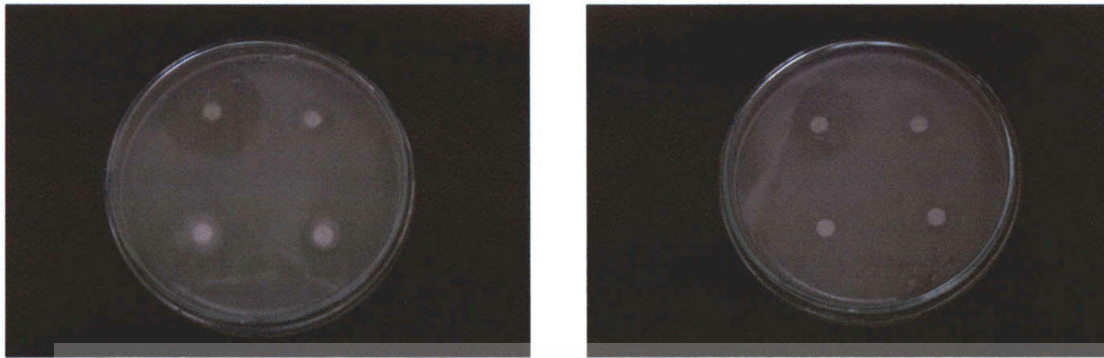
จากตารางที่ 8 และรูปที่ 22 ผลของผลึกก้นหมึกเฟอร์และสารสกัดฟีลอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* พบว่าผลึกก้นหมึกเฟอร์ที่ได้หลังจากการกรองเมดิคฟีลอร์ออกแล้วไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน สำหรับสารสกัดฟีลอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (F1) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 2.55 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 23 (ก) ซึ่งพบว่า ในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (F2) โดยจะยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 1 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 0.11 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 23 (ข) ซึ่งพบว่าในวันที่ 1 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (F3) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 3.88 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 23 (ค) ซึ่งในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (F4) จะเกิดการยับยั้งขึ้นในวันที่ 0 ถึง 3 โดยหยุดการยับยั้งในวันที่ 2 โดยมีขนาดการยับยั้งที่ 2.55 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 23 (ง) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 (F5) การยับยั้งจะเกิดได้ดี

ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดในวันที่ 3 โดยวัดขนาดบริเวณการขยับยั้งได้เท่ากับ 6.88 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 8 และรูปที่ 23 (จ) ซึ่งในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อนำผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราไซคลินส์ที่ให้ผลพบพบว่า เตตราไซคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 22 การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* โดยสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 25 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ ร้อยละ 15 5 10 20 ตามลำดับ ยกเว้นผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ จะมีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งคงที่ที่ 0 เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก

ข



รูปที่ 23 การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* โดยสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ณ. วันที่ 3 ที่ ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง) ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดคิเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่าน รูนที่มีค่าความเข้มข้นแตกต่างกัน ณ. วันที่ 3

ความเข้มข้น	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)	
	สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ	สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ
ร้อยละ 5	1.88	2.55
ร้อยละ 10	7.22	0.11
ร้อยละ 15	3.33	3.88
ร้อยละ 20	8.11	2.55
ร้อยละ 25	6.88	6.88
เตตราซัยคลินส์	30.10	30.66
เปปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารสกัด	0	0

หมายเหตุ

ค่า p value หมายถึงค่าที่ทดสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่าง

ค่า p value < 0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 99

ค่า p value อยู่ในช่วง 0.01 < p value < 0.05 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ค่า p value > 0.05 = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

จากตารางที่ 9 เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการยับยั้ง ณ. วันที่ 3 ระหว่างสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ พบว่าสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 จะเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 8.11 มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 25 15 5 ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 จะมีการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 6.88 มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 5 20 15 ตามลำดับ และเมื่อทำการเปรียบเทียบในภาพรวม (ภาคผนวก ก) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 20 ของสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ จะเกิดบริเวณยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 10 ของสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ผลพบพบว่า เตตราซัยคลินส์ จะมีการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดทีเฟอร์ทั้งสองสาร จากการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาคผนวก ก) หลายกลุ่มด้วยกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดทีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ และ สารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติพบว่าทั้งสองสาร ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งค่าที่ได้เท่ากับ 0.412

4.5 การคัดแยกจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิวเพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งโดยสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์

คัดเลือกหัวสิวที่มีลักษณะเป็นสะเก็ด หรือเป็นหัวขาวซึ่งไม่ได้รับอากาศ ทำให้เชื้อที่ได้บริสุทธิ์ เลือกลงโคโลนีเดี่ยวมาทดสอบโดยการย้อมแกรม (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) (ภาพที่ 16)



รูปที่ 24 แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อที่แยกได้จากสิวของผู้ทดลองเมื่อทำการย้อมแกรม

