

ผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและ
การสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans*
Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm
Production of *Streptococcus mutans*



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานปีการศึกษา 2565 อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm
Production of *Streptococcus mutans*



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans*
Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm Production of *Streptococcus mutans*

ชื่อนักศึกษา นางสาวบัณฑิตา อัจฉริยะ รหัสนักศึกษา 62050508
นางสาวอรุณิชา โคตรบุรณย์ รหัสนักศึกษา 62050560

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)



ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง งดการนำใบไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm Production of <i>Streptococcus mutans</i>
ชื่อนักศึกษา	นางสาวบัณฑิตา อัจฉิชัย รหัสนักศึกษา 62050508 นางสาวอรุณิชา โคตรบุรรมย์ รหัสนักศึกษา 62050560
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยแผ้ววงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ

บทคัดย่อ

Streptococcus mutans เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สำคัญก่อให้เกิดการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) ในช่องปาก มีคุณสมบัติในการยึดเกาะผิวฟันและอยู่รอดในสภาพที่มีความเป็นกรดสูงนำไปสู่การสร้างกรดและการกำจัดแร่ธาตุของสารเคลือบฟันจึงก่อให้เกิดฟันผุ ปัจจุบันสารให้ความหวานแทนน้ำตาลกลุ่มน้ำตาลแอลกอฮอล์ ใช้ในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ช่วยลดการเกิดคราบพลัค (dental plaque) การศึกษาครั้งนี้วัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* โดยมีสารให้ความหวานที่ทดสอบ คือ อิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล พบว่า อิริทริทอลความเข้มข้น 1 % (w/v) มี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 43.40% และมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มลดลง 61.84% เป็นสารที่ให้ผลที่ดีที่สุด รองลงมาคือไซลิทอลที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) มี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 39.53% และมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม 57.47% และสตีวีโอไซด์ที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) มี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 22.27% และมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มลดลงร้อยละ 47.49%

คำสำคัญ : ไซลิทอล ไบโอฟิล์ม สตีวีโอไซด์ อิริทริทอล *Streptococcus mutans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm Production of <i>Streptococcus mutans</i>
Students	Miss Banthita Ardwichai Student ID 62050508 Miss Onnicha Koteburom Student ID 62050560
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Asst. Prof. Dr.Vorapat Sanguanchaipaiwong
Co-advisor	Asst. Prof. Dr.Karn Wongsariya

Abstract

Streptococcus mutans is one of major gram-positive bacteria, which forms oral biofilm, has tooth surface adhesion property and survives in highly acidic environment. Its characteristics of tooth surface adhesion and survival in high-acid conditions lead to the production of acids and the elimination of mineral elements in tooth coating, resulting in tooth decay. Currently, sugar substitutes, especially sugar alcohols, are used in toothpaste and mouthwash products. They possess properties to decrease the formation of dental plaque. In this study, the objective was to investigate the effects of sugar substitutes on the growth and biofilm formation of *S. mutans*. The sugar substitutes tested in this study were erythritol, stevioside and xylitol. It was found that 1 (%w/v) erythritol demonstrated growth suppress percentage of 43.40% and a biofilm inhibition of 61.84%. Erythritol showed the best results. The percentage of growth suppress and biofilm of 1 (%w/v) xylitol were 39.53% and 57.47%, respectively. Finally, 22.27% of growth suppress and 47.49% of biofilm inhibition were obtained from 1 (%w/v) stevioside.

Keywords : Xylitol, Biofilm, Stevioside, Erythritol, *Streptococcus mutans*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยจากความอนุเคราะห์จากผู้มีพระคุณหลายท่าน คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ และ ผศ.ดร. กานต์ วงศาริยะ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษร่วม เป็นอย่างสูงที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอนให้โครงการพิเศษออกมาสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา ประธานกรรมการโครงการพิเศษ ที่ช่วยตรวจสอบแก้ไขให้โครงการพิเศษออกมาสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน เจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ฝ่ายธุรการ รวมถึงแม่บ้านประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งทุกท่านได้ให้คำแนะนำต่าง ๆ และให้ความช่วยเหลือในการจัดทำโครงการ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ สารเคมีต่าง ๆ และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายเกษมชาติ พรหมสอน นักศึกษาปริญญาโทและเพื่อน ๆ ร่วมสาขาเทคโนโลยีชีวภาพทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำต่าง ๆ ให้คำปรึกษาอย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ ที่ได้อบรมสั่งสอน และให้การสนับสนุนทางการศึกษา ให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา หวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษเล่มนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากนักน้อย งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* และหากโครงการพิเศษเล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้วิจัยขออภัยไว้ ณ ที่นี้

บัณฑิตา อัจฉริยะ
อรณิชา โคตรบุรมย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	3
2.1.1 ประวัติความเป็นมาของเชื้อ <i>S. mutans</i>	3
2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของ <i>S. mutans</i>	3
2.2 คราบจุลินทรีย์	4
2.2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับคราบจุลินทรีย์	4
2.3 โรคปริทันต์	4
2.4 สารให้ความหวานแทนน้ำตาล	5
2.4.1 ไซลิทอล	5
2.4.1.1 ผลกระทบของไซลิทอล	6
2.4.2 อิริทริทอล	6
2.4.2.1 ผลกระทบของอิริทริทอล	7
2.4.3 สตีวีโอไซด์	7
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	11
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	11
3.1.1 สารให้ความหวานแทนน้ำตาล	11
3.1.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย	11
3.1.3 สารเคมี	11
3.1.4 เครื่องแก้ว อุปกรณ์และเครื่องมือ	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ	13
3.1.5.1 Brain Heart Infusion (BHI)	13
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย	13
3.2.1 เชื้อจุลินทรีย์	13
3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อและการวัดการเจริญของเชื้อ	14
3.2.2.1 การหาค่าหมักเซลล์แห้ง	14
3.2.2.2 การวัดความเข้มข้นเซลล์จากการดูดกลืนแสง	14
3.2.2.3 การนับปริมาณเชื้อด้วยวิธี Drop plate	14
3.2.3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)	15
3.2.3.1 การเตรียมสารทดสอบ	15
3.2.3.2 การเตรียมเชื้อ	15
3.2.3.3 การทดสอบโดยใช้ไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (96-well plate)	15
3.2.3.4 การอ่านผล	15
3.2.3.5 การคำนวณร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโต	15
3.2.4 การทดสอบการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม	16
3.2.4.1 การเตรียมสารทดสอบ	16
3.2.4.2 การเตรียมเชื้อ	16
3.2.4.3 การทดสอบโดยใช้ไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (96-well plate)	16
3.2.4.4 การคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม	17
3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	17
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	18
4.1 ผลจากการเพาะเลี้ยงเชื้อและการนับการเจริญของเชื้อ	18
4.1.1 การหาค่าหมักเซลล์แห้ง	18
4.1.2 การวัดความเข้มข้นของเซลล์จากการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร	19
4.1.3 การวัดการเจริญของเชื้อด้วยวิธี Drop plate	20
4.2 ผลจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลการยับยั้งการสร้างไปโอฟิล์ม	25
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	31
5.1 สรุปผลการวิจัย	31
5.2 ข้อเสนอแนะ	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	36
ภาคผนวก ก	37
ภาคผนวก ข	43
ภาคผนวก ค	45