จากการทดสอบการคัดแยกจุลินทรีย์ที่ได้จากสิวของผู้ทดลองพบว่า ลักษณะโคโลนีที่ได้มีลักษณะเป็นสีขาวเจริญได้ดีอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเมื่อทำการศึกษาโดยการย้อมแกรม (Vernam, 1994) (ภาคผนวก ก) ผลปรากฏว่าลักษณะที่ส่องกล้องจุลทรรศน์ลักษณะโคโลนีติดสีม่วง มีลักษณะเป็นลูกกลม (cocci) เรียงเป็นเส้นสาย หรือ ติดกันเป็นคู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ โดยทำการทดสอบกับเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดซึ่งให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์บริสุทธิ์, สารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วันเปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ เตตราไซคลินส์ที่ให้ผลบวก กระจายเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 10)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น วัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)			
	0	1	2	3
Dc	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
D1	0 ^c	11.33 ^b	11.66 ^a	11.66 ^a
D2	0 ^a	3.33 ^a	3.33 ^a	3.33 ^a
D3	0 ^c	4.55 ^b	7.44 ^a	7.44 ^a
D4	0 ^b	2.88 ^a	2.88 ^a	2.88 ^a
D5	0 ^c	9.88 ^b	17.66 ^a	17.66 ^a
C+	30.10			
C-	0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Dc = ผลิตภัณฑ์นมคิเฟอร์บริสุทธิ์

D1 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

D2 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

D3 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

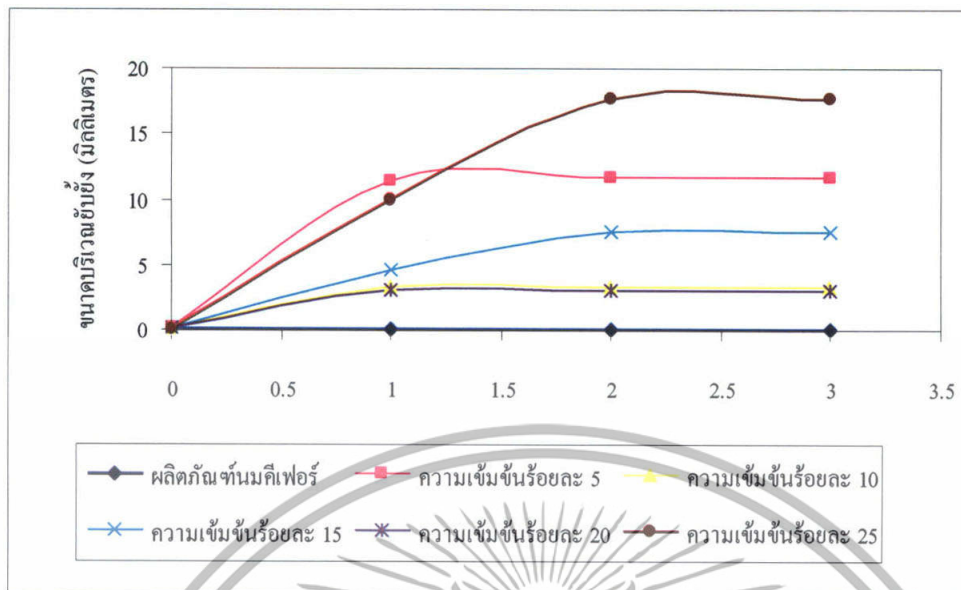
D4 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

D5 = สารสกัดคิเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเปเปอร์ดิสไม่มีสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 25 Time course ของการยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 25) ต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว เป็นระยะเวลา 3 วัน

จากตารางที่ 10 และรูปที่ 25 ผลของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว พบว่าผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ที่ได้หลังจากการกรองเมล็ดคีเฟอร์ออกแล้ว ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวเมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน สำหรับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (D1) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 11.66 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 10 และรูปที่ 26 (ก) ซึ่งพบว่าวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับวันที่ 1 และ 0 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (D2) ไม่เกิดการยับยั้งขึ้นในวันที่ 0 หลังจากนั้นในวันที่ 1 ถึง 3 เกิดขนาดบริเวณยับยั้งที่ 3.33 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 10 และรูปที่ 26 (ข) ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (D3) จะยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 7.44 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 10 และรูปที่ 26 (ค) ซึ่งพบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (D4) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 1 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 2.88 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 10 และรูปที่ 26 (ง) พบว่าในวันที่ 1 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับ