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ที่วัดจากการเพาะเลี้ยง <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	19
4.2 ปริมาณเชื้อ <i>Streptococcus mutans</i> ที่เจริญในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	20
4.3 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานชนิดต่างกัน และความเข้มข้นต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	21
4.4 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)	23
4.5 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI มีสารให้ความหวานชนิดต่างกันและความเข้มข้นต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	25
4.6 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)	27
4.7 % การยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 รูป <i>Streptococcus mutans</i> ที่ย้อมด้วยสีคริสตัลไวโอเล็ตแล้วนำมาส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์.....	4
2.4 โครงสร้างทางเคมีของไซลิทอล.....	6
2.4 โครงสร้างทางเคมีของอิริทริทอล.....	6
2.4 โครงสร้างทางเคมีของสตีวีโอไซด์.....	7
4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของ <i>Streptococcus mutans</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	18
4.2 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ที่วัดจากการเพาะเลี้ยง <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	19
4.3 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล ดังนี้ ก) อิริทริทอล ข) สตีวีโอไซด์ ค) ไซลิทอล เพื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ต่างกัน.....	22
4.4 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานชนิดต่างกันและความเข้มข้น 1 %(w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก) ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ข) % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i>	23
4.5 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ดังนี้ ก) อิริทริทอล ข) สตีวีโอไซด์ ค) ไซลิทอล.....	26
4.6 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดต่างกันและความเข้มข้น 1 %(w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก) ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ข) % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i>	27
4.7 % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Streptococcus mutans</i> ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v).....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
BHI	Brain Heart Infusion
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
MIC	Minimum inhibitory concentration
MBC	Minimum Bactericidal Concentration
%(w/v)	ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร
%(v/v)	ร้อยละปริมาตรต่อปริมาตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Streptococcus mutans เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญได้ทั้งสภาวะใช้และไม่ใช้ออกซิเจน รูปร่างกลม (coccus) เรียงตัวเป็นสาย โคโลนี่มีลักษณะนูนสูงและขุ่น พบได้ในช่องปากของมนุษย์ และเป็นแบคทีเรียกลุ่มหลักที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคและเกิดการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) บนผิวฟันในช่องปาก เชื้อ *S. mutans* มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มที่มีโครงสร้างหลายมิติที่ซับซ้อนในช่องปากมีคุณสมบัติในการยึดเกาะผิวฟันและอยู่รอดในสภาพที่มีความเป็นกรดสูง ซึ่งนำไปสู่การสร้างกรดและการกำจัดแร่ธาตุที่สำคัญที่เป็นสารเคลือบฟันจึงก่อให้เกิดการผุกร่อนของเนื้อฟันเป็นปัจจัยหลักของการก่อโรคฟันผุ จากปัจจัยที่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อ *S. mutans* จึงนำไปสู่สภาวะที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้ออื่น ๆ อีกด้วย กล่าวคือ *S. mutans* มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มโดยการผลิตเอนไซม์ glucosyl-transferase B ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ส่งออกภายนอกเซลล์ (extracellular enzymes) โดยสังเคราะห์กลูแคน (glucan) เพื่อใช้ในการยึดเกาะบนผิวเคลือบฟันของเชื้อ *S. mutans* และยังเป็นรากฐานสำคัญให้จุลินทรีย์อื่น ๆ สามารถยึดเกาะบนผิวฟันได้ดีจึงก่อให้เกิดคราบพลัค (plaque) ในที่สุด (ศิริลักษณ์, 2557)

ในการป้องกันและชะลอการสร้างไบโอฟิล์มในช่องปากนั้นมีวิธีหลัก 2 วิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เช่น การรักษาฟันให้สะอาด ใช้ไหมขัดฟัน และวิธีทางเคมี เช่น ใช้น้ำยาบ้วนปาก ใช้น้ำยาบ้วนปากเพื่อลดการสะสมเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก ซึ่งในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่มีความสามารถในการลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ในช่องปากและป้องกันการเกิดฟันผุ จะมีส่วนผสมของสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้ ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารในกลุ่มคลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine) กลุ่มฟีนอล (phenol) ยาสีฟันที่ผสมสารประกอบไอโอดีน (iodine) และไตรโคลซาน (triclosan) แต่การใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นเวลานาน อาจเกิดผลข้างเคียงและเกิดการดื้อยาได้อีก ทั้งยังมีค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาที่สูงกว่าปกติ (ทัศนีย์ และคณะ, 2550)

ปัจจุบันสารให้ความหวานแทนน้ำตาลประเภทน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohols) หรือ โพลีออล (polyols) นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ขนม ลูกอม หมากฝรั่ง หรือผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ต้องการให้มีรสหวาน เพราะเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย และมีการปรับใช้ในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก เพื่อลดการเกิดคราบพลัค (dental plaque) และการก่อให้เกิดโรคฟันผุของ *S. mutans* ตัวอย่างของน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่นิยมใช้ ได้แก่ ซอร์บิทอล (sorbitol) ซิลิทอล (xylitol) อิริทริทอล (erythritol) (อรนาฎ และพนิดา, 2562)

ในงานวิจัยฉบับนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ อิริทริทอล, สตีวีโอไซด์ และซิลิทอล ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาสารให้ความหวานแทนน้ำตาลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans*
- 2) เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยใช้อาหาร Brain Heart Infusion (BHI) ในการทดสอบการศึกษาสารให้ความหวานแทนน้ำตาล คือ อิริทริทอล (erythritol) สตีวีโอไซด์ (stevioside) และไซลิตอล (xylitol) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* โดยทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบว่าความสามารถของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans*
- 2) ทราบว่าความเข้มข้นของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ดีที่สุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 *Streptococcus mutans*

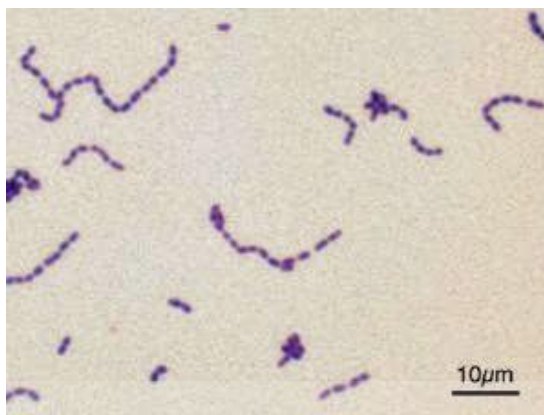
2.1.1 ประวัติความเป็นมาของเชื้อ *Streptococcus mutans*

ในปี พ.ศ.1924 James Kilian Clarke แยกสิ่งมีชีวิตออกจากกรวยโรคฟันผุ เรียกว่า *Streptococcus mutans* (LEMOS et al., 2013) การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า *S. mutans* เป็นสาเหตุที่สำคัญก่อให้เกิดโรคฟันผุพบในช่องปากของมนุษย์ เป็นที่ยอมรับกันเป็นวงกว้างว่า ศักยภาพการก่อโรคของเชื้อ *S. mutans* อยู่ในลักษณะหลักสามประการ คือ 1. มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์จากน้ำตาลซูโครสในการสร้างกลูแคน (glucan) บนผิวฟันและสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) ที่เคลือบบนผิวฟัน 2. มีความสามารถในการลำเลียงและเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตหลายชนิดให้เป็นกรดอินทรีย์ 3. มีความสามารถในการเจริญเติบโตแม้จะในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำ จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการหลายแห่ง แสดงให้เห็นว่า *S. mutans* มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมที่สามารถอยู่รอดได้โดยการสร้างโพลีแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ (Extracellular Polysaccharide, EPS) และสภาพแวดล้อมที่มีค่า pH ต่ำ จึงเอื้ออำนวยต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิตที่เหมาะสมกับสภาวะความเป็นกรด *S. mutans* นอกจากนี้ก็เกี่ยวข้องกับการก่อโรคฟันผุและสร้างไบโอฟิล์มแล้วยังเกี่ยวข้องกับการก่อโรคเยื่อหูอักเสบเฉียบพลัน และบางสายพันธุ์มีความเชื่อมโยงกับการก่อโรค เช่น เลือดออกในสมองขนาดเล็ก โรคไตอักเสบ และภาวะหลอดเลือดแข็งตัว