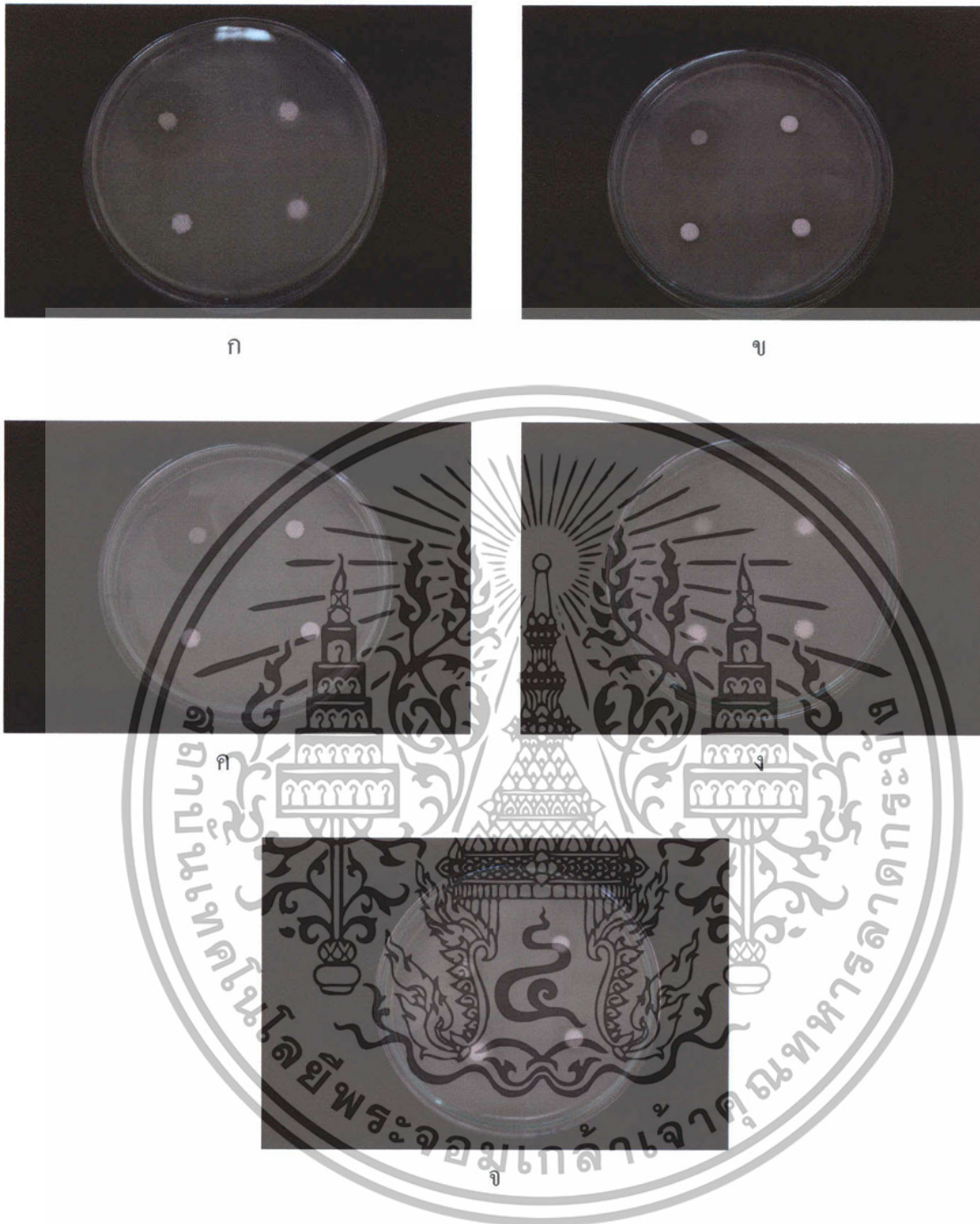
เมื่อการหมักเชื้อยีสต์ที่เจริญบนเมล็ดคีเฟอร์นั้นเพื่อใช้ในการศึกษาหาผลของการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว การหมักเชื้อยีสต์ที่เจริญบนเมล็ดคีเฟอร์นั้นเพื่อใช้ในการศึกษาหาผลของการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว การหมักเชื้อยีสต์ที่เจริญบนเมล็ดคีเฟอร์นั้นเพื่อใช้ในการศึกษาหาผลของการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นร้อยละ 25 (D5) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 2 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 17.66 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 10 และรูปที่ 26 (จ) พบว่าในวันที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อนำผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลพบพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 25 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 25 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ ร้อยละ 5 15 10 20 ตามลำดับขกเว้นผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์จะมีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งคงที่ที่ 0



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 26 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวโดยสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ณ. วันที่ 3 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง) ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว

การศึกษาหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์ และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ โดยทำการทดสอบกับเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว เพื่อหาความเข้มข้นน้อยที่สุดซึ่งให้เกิดบริเวณยับยั้งมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้ ผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์บริสุทธิ์ สารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 วัดการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นเวลา 3 วันเปรียบเทียบกันในทุกระดับความเข้มข้นและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ เติตราชัยคลินิกส์ที่ให้ผลบวก กระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารที่ให้ผลลบ เพื่อนำมาทดสอบทางสถิติ (ตารางที่ 11)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น วัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)			
	0	1	2	3
Ec	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
F1	0 ^b	3.33 ^a	3.33 ^a	3.33 ^a
F2	0 ^a	2.88 ^a	2.88 ^a	2.88 ^a
F3	0 ^b	2.77 ^a	2.77 ^a	2.77 ^a
F4	0 ^c	2.88 ^b	2.88 ^b	3.55 ^a
F5	0 ^c	6.22 ^b	6.22 ^b	12.44 ^a
C+	30.66			
C-	0			

ในแต่ละแถวค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ

Ec = ผลิตภัณฑ์นมทีเฟอร์บริสุทธิ์

F1 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 5

F2 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 10

F3 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 15

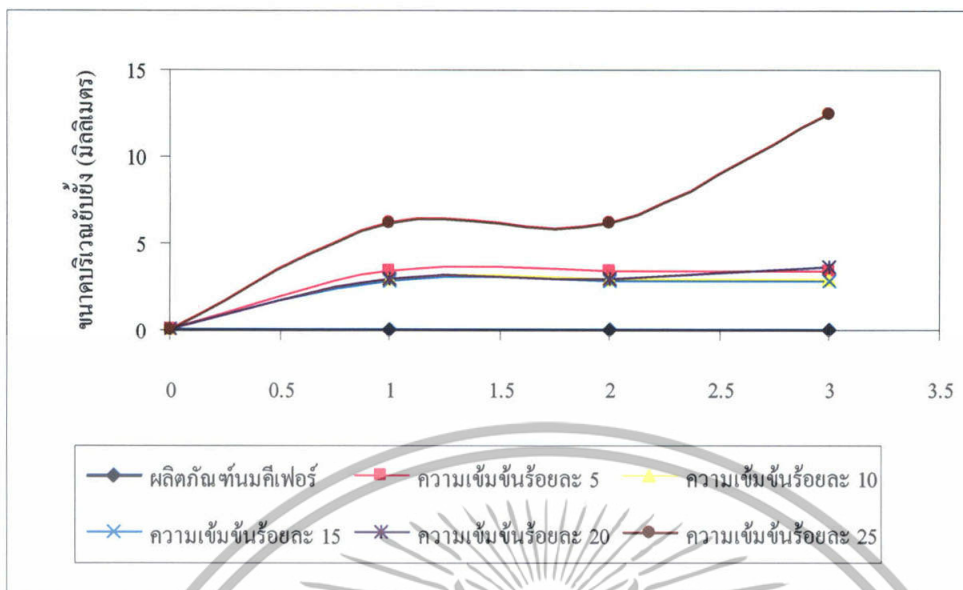
F4 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 20

F5 = สารสกัดทีเฟอร์ความเข้มข้นร้อยละ 25

C+ = เตตราซัยคลินส์

C- = กระดาษเปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 27 Time course ของการยับยั้งโดยผลผลิตก้านมกึเฟอร์ และสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25) ต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวเป็นระยะเวลา 3 วัน

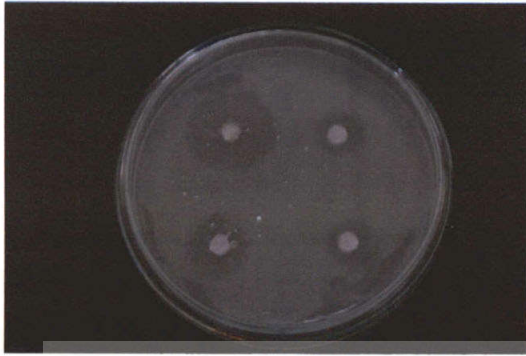
จากตารางที่ 11 และรูปที่ 27 ผลของผลผลิตก้านมกึเฟอร์และสารสกัดคิเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว พบว่าผลผลิตก้านมกึเฟอร์ที่ได้หลังจากการกรองเมดิเฟอร์ออกแล้วไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ ที่ก่อให้เกิดสิวเมื่อทดสอบเป็นเวลา 3 วัน ผลของสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (F1) แสดงดังตารางที่ 11 และรูปที่ 28 (ก) และร้อยละ 10 (F2) แสดงดังตารางที่ 11 และรูปที่ 28 (ข) ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 (F3) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 1 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 2.77 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 11 และรูปที่ 28 (ค) โดยในวันที่ 1 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 (F4) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 3.55 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 11 และรูปที่ 28 (ง) ซึ่งในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 (F5) จะเกิดการยับยั้งได้ดีที่สุดในวันที่ 3 วัดขนาดบริเวณการยับยั้งได้เท่ากับ 12.44 มิลลิเมตร แสดงดังตารางที่ 11 และรูปที่ 28 (จ) ซึ่งในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 0 และ 3 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อนำผลผลิตก้านมกึเฟอร์

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

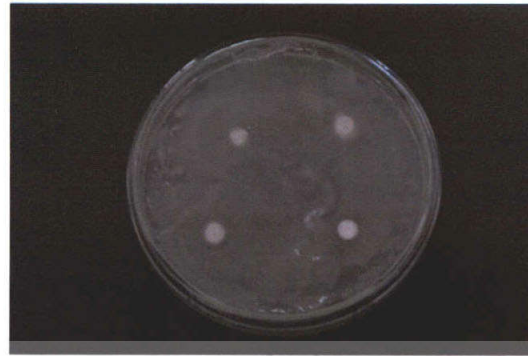
นมคีเฟอร์และสารสกัดคีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติทุกระดับความเข้มข้น มาเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลบวกพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งเชื้อ ที่ก่อให้เกิดสิวได้ดีกว่าในทุกระดับความเข้มข้น และจากรูปที่ 27 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ พบว่ามีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแนวโน้มของความเข้มข้นร้อยละ 25 มีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุด รองลงมาคือ ร้อยละ 20 15 20 ตามลำดับ ยกเว้นที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ของสารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ จะมีอัตราการเกิดบริเวณยับยั้งคงที่ที่ 0 เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์นมคีเฟอร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก



ข



ค



ง



จ

รูปที่ 28 การยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ สำเร็จ
 ณ. วันที่ 3 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ก) ร้อยละ 10 (ข) ร้อยละ 15 (ค) ร้อยละ 20 (ง)
 ร้อยละ 25 (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและ สารสกัดคิเฟอร์จาก เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้น ที่มีค่าความเข้มข้นแตกต่างกัน ณ. วันที่ 3

ความเข้มข้น	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)	
	สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ	สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ
ร้อยละ 5	11.66	3.33
ร้อยละ 10	3.33	2.88
ร้อยละ 15	7.44	2.77
ร้อยละ 20	2.88	3.55
ร้อยละ 25	17.66	12.44
เทตราซัยคลินส์	30.10	30.66
เปเปอร์ดิสก์ที่ไม่มีสารสกัด	0	0

หมายเหตุ

ค่า p value หมายถึงค่าที่ทดสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่าง

ค่า p value < 0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 99

ค่า p value อยู่ในช่วง $0.01 < p \text{ value} < 0.05$ = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