2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของ *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (gram-positive cocci) ขนาด 0.5 - 0.5 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นสายสั้น ๆ หรือสายยาว ปานกลาง *S. mutans* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (non-motile) และบ่มในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic) เป็นเวลา 2 วัน โคโลนีจะมีสีขาวเหลือง รูปร่างกลมหรือไม่แน่นอน (irregular) ขนาด 0.5 - 1.0 ไมโครเมตร สามารถพบได้ทั่วไปในช่องปาก (Sneath et al., 1986)

ส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีอากาศ หรือมี $N_2 + CO_2$ หรือ CO_2 เป็นหลัก แต่จะเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่มีอากาศอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อสามารถเจริญได้ดีคือ 37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงสุด 45 องศาเซลเซียส และต่ำสุด 10 องศาเซลเซียส (Sneath et al., 1986)



รูปที่ 2.1 รูป *Streptococcus mutans* ที่ย้อมด้วยสีคริสตัลไวโอเล็ตแล้วนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : <https://www.biologiedukasi.com/2014/10/streptococcus-mutans-penyebab-karies.html> (วันที่สืบค้น 11 มิถุนายน 2566)

2.2 คราบจุลินทรีย์

2.2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับคราบจุลินทรีย์

คราบจุลินทรีย์ เรียกอีกอย่างว่า ไบโอฟิล์ม (biofilm) หรือกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีการเจริญติดพื้นผิวของฟัน ไบโอฟิล์มในช่องปากก่อให้เกิดโรคต่างๆ ของช่องปากและลำคอ รวมถึงโรคฟันผุ โรคปริทันต์ การติดเชื้อในรากฟัน ต่อมทอนซิลอักเสบ หนองอักเสบ และอื่น ๆ ในอีกแง่หนึ่งไบโอฟิล์มถือเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ ในทางกลับกัน ไม่สามารถควบคุมได้ของแบคทีเรียก่อโรคอาจทำให้เกิดปัญหาสุขภาพช่องปาก เช่น เกิดการอักเสบและบวมแดงของเหงือก ดังนั้นการกำจัดไบโอฟิล์มส่วนเนื้อและใต้เหงือกจึงเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพในช่องปากในระยะยาว อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการก่อโรคสามารถลดลงได้อย่างมากโดยการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยใช้ยาสีฟัน สารทำความสะอาด และแปรงสีฟัน ขจัดคราบจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถดูแลช่องปากได้ (Digel et al., 2020)

2.3 โรคปริทันต์

โรคปริทันต์ เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรียที่บริเวณรอบ ๆ ของฟัน ซึ่งทำให้เหงือกมีเลือดออก เหงือกบวม มีกลิ่นปาก เหงือกกรัน ซึ่งอาจนำไปสู่การสูญเสียฟัน การรักษาโรคปริทันต์ โดยวิธีการอุดฟันและการขูดหินปูน สามารถชะลอการลุกลามการก่อโรคปริทันต์ได้โดยการขจัดคราบจุลินทรีย์ที่รากฟันและลดการอักเสบ หากเมื่อมีการสูญเสียเนื้อเยื่อและกระดูกแล้วไม่สามารถหายขาดได้ (Michaud et al., 2017)

โรคฟันผุเกี่ยวข้องกับการดำเนินชีวิตสุขอนามัยช่องปากที่ไม่ดีและพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ไม่ดีที่มีส่วนสำคัญก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ในระยะแรก ไบโอฟิล์มเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคปริทันต์ และเหงือกอักเสบจากการสะสมของคราบจุลินทรีย์ เป็นปัจจัยสำคัญของโรคปริทันต์อักเสบ ปัจจัยทั้งภายในและภายนอกหลายอย่าง เช่น น้ำลายและการบริโภคคาร์โบไฮเดรตมากเกินไป ส่งผลต่อการสะสมของคราบจุลินทรีย์ และเพิ่มความเสี่ยงทำให้เกิดโรคทางทันตกรรม (Söderling and Pienihäkkinen, 2021)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารให้ความหวานแทนน้ำตาล

สารให้ความหวานแทนน้ำตาล จัดเป็นกลุ่มหลัก 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ให้พลังงาน และกลุ่มสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ไม่ให้พลังงาน โดยกลุ่มน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohols) หรือโพลีออล (polyols) เป็นสารให้ความหวานที่ให้พลังงานที่มีความหวานน้อยหรือเทียบเท่าน้ำตาลซูโครส เนื่องจากสารกลุ่มนี้ถูกดูดซึมได้ช้า จึงถูกขับออกจากร่างกายก่อนที่จะมีการดูดซึมไปใช้ในร่างกาย ทำให้ร่างกายได้รับพลังงานน้อยและไม่กระตุ้นการหลั่งอินซูลินเท่ากับน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส จึงมีการนำสารกลุ่มนี้เป็นส่วนผสมในอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน หากบริโภคในปริมาณมาก อาจทำให้เกิดอาหารท้องเสียได้ (อรนาฎ และพนิดา, 2562)

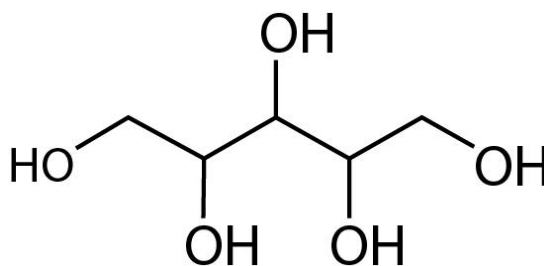
สารให้ความหวานแทนน้ำตาลหลายชนิดมีความหวานที่มากกว่าน้ำตาลทั่วไปและมีแคลอรีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลซูโครส (sucrose) สารให้ความหวานแทนน้ำตาลมีความหวานมากกว่าหลายร้อยเท่า ดังนั้นการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลหลายชนิดร่วมกันจึงสามารถลดปริมาณน้ำตาลที่ใช้ได้ แอซีซัลเฟม เค (acesulfame K) แอสปาร์แตม (aspartame) และ ซูคราโลส (sucralose) เป็นสารที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลซึ่งนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ในขณะเดียวกันมีนักวิจัยทำการศึกษา แอซีซัลเฟม เค (acesulfame K) และ แอสปาร์แตม (aspartame) ใช้ในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม เช่น โซดาและเครื่องดื่มโปรตีน การใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาลเพื่อป้องกันโรคฟันผุและโรคอ้วนโดยการลดปริมาณการใช้น้ำตาล และบางครั้งเครื่องดื่มที่มีรสหวานเทียมซึ่งนำมาใช้แทนเครื่องดื่มน้ำอัดลมสำหรับผู้ป่วยโรคอ้วนที่เป็นโรคเบาหวาน ดังนั้น สารให้ความหวานแทนน้ำตาลนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์ขนม ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม และคาดว่า เป็น "น้ำตาล" ที่สามารถทดแทนสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน อย่างไรก็ตาม การทดแทนส่วนผสมในอาหารและเครื่องดื่มที่มีรสหวานด้วยการใช้น้ำตาลเทียมนั้นอาจไม่มีประโยชน์ เนื่องจากมีรายงานพบว่าสารให้ความหวานแทนน้ำตาลมีผลข้างเคียงสำหรับบุคคลที่เป็นโรคอ้วน โรคหัวใจและหลอดเลือด และอาจเสียชีวิตได้ (Iizuka, 2022)

2.4.1 ไซลิตอล

ไซลิตอล (xylitol) เป็นกลุ่มน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ($C_5H_{12}O_5$) ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 152.15 กรัมต่อโมล ซึ่งส่วนมากใช้เป็นสารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์ขนมที่ปราศจากน้ำตาล นอกจากนี้ยังพบได้ทั้งผักและผลไม้ เช่น ลูกพลัม สตรอเบอร์รี่ กะหล่ำดอก และฟักทอง มีความหวานเทียบเท่ากับน้ำตาลซูโครส ไซลิตอลมีกลิ่นหอมและรสหวานที่สุด มีประโยชน์ทางทันตกรรม เช่น ลดความเสี่ยงต่อโรคฟันผุ และอาจมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหลักก่อให้เกิดโรคฟันผุ (Salli et al., 2019)

ในทางด้านทันตกรรม ไซลิตอล (xylitol) ยอมรับเป็นครั้งแรกปี พ.ศ. 2518 ในประเทศฟินแลนด์ ในหมากฝรั่งที่มีไซลิตอลเป็นส่วนผสม มีวัตถุประสงค์เพื่อลดการก่อโรคฟันผุและปรับปรุงสุขภาพช่องปาก ไซลิตอลช่วยลดการเกิดคราบจุลินทรีย์และการยึดเกาะของแบคทีเรีย (เช่น เป็นสารต้านจุลชีพ) ยับยั้งการทำลายสารเคลือบฟัน (เช่น ลดการผลิตกรด) อีกทั้งยังเพิ่มการผลิตน้ำลายและลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรดในช่องปาก ปัจจุบันไซลิตอล ได้รับการอนุมัติสำหรับผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องสำอาง และยา เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ส่วนใหญ่ในผลิตภัณฑ์ขนมที่ไม่ก่อให้เกิดโรคเมะเร็ง ในผลิตภัณฑ์ยา (ยาเม็ด ยาอม วิตามินเม็ด ยาแก้ไอ) และยาสีฟัน (Gupta, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยินดีขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของไซลิทอล

ที่มา : <https://www.disthai.com/> (วันที่สืบค้น 6 มิถุนายน 2566)

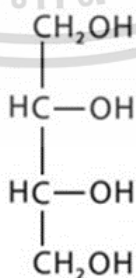
2.4.1.1 ผลกระทบของไซลิทอล

การบริโภคไซลิทอล ควรบริโภคในปริมาณที่เหมาะสม หากบริโภคในปริมาณที่สูง อาจทำให้เกิดอาการท้องเสีย (Prathibha. et al., 2015)

2.4.2 อิริทริทอล

อิริทริทอล (erythritol) คือสารให้ความหวานแทนน้ำตาล กลุ่มน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ซึ่งพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ เช่น ผักหรือผลไม้ มีความหวานอยู่ที่ร้อยละ 60-70 ของน้ำตาลทราย (sucrose) ไม่ให้พลังงาน ไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดหรือระดับอินซูลิน จึงนับเป็นทางเลือกใหม่ของสารให้ความหวานที่ดีต่อสุขภาพ นอกจากนี้ ขนาดโมเลกุลของอิริทริทอลมีขนาดเล็กกว่าน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดอื่น เมื่อรับประทานเข้าไปความสามารถดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็กอย่างรวดเร็ว และถูกขับออกทางปัสสาวะโดยไม่เปลี่ยนโครงสร้าง และส่วนที่ไม่ได้ดูดซึมเข้าร่างกาย แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ก็ย่อยเป็นพลังงานได้ยาก และแบคทีเรียในช่องปากไม่สามารถย่อยได้ จึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ (ทินกร, 2566)

การนำอิริทริทอลมาใช้แทนน้ำตาลทรายในการประกอบอาหาร ร่างกายจะดูดซึมน้ำตาลชนิดนี้ได้ช้าและการตอบสนองต่ออินซูลินจะไม่ถูกกระตุ้นเหมือนกับน้ำตาลทราย ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จึงเหมาะกับกลุ่มผู้ที่เป็นโรคเบาหวานหรือผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักตัว (ฉัตรภา, 2564)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของอิริทริทอล

ที่มา : <https://www.myskinrecipes.com/shop/th/703-sugar-substitute>

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า (วันที่สืบค้น 24 มิถุนายน 2566)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.1 ผลกระทบของอิทธิพล

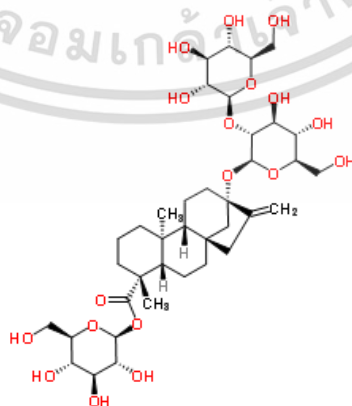
โดยทั่วไป การบริโภคอิทธิพลมากเกินไป อาจเกิดอาการคลื่นไส้ ท้องอืด ท้องเฟ้อ และท้องเสีย ผลข้างเคียงเหล่านี้มีสาเหตุมาจากการน้ำตาลแอลกอฮอล์ไม่ดูดซึมที่กระเพาะอาหาร แต่ดูดซึมที่ลำไส้เล็กบางส่วน นอกจากนี้ แบริเรียในลำไส้ยังสามารถแปรสภาพน้ำตาลซึ่งส่งผลให้เกิดก๊าซ หากบริโภคในปริมาณมากจะเกิดการสะสมแก๊สในร่างกาย ท้องอืด และท้องเสียได้ (Mazi and Stanhop, 2023)

2.4.3 สตีวิโอไซด์

หญ้าหวาน (stevia) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stevia rebaudiana* Bertoni อยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นพืชพื้นเมืองทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศปารากวัยในทวีปอเมริกาใต้ ความพิเศษของหญ้าหวาน คือ ส่วนของใบให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลถึง 10 - 15 เท่า แต่ความหวานของสตีวิโอไซด์ไม่ก่อให้เกิดพลังงาน นอกจากนี้ยังมีสารสกัดที่เกิดจากหญ้าหวานชื่อว่า สตีวิโอไซด์ (stevioside) เป็นสารที่ให้ความหวานมากกว่า 200 - 300 เท่าของน้ำตาลซูโครส เป็นพืชที่รู้จักมาเป็นเวลานานกว่า 1,500 ปี ชนพื้นเมืองแถบอเมริกาใต้เป็นผู้ค้นพบและนำมาใช้เป็นครั้งแรก ได้นำสารสกัดของหญ้าหวานมาเป็นส่วนประกอบในชา รวมถึงยาสมุนไพรโบราณ ใช้ในการผสมอาหารและเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มความหวาน สำหรับประเทศไทยหญ้าหวานเริ่มเข้าสู่ประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2518 โดยนำมาทดลองปลูกในภาคเหนือ (พิสมัย, 2555)

มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับหญ้าหวาน พบว่าหญ้าหวานสามารถลดระดับน้ำตาลหลังมื้ออาหาร และสามารถลดแคลอรีจากการบริโภคอาหารเมื่อเทียบกับซูโครส ประโยชน์ของหญ้าหวานนอกจากเป็นสารให้ความหวานแล้วยังมีประโยชน์หลายอย่าง ได้แก่ ลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด ขับปัสสาวะ ต่อด้านการเกิดเนื้องอก (anti-tumor) และสามารถต้านโรคมะเร็ง เป็นต้น (พิกุล, 2556)