ค่า p value > 0.05 = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

จากตารางที่ 12 เมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการยับยั้ง ณ. วันที่ 3 ระหว่างสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ พบว่าสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 จะเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 17.66 มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 15 10 20 ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 จะมีการเกิดบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 12.44 มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 5 15 10 ตามลำดับ และเมื่อทำการเปรียบเทียบในภาพรวม (ภาคผนวก ค) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 ของสารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ จะเกิดบริเวณยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 ของสารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ผลพบพบว่า เตตราซัยคลินส์ จะมีการยับยั้งสูงกว่าสารสกัดคีเฟอร์ทั้งสอง จากการทดลองพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ภาคผนวก ค) หลายกลุ่มด้วยกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ และ สารสกัดคีเฟอร์จากจุลินทรีย์ธรรมชาติพบว่าทั้งสองสาร ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งค่าที่ได้เท่ากับ 0.133



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเรื่องผลของสารสกัดฟีเฟอร์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่า เมื่อทดสอบการยับยั้งกับเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 15 ของสารสกัดฟีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งที่สูงที่สุดที่ 24.11 มิลลิเมตร ซึ่งผลการยับยั้งนี้ดีกว่าการใช้สารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสารสกัดทั้งสองสามารถใช้แทนกันได้ในการทดสอบ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก พบว่า เตตราซัยคลินส์ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าสารสกัดฟีเฟอร์ทั้งสอง โดยขนาดการยับยั้งเท่ากับ 30.11 มิลลิเมตร และเมื่อทำการทดสอบการยับยั้งกับเชื้อ *S. epidermidis* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 ของสารสกัดฟีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งที่สูงที่สุดที่ 8.11 มิลลิเมตร ซึ่งผลการยับยั้งนี้ดีกว่าการใช้สารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสารสกัดทั้งสองสามารถใช้แทนกันได้ในการทดสอบ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก พบว่า เตตราซัยคลินส์ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าสารสกัดฟีเฟอร์ทั้งสอง โดยขนาดการยับยั้งเท่ากับ 30.11 มิลลิเมตร สุดท้ายเมื่อทำการทดสอบการยับยั้งกับเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 25 ของสารสกัดฟีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งที่สูงที่สุดที่ 17.66 มิลลิเมตร ซึ่งผลการยับยั้งนี้ดีกว่าการใช้สารสกัดฟีเฟอร์ที่ได้จากธรรมชาติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสารสกัดทั้งสองสามารถใช้แทนกันได้ในการทดสอบ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวก พบว่า เตตราซัยคลินส์ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าสารสกัดฟีเฟอร์ทั้งสอง โดยขนาดการยับยั้งเท่ากับ 30.10 มิลลิเมตร จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากหัวเชื้อผงสำเร็จสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ในทุกเชื้อที่ทำการทดสอบ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเตตราซัยคลินส์ที่ให้ผลเป็นบวกแล้วพบว่า เตตราซัยคลินส์สามารถยับยั้งได้ดีกว่าสารสกัดจากหัวเชื้อผงสำเร็จ ในการทดสอบเรื่องความสัมพันธ์ของสารสกัดฟีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จและสารสกัดฟีเฟอร์จากธรรมชาติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันซึ่งสามารถใช้แทนกันได้

เอกสารอ้างอิง

- กำเนิด สุภังวงษ์. 2534. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ธารรัตน์ สุภศิริ. 2548. Probiotic: **แบคทีเรียเพื่อสุขภาพ**. วสารวิทยาศาสตร์. 56(6): 357-360.
- นภา โล่ห์ทอง. 2534 **กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต** . พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- รศ.พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2550 **ยาสิวจากเปลือกมังคุด หยุดเชื้อโรคตัวก่อสิ่ว** . คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- สุธี เวคะวากยานนท์ และวัชรีย์ คุณกิตติ. **เทคนิคการตั้งตำรับยา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น : โรงพิมพ์ พระธรรมขันธ์, 2541 : 178-185.
- AOAC.2000. **Official Method of Analysis: Food Composition; Additive; Natural Comtaminants**. 17th ed. Maryland, U.S.A.
- Edward R. Farnworth, **Handbook of fermented functional foods 2003**
- Ibrahim Hanna, 2006. **Skin nourishing and moisturizing cream**. Paten Application Publication : United States
- Kamila Leite Rodrigues,2004, **Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract** International Journal of Antimicrobial Agents
- Macrae, R., Robison, R.K. and Sadler, M.J. 1993. Encyclopaedia of Food Science. **Food technology and Nutrition**, pp. 1804-1808
- Mee-Young Lee. 2007. **Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model**.United State
- Micheli L, Uccelletti D, Palleschi C, et al. **Isolation and characterisation of a ropy lactobacillus strain producing the exopolysaccharide quefiran**. Appl Microb Biotech 1999;53:69–74.
- Nakazawa,Yuji. And Hosono, Akiyoshi. 1992. **Functions of fermented milk** :challenges for the health science. London : Elsevier Applied Science
- Riviere, J. 1977. **Industrial Applications of Microbiology**. Translated and edited by M. O. Moss and J. E. Smith. Surrey University Press, London.
- Tamine, A. Y. Robinson, R.K. 1999. **Yoghurt : science and technology**. Cambridge : Woodhead

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Teknotext. 1995. **Kefir. Dairy processing handbook.** Pp. 259.

Varnam, A. H. and J. P. Sutherland. 1994. **Milk and Milk Products.** Chapman and Hall,

London. อ้างถึงใน สุริย์ นานาสมบัติ. 2539. เทคโนโลยีของนมและผลิตภัณฑ์นม.

กรุงเทพ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ

ทหารลาดกระบัง

www.mckeogh.googlepages.com/

www.foodsciencecentral.com/recordimages

<http://www.school.net.th>

www.healthybuddyshop.com

www.bangkokbiznews.com

www.cosmeacs.com

www.clinicneo.co.th

www3.easywebtime.com

www.geocities.com

chswab.lrl.k12.nj.us

<http://www.blackwellpublishing.com>

<http://www.raw-milk-facts.com>

<http://www.images.google.co.th>

<http://www.nsrui.ac.th>

<http://www.newsimg.bbc.co.uk>

<http://www.wema.com>

<http://www.mayskin.blogspot.com>

<http://www.cpe15.com>

<http://www.202.129.59.165/chai/47162/picture/5.jpg>

<http://www.inderm.go.th>

<http://www.rcopt.org>

<http://www.km.neo-2.net>

<http://www.irpus.org>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารพิเศษไออะการ์ (BHI agar) (Varnam, 1994)

ส่วนประกอบ

Medium 1

Calf brain infusion	200	กรัม
Beef heart infusion	250	กรัม
Proteose peptone หรือ Polypeptone	10	กรัม
NaCl	5	กรัม
Na ₂ HPO ₄	2.5	กรัม
Dextrose	2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนละลาย แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้ายเท่ากับ 7.2-7.6

Medium 2

Brain heart infusion	6	กรัม
Peptic digest of animal tissue	6	กรัม
NaCl	5	กรัม
Dextrose	3	กรัม
Pancreatic digest of gelatin	14.5	กรัม
Na ₂ HPO ₄	2.5	กรัม

1. ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนโดยต้ม 1 นาทีเพื่อให้ละลายอย่างสมบูรณ์ แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พีเอชสุดท้ายเท่ากับ 7.2 ถึง 7.6
2. ในการเตรียม Brain Heart Infusion Agar ให้เติมวุ้น 15 กรัมลงใน Brain Heart Infusion Broth ปริมาตร 1 ลิตร ให้ความร้อนจนวุ้นละลาย แบ่งใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหาร Nutrient agar (NA) (Varnam, 1994)

การเตรียม nutrient agar 300 มล. โดย nutrient agar มีสูตรเหมือน nutrient broth ต่างกันที่เติม agar

beef extract	3 กรัม
peptone	5 กรัม
agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มล.

1. ให้คำนวณว่าถ้าต้องการเตรียมอาหาร NA 300 มล. ต้องใช้สารแต่ละอย่างกี่กรัม ซึ่งสารตามที่ต้องการ
2. ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 300 มล. โดยให้ละลายอุ่นก่อนแล้วจึงใส่ส่วนประกอบอื่นๆคนให้ละลาย แล้วต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน การสังเกตว่าละลายหมดหรือไม่ให้สังเกตดูจากการเอาแท่งแก้วจุ่มลงไป ถ้ามีเม็ดๆเกาะติดแท่งแก้วขึ้นมาแสดงว่าละลายไม่หมด ถ้าละลายหมด media จะใส ไม่มีเม็ดอุ่นเกาะตามภาชนะหรือแท่งแก้ว การเตรียมอาหารที่มี agar ถ้าละลาย agar ไม่หมด จะมีผลทำให้ อาหารบางหลอด หรือบาง plate ไม่แข็งตัว และมีบางหลอด หรือบาง plate แข็งเกินไป
3. ปรับ pH 7.0 + 0.2 เช่นเดียวกับ NB
4. ตวงอาหาร 100 มล. บรรจุลงในขวด อีก 200 มล. ใส่ใน test tube โดยนำออก 2 หลอดแยกออกใส่ rack ต่างหากเพื่อทำ deep tube นอกนั้นใส่ rack เดียวกัน เพื่อทำ slant
5. ปั่นสำลีใส่ปากขวดและหลอดใส่อาหาร
6. เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้ว ให้นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที (ตามวิธีการในบทปฏิบัติการที่ 2)
7. ให้นำ NB และ NA เก็บไว้อย่างละ 1 หลอด ไม่ต้องเอาเข้าเครื่อง autoclave
8. เมื่อเตรียมอาหารเรียบร้อยแล้ว ทำความสะอาดภาชนะและเครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย้อมแกรม (Varnam, 1994)

สีและสารละลายที่ใช้ทั้งหมด

1. Crystal violet
2. สารละลายไอโอดีน
3. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%
4. Safranin
5. น้ำกลั่น

วิธีการเตรียมสีทั้งหมดสามารถดูได้ตอนท้ายของหน้านี้

วิธีการย้อมแกรม

1. เชื้อเชื้อที่ต้องการย้อมลงบนสไลด์ที่สะอาด ทิ้งให้แห้ง จากนั้นตรึงตัวเซลล์ด้วยการผ่านเปลวไฟ (ระวังเซลล์จะแตกตายก่อนด้วย) การตรึงเซลล์จะช่วยให้เซลล์แห้งติดกับแผ่นกระจกสไลด์
2. หยด Ammonium oxalate crystal violet บนเชื้อที่ smear นานประมาณ 1 - 2 นาที แล้วเทสีทิ้ง
3. หยดสารละลายไอโอดีนตามลงไปนานประมาณ 2 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ย้อมติดสีได้ดีขึ้น
4. ขั้นตอนนี้เรียกว่า Decolorized โดยการล้างสีด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% นาน 30 วินาที แล้วจึงตามด้วยน้ำกลั่น
5. หยดสี Safranin บนเชื้อนานประมาณ 15-30 วินาที ล้างสีด้วยน้ำ แล้วจึงมองเซลล์ผ่านทางกล้องจุลทรรศน์