การศึกษาผลของสารสกัดจากสตีวิโอไซด์ ต่อเชื้อ *S. mutans* พบว่าผลการยับยั้งจากสารสกัดจากสตีวิโอไซด์ด้วยเอทานอลนั้นให้ผลดีกว่าการยับยั้งจากสารสกัดของสตีวิโอไซด์ด้วยน้ำ มีการศึกษาวิจัยการใช้น้ำยาบ้วนปากสตีวิโอไซด์ ร้อยละ 10.6 แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในการยับยั้งคราบจุลินทรีย์และโรคเหงือกอักเสบสำหรับทดลอง 6 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดจากหญ้าหวานได้รับการอนุมัติโดยองค์การอาหารและยาในปี ค.ศ. 2008 (Shinde and Winnier, 2020)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการ **รูป 2.4 โครงสร้างของสตีวิโอไซด์** ที่นำมาใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกและเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้มา : <https://puechkaset.com/> (วันที่สืบค้น 6 มิถุนายน 2566)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 ผลของไซลิทอลและอิริทริทอล ลดการยึดเกาะของ *Streptococci* ในช่องปากที่ผลิตโพลีแซ็กคาไรด์

Söderling and Lenkkeri (2009) ทำการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญเติบโตและการยึดเกาะของเชื้อ streptococci สายพันธุ์ *S. mutans* NCTC10449, *S. mutans* Ingbritt, *S. sobrinus* OMZ176, *S. salivarius* ATCC13149, *S. salivarius* ATCC25975, *S. sanguinis* NCTC10904, *S. sanguinis* BAA1455 และ *S. mutans* ที่แยกทางคลินิก ทำการเพาะเลี้ยงแบบที่เรียใน BHI broth 5 มิลลิลิตร ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นปิเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์ไปยัง BHI broth 5 มิลลิลิตร ที่เติมด้วยซูโครส 1 %(w/v) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย ไซลิทอล 2 %(w/v), ไซลิทอล 4 %(w/v), อิริทริทอล 2 %(w/v) และ อิริทริทอล 4 %(w/v) เพาะเลี้ยงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เพื่อประเมินร้อยละการยึดเกาะและร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโต คำนวณจากกราฟการเจริญเติบโตช่วงระยะ log-phase โดยเปรียบเทียบการใช้ไซลิทอลและอิริทริทอลที่ความเข้มข้น 2 %(w/v) และ 4 %(w/v) พบว่า ไซลิทอลและอิริทริทอลความเข้มข้น 4 %(w/v) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* และ *S. sobrinus* ได้ดีกว่าความเข้มข้น 2 %(w/v) และ *S. mutans* ที่แยกทางคลินิกยับยั้งการเจริญเติบโต ยกเว้น *S. mutans* NCTC10449 และ *S. sobrinus* OMZ176 เกิดการยึดเกาะ แม้ว่าทั้งไซลิทอลและอิริทริทอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการยึดเกาะ แต่ระดับของการยับยั้งและรูปแบบการยับยั้งนั้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของกลุ่ม streptococci

2.5.2 ผลของสารสกัดจากสตีเวียต่อการเจริญของ *Streptococcus mutans*

Sichani et al. (2012) ศึกษาผลของสารสกัดสตีเวียด้วยน้ำ เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน ในการยับยั้งการเจริญของ *S. mutans* โดยทำการเพาะเลี้ยง *S. mutans* ATCC35668 ในอาหารแข็ง BHI เสริมด้วยเลือด จากนั้นเตรียมสารสกัดสตีเวียด้วยน้ำ เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน มีความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบสำหรับการยับยั้งการเจริญด้วยวิธี agar-well diffusion โดยนำเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ATCC35668 ทำการเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารแข็ง BHI ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมด้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมสารสกัดสตีเวีย 100 ไมโครลิตรลงหลุม บ่มแบบใช้ออกซิเจน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (inhibition zone) และทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ในไมโครโทเทอร์เพลท 96 หลุม เติมเชื้อแบคทีเรีย 10^8 CFU/ml และเติมสารสกัดสตีเวียเจือจาง 100 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องอ่าน ELISA (elisa reader) ที่ 630 นาโนเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตต์สารแขวนลอยที่เพาะเลี้ยงใน 96-well ELISA 50 ไมโครลิตร ลงบนเพลทอาหารแข็ง BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วย 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวัดผล (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จากการสกัดสตีเวียด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบว่า สารสกัดสตีเวียด้วยอะซิโตน มีโซนการยับยั้งการเจริญของ *S. mutans* มากที่สุด (28.7 มิลลิเมตร) ที่ความ

เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วยสารสกัดสตีเวียด้วยเอทานอล (27.0 มิลลิเมตร) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดสตีเวียด้วยเมทานอล มีโซนการยับยั้งของสารสกัดเมทานอลเท่ากับ 21.3 ± 2.2 ที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นสารสกัดสตีเวียด้วยน้ำ ไม่สามารถยับยั้ง *S. mutans* และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสตีเวียที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ สารสกัดสตีเวียด้วยอะซิโตนที่ความเข้มข้น 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดสตีเวียด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดสตีเวียด้วยเมทานอลความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ความสามารถในการยับยั้งนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น

2.5.3 การศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างไบโอฟิล์มของไซลิทอลและอิริทริทอลต่อ *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sobrinus*

Cannon et al. (2020) ทดสอบผลการยับยั้งร่วมของไซลิทอลและอิริทริทอลต่อการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sobrinus* และการผลิตชีวมวลบนพื้นผิวพลาสติกโพลีสไตรีน โดยเชื้อ *S. mutans* ATCC31341, *S. mutans* ATCC35668, *S. mutans* ATCC25175, *S. mutans* ATCC33478, *S. sobrinus* ATCC31341, *S. sobrinus* ATCC35668, *S. sobrinus* ATCC25175, *S. sobrinus* ATCC33478 เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Todd Hewitt ด้วยซูโครส 1 % (w/v) หรือ Brain-Heart Infusion Broth ที่มีซูโครส 1 % (w/v) ที่ความเข้มข้นต่างกันของไซลิทอลหรืออิริทริทอล ทดสอบในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ และทดสอบการสร้างไบโอฟิล์มของไซลิทอลและอิริทริทอลร่วมกันด้วยวิธีไมโครติวชัน พบว่าไซลิทอลร้อยละ 30 % (w/v) มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ และอิริทริทอลร้อยละ 15 % (w/v) ใน 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญ 2 ใน 4 สายพันธุ์ และพบว่า *S. mutans* ATCC25175 มีการเจริญเติบโต แต่ไม่สามารถประเมินปริมาณไบโอฟิล์มได้ เนื่องจากสายพันธุ์นี้มีปริมาณไบโอฟิล์มน้อยหรือไม่มีไบโอฟิล์มเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น

2.5.4 ผลของไซลิทอลต่อการสร้างไบโอฟิล์มและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* 7 สายพันธุ์

Nassar et al. (2020) ศึกษาผลของไซลิทอลต่อการสร้างไบโอฟิล์มและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* 7 สายพันธุ์ (UA159, A32-2, NG8, 10449, UA130, LM7 และ OMZ175) ทดสอบใน 96-Well plate ด้วยไซลิทอลความเข้มข้นต่างๆ (0.0, 0.0016, 0.0031, 0.0063, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 กรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มและการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวโดยวิธี ANOVA ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลโดยวิธี Tukey's paired และ LSD ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ไซลิทอลสามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับไม่มีการควบคุม สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทุกสายพันธุ์ที่

0.4 กรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ *S. mutans* ทั้ง 7 สายพันธุ์ มีแนวโน้มการผลิต Lactate Dehydrogenase (LDH) และ Extracellular Polysaccharide (EPS) ลดลงด้วยความเข้มข้นของ ซิลิทอลที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกับสายพันธุ์ UA159, UA130 และ NG8 สรุปได้ว่าซิลิทอลมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ซึ่งแตกต่างกันเล็กน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ทดสอบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 สารให้ความหวานแทนน้ำตาล