การเตรียมสีในการย้อมแกรม

1. Ammonium oxalate crystal violet

เราจะต้องเตรียมสารละลาย Gram's crystal violet และ Ammonium oxalate ผสมเข้าด้วยกัน โดยวิธีการเตรียมทำตามขั้นตอนต่อไปนี้

- 1.1 เตรียม Gram's crystal violet

- Crystal violet 2.0 กรัม
- เอทิลแอลกอฮอล์ 20.0 มิลลิลิตร

ให้ทำการละลาย Crystal violet ในเอทิลแอลกอฮอล์

- 1.2 เตรียม Ammonium oxalate

- Ammonium oxalate , C.P 0.8 กรัม
- น้ำกลั่น 80.0 มิลลิลิตร

ละลาย Ammonium oxalate ในน้ำกลั่น

เมื่อได้ทั้ง Gram's crystal violet และ Ammonium oxalate แล้ว จากนั้นให้ผสมสารละลายทั้งสองเข้า

ด้วยกันและคนให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารละลายไอโอดีน

- Iodine , C.P 1.0 กรัม
- Potassium Iodide, C.P (KI) 2.0 กรัม
- น้ำกลั่น 300.0 มิลลิลิตร

ผสม Iodine และ Potassium Iodide ในโกร่ง ใช้สากบดให้ละเอียด แล้วจึงค่อยๆเติมน้ำกลั่นลงไป ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกับน้ำน้ำกลั่น

3. Safranin

- Safranin 0.25 กรัม
- เอทิลแอลกอฮอล์ 10.00 มิลลิลิตร
- น้ำกลั่น 100.00 มิลลิลิตร

ละลาย Safranin ในเอทิลแอลกอฮอล์ แล้วจึงเติมน้ำกลั่น และทำการคนให้เข้ากัน จากนั้นจึงกรองผ่านกระดาษกรองเอาแต่ส่วนที่เป็นของเหลวสีแดงไปใช้

การเตรียมอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) (Varnam, 1994)

วิธีการเตรียม Trypticase Soy Agar

เตรียมอาหาร Trypticase Soy Agar ข่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นถึง 50 องศาเซลเซียส defibrinated sheep blood ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในอาหาร TSA 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทอาหาร 20 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อขนาด 15x100 มิลลิเมตร (สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปได้)

ส่วนประกอบ

Tryptone	10	กรัม
NaCl	0,10,30,60,80 และ 100	กรัม
น้ำกลั่น	1	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ 1ข : การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความ เข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.66	17.00	6.55
1.0	0	0	0	0	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33
1.5	0	0	0	0	11.33	16.66	19.00	15.66	19.00	26.33	22.33	22.55	18.33	29.00	25.00	24.11
2.0	0	0	0	0	0	2.66	17.00	6.55	22.66	0	9.66	10.77	25.00	5.66	8.33	12.99
2.5	0	0	0	0	10.33	12.33	0	7.55	12.00	9.00	4.33	8.44	12.00	9.00	4.33	8.44
T	30.10															
No	0															

ตารางที่ 2ข : การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	8.00	14.00	0	7.33	11.00	16.33	0	9.11	22.33	0	12.66	11.66
1.0	0	0	0	0	12.00	0	0	4.00	26.33	25.33	0	17.22	25.66	26.33	13.00	21.66
1.5	0	0	0	0	21.33	0	10.33	10.55	15.33	20.00	11.33	15.55	15.33	20.00	11.33	15.55
2.0	0	0	0	0	14.33	0	0	4.77	12.00	9.66	0	7.22	12.00	9.66	0	7.22
2.5	0	0	0	0	12.00	11.66	0	7.88	12.00	11.66	0	13.77	12.00	11.66	0	13.77
t	29.99															
no	0															

ตารางที่ 3ข : การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. epidermidis* ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.66	0	0	1.88
1.0	0	0	0	0	14.66	0	0	4.88	14.66	7.00	0	7.22	14.66	7.00	0	7.22
1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.00	3.33
2.0	0	0	0	0	11.33	9.00	0	6.77	11.33	9.00	4.00	8.11	11.33	9.00	4.00	8.11
2.5	0	0	0	0	10.33	5.33	5.00	6.88	10.33	5.33	5.00	6.88	10.33	5.33	5.00	6.88
t	30.10															
no	0															

ตารางที่ 4ข : การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อ *S. epidermidis* ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	7.00	0	0	2.33	7.66	0	0	2.55	7.66	0	0	2.55
1.0	0	0	0	0	0.33	0	0	0.11	0.33	0	0	0.11	0.33	0	0	0.11
1.5	0	0	0	0	10.00	0	0	3.33	10.00	0	0	3.33	10.33	0.33	1.00	3.88
2.0	0	0	0	0	7.00	0	0	2.33	7.66	0	0	2.55	7.66	0	0	2.55
2.5	0	0	0	0	8.00	1.00	5.33	4.77	8.00	1.00	5.33	4.77	11.66	4.66	4.33	6.88
t	30.66															
no	0															

ตารางที่ 5ข : การยับยั้งของสารสกัดคิเฟอร์และผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ที่ได้จากหัวเชื้อผงสำเร็จ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	8.00	14.00	12.00	11.33	15.33	9.33	10.33	11.66	15.33	9.33	10.33	11.66
1.0	0	0	0	0	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33
1.5	0	0	0	0	0	0	13.66	4.55	14.00	0	8.33	7.44	14.00	0	8.33	7.44
2.0	0	0	0	0	0	0	8.66	2.88	0	0	8.66	2.88	0	0	8.66	2.88
2.5	0	0	0	0	17.66	12.00	0	9.88	22.66	20.00	10.33	17.66	22.66	20.00	10.33	17.66
t	30.10															
no	0															