1. อิริทริทอล (erythritol) จากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด
2. สตีวิโอไซด์ (stevioside) จากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด
3. ไชลีทอล (xylitol) จากบริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด

3.1.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ *Streptococcus mutans* ATC25175 เก็บรักษาไว้ในอาหารเหลว brain heart infusion ที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้น 20 %(v/v) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.1.3 สารเคมี

1. คริสตัลไวโอเล็ต (crystal Violet)
2. แอมโมเนียมออกซาลेट (ammonium oxalate)
3. น้ำกลั่น (distilled water)
4. น้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 %(w/v) (normal saline 0.85 %w/v)
5. เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %(v/v) (ethyl alcohol 95%v/v)
6. แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 99.8 %(v/v) (ethyl alcohol absolute 99.8 %v/v)
7. ผงวุ้น (agar power)
8. ซูโครส (sucrose)
9. คลอเฮกซิดีน 0.12 %(w/v) (chlorhexidine 0.12 %w/v)
10. กลีเซอรอล (glycerol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 เครื่องแก้ว อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
2. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. ไมโครเพลท รีดเดอร์ (microplate reader)
5. เครื่องผสมสาร (vortex)
6. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
7. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
8. ตู้เย็น (refrigerator)
9. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator)
10. คิวเวทท์ (cuvette)
11. ลูกยางดูดสาร (rubber bulb)
12. ปิเปตแก้ว ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร (pipette)
13. ช้อนตักสาร (spatula)
14. ปีกเกอร์ ขนาด 100, 250, และ 500 มิลลิลิตร (beaker)
15. กระจกตวง (cylinder)
16. ฟลาสก์ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร (erlenmeyer flask)
17. แท่งแก้วคนสาร (glass Rod)
18. ลูปเชี่ยเชื้อ (loop)
19. โถดูดความชื้น (desiccator)
20. หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)
21. ขวดดูแรน (duran)
22. เครื่องชั่งทศนิยม 2, 3 และ 4 ตำแหน่ง
23. ไมโครปิเปตต์ (micropipette)
24. เพลทเพาะเชื้อ (petri dish)
25. หลอดทดสอบ (test tube)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

26. ไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (microplates 96 Well)
27. หลอด eppendorf
28. กล่องใส่จานเพาะเชื้อ (petri dish box)
29. ตะแกรงในหลอดทดลอง (rack)
30. ไฟแช็ก
31. ตะเกียงแอลกอฮอล์
32. กระดาษชำระ
33. ทิป (tip)
34. หนัวยาง
35. ฝาหลอดทดลอง

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brain Heart Infusion (BHI)

อาหารเหลว BHI นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อและวัดการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* มีส่วนประกอบต่อน้ำ 1 ลิตร คือ อาหาร Bacto™ brain heart infusion สำเร็จรูป 37 กรัม ทำการละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ brain heart infusion ในบีกเกอร์ จากนั้นปิเปตใส่หลอดทดลอง จากนั้นผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

อาหารแข็ง BHI มีส่วนประกอบต่อน้ำ 1 ลิตร คือ อาหาร Bacto™ brain heart infusion สำเร็จรูป 37 กรัม และเติมผงวุ้น 15 กรัม ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ในขวดดูแรน (duran) ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเพื่อละลายผงอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่เพลท

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 เชื้อจุลินทรีย์

Streptococcus mutans เก็บรักษาไว้ในอาหารเหลว brain heart infusion ที่มีกลีเซอรอลความเข้มข้น 20 % (v/v) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นำมาเพาะเชื้อ *S. mutans* ลงบนอาหารแข็ง BHI ใส่ใน petri dish box จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเพาะเชื้อต่อโดยใช้ลูปเชื้อ *S. mutans* จำนวนเอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 - 5 โคลนีมาเพาะเชื้อในอาหารเหลว BHI ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์

3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อและการวัดการเจริญของเชื้อ

จากข้อ 3.2.1 ปีเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อในหลอดเซนต์ปีฟาร์ก 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทุก 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาการเจริญเติบโต โดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง 1 มิลลิลิตร การวัดค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร 1 มิลลิลิตร และการวัดปริมาณของเชื้อด้วยวิธี Drop plate 1 มิลลิลิตร

3.2.2.1 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยง โดยปีเปตต์เชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดเซนต์ปีฟาร์ก 1 มิลลิลิตร บั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทของเหลวส่วนใสทิ้ง จากนั้นในส่วนที่เป็นตะกอนเซลล์ เติมน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 %(w/v) (normal saline 0.85 %w/v) ประมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อล้างเซลล์ให้สะอาด จากนั้นนำตะกอนเซลล์ไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง ซึ่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.2.2 การวัดความเข้มข้นเซลล์จากวัดค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร

เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยง โดยปีเปตต์เชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในคิวเวทท์ (cuvette) ขนาด 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

3.2.2.3 การวัดปริมาณของเชื้อด้วยวิธี Drop plate

จากข้อ 3.2.2 เมื่อบ่มครบเวลาแล้ว 4 ชั่วโมง 30 นาที เจือจางแบคทีเรียในหลอดทดลองด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 %(w/v) (normal saline 0.85 %w/v) ครั้งละ 10 เท่า แบคทีเรียที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^5 10^6 และ 10^7 มาหยดตัวอย่างเจือจาง 20 ไมโครลิตร (จำนวน 3 จุด) ลงบนเพลทที่มีอาหารแข็ง BHI โดยแบ่งเป็น 4 ส่วน ปล่อยให้สารละลายกระจายตัวเป็นเวลา 10 - 15 นาที แล้วจึงนำไปบ่มเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยการคว่ำเพลท บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี รายงานผลเป็น colony forming unit (cfu/ml) โดยที่จำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารแข็ง BHI เลี้ยงเชื้อต้องอยู่ระหว่าง 3 - 30 โคลนีต่อหยดสารละลายเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

3.2.3.1 การเตรียมสารทดสอบ

เตรียมสารให้ความหวานแทนน้ำตาล คือ สตีวีโอไซด์, ซิลิทอล และอิริทริทอล สำเร็จรูป นำมาละลายในน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้น 4 %w/v) อาหารเหลว BHI 4 เท่า และ อาหารเหลว BHI 2 เท่า

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อ

จากข้อ 3.2.1 ปิเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว BHI 5 มิลลิลิตร จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 4 - 6 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เท่ากับ 0.25 (หรือประมาณ 1.13×10^8 cfu/ml) เจือจางด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) ให้ได้ 1×10^5 cfu/ml

3.2.3.3 การทดสอบโดยใช้ไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (96-well plate)

ปิเปตต์อาหารเหลว BHI 4 เท่า 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (A) และปิเปตต์อาหารเหลว BHI 2 เท่า 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (B-H) จากนั้นปิเปตต์สารให้ความหวานแทนน้ำตาล คือ สตีวีโอไซด์, ซิลิทอล และอิริทริทอล ความเข้มข้น 4 % (w/v) 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม เจือจางแบบ two fold serial dilution และปิเปตต์เชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.3.4 การอ่านผล

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เพื่อวัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader)

3.2.3.5 การคำนวณร้อยละของการยับยั้งการเจริญเติบโต

คำนวณหาร้อยละการยับยั้งการเจริญเติบโต ได้จาก

$$\text{ร้อยละของการยับยั้งการเจริญเติบโต} = [(A - B) / A] \times 100$$

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 600 นาโนเมตรของหลุมที่ไม่มีสารที่ทดสอบ (เชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 600 นาโนเมตรของหลุมมีสารทดสอบ (เชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI และเติมสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ทดสอบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การทดสอบการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