ตารางที่ ๖: การยับยั้งของสารสกัดทีเฟอร์และผลิตภัณฑ์ทีเฟอร์ที่ได้จากเชื้อธรรมชาติ ที่มีผลต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนัง ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในระยะเวลา 3 วัน แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	ขนาดบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)															
	วันที่ 0				วันที่ 1				วันที่ 2				วันที่ 3			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
นม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5	0	0	0	0	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33	0	0	10.00	3.33
1.0	0	0	0	0	0	0	8.66	2.88	0	0	8.66	2.88	0	0	8.66	2.88
1.5	0	0	0	0	8.33	0	0	2.77	8.33	0	0	2.77	8.33	0	0	2.77
2.0	0	0	0	0	8.66	0	0	2.88	8.66	0	0	2.88	10.66	0	0	3.55
2.5	0	0	0	0	9.33	9.33	0	6.22	9.33	9.33	0	6.22	10.66	10.33	16.33	12.44
t	30.66															
no	0															

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ค1: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3	.0000	
2.00	3	.0000	
3.00	3		6.5500
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค2: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		3.3300
2.00	3		3.3300
3.00	3		3.3300
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค3: การยับยั้งของ สารสกัดสีเฟอร่าจากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	3	.0000			
1.00	3		15.6600		
2.00	3			22.5500	
3.00	3				24.1100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค4: การยับยั้งของ สารสกัดสีเฟอร่าจากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	3	.0000			
1.00	3		6.5500		
2.00	3			10.7700	
3.00	3				12.9900
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค5: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		7.5500	
2.00	3			8.4400
3.00	3			8.4400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค6: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	3	.0000			
1.00	3		7.3300		
2.00	3			9.1100	
3.00	3				11.6600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค7: การยับยั้งของ สารสกัดคี้เฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	3	.0000			
1.00	3		4.0000		
2.00	3			17.2200	
3.00	3				21.6600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค8: การยับยั้งของ สารสกัดคี้เฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		10.5500	
2.00	3			15.5500
3.00	3			15.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก9: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		4.7700	
2.00	3			7.2200
3.00	3			7.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก10: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		7.8800	
2.00	3			13.7700
3.00	3			13.7700
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค11: ความสัมพันธ์ของสารสกัดทีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จกับสารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. aureus* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ 3

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Std. Error	Lower			
Pair 1 VAR00002 - VAR00004	-5.19800	13.03959	5.83148	-21.38879	10.99279	-.891	4	.423

ตารางภาคผนวก ก12: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3	.0000	
2.00	3	.0000	
3.00	3		1.8800
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก13: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		4.8800	
2.00	3			7.2200
3.00	3			7.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก14: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		3.3300
2.00	3		3.3300
3.00	3		3.3300
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก15: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		6.7700	
2.00	3			8.1100
3.00	3			8.1100
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก16: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		6.8800
2.00	3		6.8800
3.00	3		6.8800
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก17: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		2.3300	
2.00	3		2.3300	
3.00	3			2.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค18: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		.1100
2.00	3		.1100
3.00	3		.1100
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค19: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		3.3300	
2.00	3		3.3300	
3.00	3			3.8800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก20: การยับยั้งของ สารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		2.3300	
2.00	3			2.5500
3.00	3			2.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก21: การยับยั้งของ สารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		4.7700	
2.00	3		4.7700	
3.00	3			6.8800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค22: ความสัมพันธ์ของสารสกัดทีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จกับสารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อ *S. epidermidis* โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้น ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ 3

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	VAR00002 - VAR00004	2.13400	5.22154	2.33514	-4.34939	8.61739	.914	4	.412

ตารางภาคผนวก ค23: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		11.3300	
2.00	3			11.6600
3.00	3			11.6600
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค24: การยับยั้งของ สารสกัดคีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		3.3300
2.00	3		3.3300
3.00	3		3.3300
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก25: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		4.5500	
2.00	3			7.4400
3.00	3			7.4400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก26: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		2.8800
2.00	3		2.8800
3.00	3		2.8800
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก27: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		9.8800	
2.00	3			17.6600
3.00	3			17.6600
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ก28: การยับยั้งของ สารสกัดทีเพอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		3.3300
2.00	3		3.3300
3.00	3		3.3300
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค29: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิว โดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		2.8800
2.00	3		2.8800
3.00	3		2.8800
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค30: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวโดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวันที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 1.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	3	.0000	
1.00	3		2.7700
2.00	3		2.7700
3.00	3		2.7700
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค31: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวโดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.0 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		2.8800	
2.00	3		2.8800	
3.00	3			3.5500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค32: การยับยั้งของ สารสกัดคิเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวโดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้นที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 2.5 ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ทำการทดสอบ

Duncan

วันที่	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	3	.0000		
1.00	3		6.2200	
2.00	3		6.2200	
3.00	3			12.4400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค25: ความสัมพันธ์ของสารสกัดทีเฟอร์จากหัวเชื้อผงสำเร็จกับสารสกัดทีเฟอร์จากเชื้อธรรมชาติต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดสิวโดยใช้เทคนิคการแพร่ผ่านวุ้น ในข้อมูลเชิงทางสถิติ ณ.วันที่ 3

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 VAR00002 - VAR00004	4.17600	4.95648	2.21661	-1.97829	10.33029	1.884	4	.133