3.2.4.1 การเตรียมสารทดสอบ

เตรียมสารให้ความหวานแทนน้ำตาล คือ สตีวีโอไซด์, ไซลิทอล และอิริทริทอล สำเร็จรูป นำมาละลายในน้ำกลั่น ให้ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ความเข้มข้น 4 %(w/v) อาหารเหลว BHI broth 2 เท่าเติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) ให้ความเข้มข้น 2 %(w/v) และอาหารเหลว BHI 4 เท่าที่เติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) ให้ความเข้มข้น 4 %(w/v)

3.2.4.2 การเตรียมเชื้อ

จากข้อ 3.2.1 ปิเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว BHI 5 มิลลิลิตร จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 4 - 6 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เท่ากับ 0.25 (หรือประมาณ 1.13×10^8 cfu/ml) เจือจางด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 %(w/v) (normal saline 0.85 %(w/v) ให้ได้ 1×10^5 cfu/ml

3.2.4.3 การทดสอบโดยใช้ไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (96-well plate)

ปิเปตต์อาหารเหลว BHI 4 เท่า ที่เติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) ให้ความเข้มข้น 4 %(w/v) 100 ไมโครลิตร ลงไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (A) และปิเปตต์อาหารเหลว BHI 2 เท่า เติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) ให้ความเข้มข้น 2 %(w/v) 100 ไมโครลิตร ลงไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม (B-H) จากนั้นปิเปตต์สารให้ความหวานแทนน้ำตาล คือ สตีวีโอไซด์, ไซลิทอล และอิริทริทอล ให้ความเข้มข้น 4 %(w/v) 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม เจือจางแบบ two fold serial dilution จากนั้น ปิเปตต์เชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้ว ปิเปตต์เชื้อออกจากเพลทออก ล้างเพลทด้วยเติมน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 %(w/v) (normal saline 0.85 %(w/v) 200 ไมโครลิตร 3 ครั้ง เพื่อชะล้างและทิ้งเพลทไว้ให้แห้ง จากนั้นตรึงไบโอฟิล์มโดยเติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 99.8 %(v/v) (ethyl alcohol absolute 99.8%(v/v) หลุมละ 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วปิเปตทิ้ง ย้อมเพลทโดยการเติมคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 %(v/v) (crystal violet 0.01 %(v/v) 200 ไมโครลิตร เวลา 15 นาที คว่ำเพลทไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้แห้ง ชะล้างเพลทอีกรอบด้วยน้ำกลั่น สูดท้ายเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 %(v/v) (ethyl alcohol 95%(v/v) ลงแต่ละหลุมแล้ว จากนั้นปิเปตต์แต่ละหลุมใส่ในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรของสีสารคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 %(v/v) (crystal violet 0.01 %(v/v) ที่ย้อมไบโอฟิล์มโดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ความเข้มข้นที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณไบโอฟิล์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.4 การคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

คำนวณหาร้อยละการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม ได้จาก

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม} = [(A - B) / A] \times 100$$

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 600 นาโนเมตรของหลุมที่ไม่มีสารที่ทดสอบ (เชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI ที่เติมน้ำตาลซูโครส)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 600 นาโนเมตรของหลุมมีสารทดสอบ (เชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI ที่เติมน้ำตาลซูโครส และเติมสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ทดสอบ)

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลโดยวิธี duncan's new multiple range produre โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

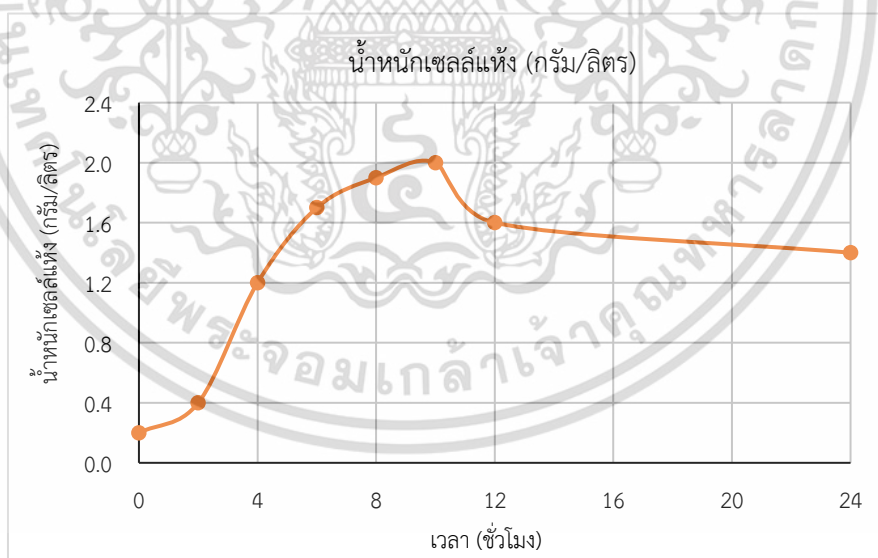
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลจากการเพาะเลี้ยงเชื้อและการนับการเจริญของเชื้อ

4.1.1 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

จากการศึกษาโครงการพิเศษในครั้งนี้ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์จากเชื้อ 3 - 5 โคโลนีจากอาหารแข็ง BHI เพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลว BHI จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังบ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์ครบเวลาแล้ว เปิดหัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI 25 มิลลิลิตร เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อลงในหลอดเซนติฟิวก์ 1 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทของเหลวส่วนใสทิ้ง และส่วนตะกอนเซลล์ เติมน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 % w/v) ประมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปั่นเหวี่ยงอีกรอบด้วยความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อล้างเซลล์ให้สะอาด จากนั้นนำตะกอนเซลล์ไปอบแห้ง ซึ่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งเพื่อหาน้ำหนักของเซลล์แห้ง ดังรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าเชื้อในช่วง 4 - 6 ชั่วโมงเป็นช่วงที่เชื้อมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของ *Streptococcus mutans* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

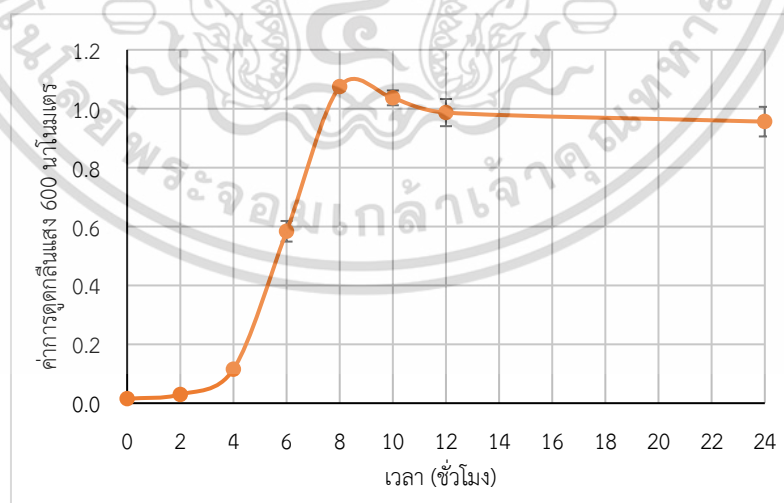
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การวัดความเข้มข้นของเซลล์จากค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ 3 - 5 โคโลนีจากอาหารแข็ง BHI เพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลว BHI จุดเทียนก่อนนำไปปมในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังบ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์ครบเวลาแล้ว ปิเปตหัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI 25 มิลลิลิตร เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อลงในหลอดเซนติฟิวก์ 1 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) จากผลดังตารางที่ 4.1 พบว่า ชั่วโมงที่ 2 เริ่มเข้าสู่ช่วงระยะ exponential phase และช่วงที่เชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือ 4 - 6 ชั่วโมง แสดงรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ที่วัดจากการเพาะเลี้ยง *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร
0	0.015±0.00
2	0.030±0.00
4	0.115±0.01
6	0.584±0.04
8	1.075±0.01
10	1.037±0.03
12	0.987±0.05
24	0.956±0.05



รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร ที่วัดจากการเพาะเลี้ยง *Streptococcus mutans* ในเอกสารนี้ อาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สาเหตุนั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การวัดการเจริญของเชื้อด้วยวิธี Drop plate

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์จากเชื้อ 3 - 5 โคโลนีจากอาหารแข็ง BHI เพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลว BHI จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังบ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์ครบเวลาแล้ว ปิเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI 25 มิลลิตร นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที เพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อในหลอดเซนต์ปีฟว์ 1 มิลลิตร เจือจางแบคทีเรียในหลอดทดลองด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 % w/v) ครึ่งละ 10 เท่า จากนั้นนำแบคทีเรียที่เจือจางหยดตัวอย่างเจือจาง 20 ไมโครลิตร ลงบนเพลทอาหารแข็ง BHI จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส ด้วยการคว่ำเพลท บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.3 พบว่า มีปริมาณเชื้อมากที่สุดเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-5} ได้ปริมาณเชื้อ 1.13×10^8 cfu/ml เป็นเชื้อเริ่มต้นใช้สำหรับการทดสอบขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่เจริญในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชั่วโมง	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)			
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
เชื้อ 4 ชั่วโมง 30 นาที	TNTC	21	2	0
OD 600 เท่ากับ 0.25	TNTC	25	0	1
	TNTC	23	1	0
	TNTC	21	3	0
	TNTC	23	4	1
เฉลี่ย		22.6	0.4	0.20
เชื้อเริ่มต้น		1.13×10^8	6.4×10^7	1×10^7

4.2 ผลจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

จากการทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์จากเชื้อ 3 - 5 โคโลนีจากอาหารแข็ง BHI เพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลว BHI จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังบ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์ครบเวลาแล้ว ปิเปตต์หัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว BHI 5 มิลลิตร จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.25 โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เท่ากับ 0.25 (หรือประมาณ 1.13×10^8 cfu/ml) เจือจางด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 % w/v) ให้ได้ 1×10^5 cfu/ml จากนั้นนำมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่ไปโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญเติบโต โดยมีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ทดสอบ คือ อิริทริทอล, สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่มีความเข้มข้น 4 % (w/v) และคลอเฮกซิดีน 0.12 % (w/v) (chlorhexidine 0.12 % w/v) ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ทดสอบในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อบ่มครบเวลาแล้ว นำไปวัดความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ผลดังตารางที่ 4.3

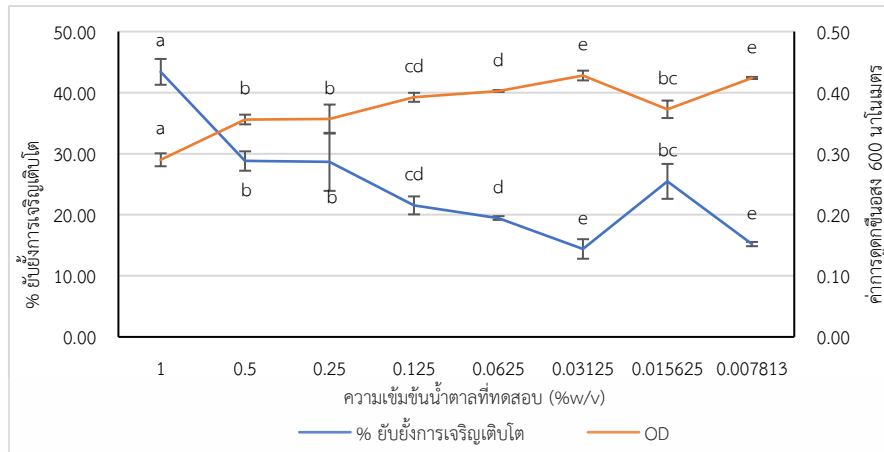
ตารางที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดต่างกันและความเข้มข้นต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร			% ยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Streptococcus mutans</i>		
	อิริทริทอล	สตีวีโอไซด์	ไซลิทอล	อิริทริทอล	สตีวีโอไซด์	ไซลิทอล
1	0.29 ^a ±0.01	0.39 ^a ±0.02	0.30 ^a ±0.01	43.40 ^a ±2.12	22.27 ^a ±2.89	39.53 ^a ±1.86
0.5	0.36 ^b ±0.01	0.48 ^b ±0.01	0.39 ^b ±0.01	28.80 ^b ±1.59	3.40 ^b ±1.73	21.20 ^b ±2.50
0.25	0.36 ^b ±0.02	0.48 ^b ±0.01	0.42 ^c ±0.01	28.67 ^b ±4.75	3.67 ^b ±1.21	15.60 ^c ±1.06
0.125	0.39 ^{cd} ±0.01	0.48 ^b ±0.02	0.45 ^d ±0.01	21.53 ^{cd} ±1.47	3.60 ^b ±3.70	10.33 ^d ±1.36
0.0625	0.40 ^d ±0.00	0.45 ^b ±0.04	0.42 ^c ±0.01	19.47 ^d ±0.31	10.00 ^b ±8.16	15.27 ^c ±1.10
0.03125	0.43 ^e ±0.01	0.47 ^b ±0.02	0.48 ^e ±0.01	14.40 ^e ±1.60	6.67 ^b ±4.98	3.40 ^e ±1.56
0.015625	0.38 ^{bc} ±0.02	0.46 ^b ±0.05	0.46 ^d ±0.01	25.47 ^{bc} ±2.86	8.47 ^b ±8.42	7.67 ^d ±2.48
0.007813	0.43 ^e ±0.01	0.46 ^b ±0.00	0.42 ^c ±0.01	15.20 ^e ±0.35	8.73 ^b ±0.31	15.60 ^c ±1.06

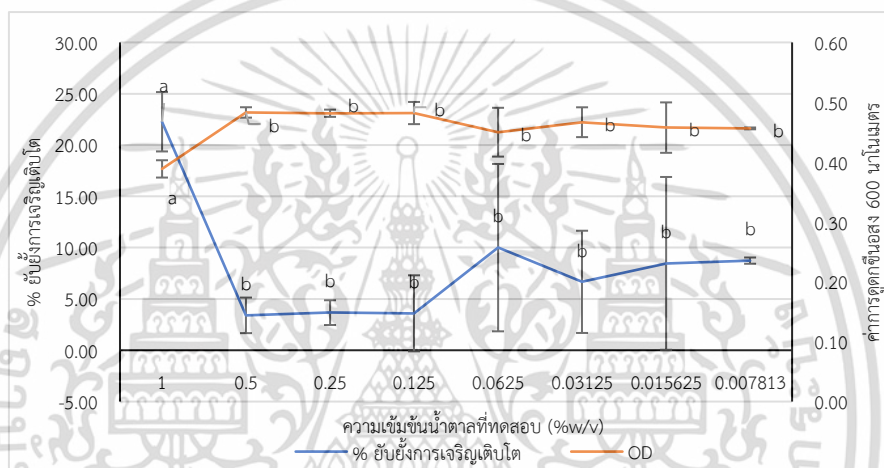
หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงผลคือ ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากตารางที่ 4.4 วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษาระดับความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan's new multiple range procedure โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0 จากรูปที่ 4.3 พบว่ามี % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* เมื่อเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05

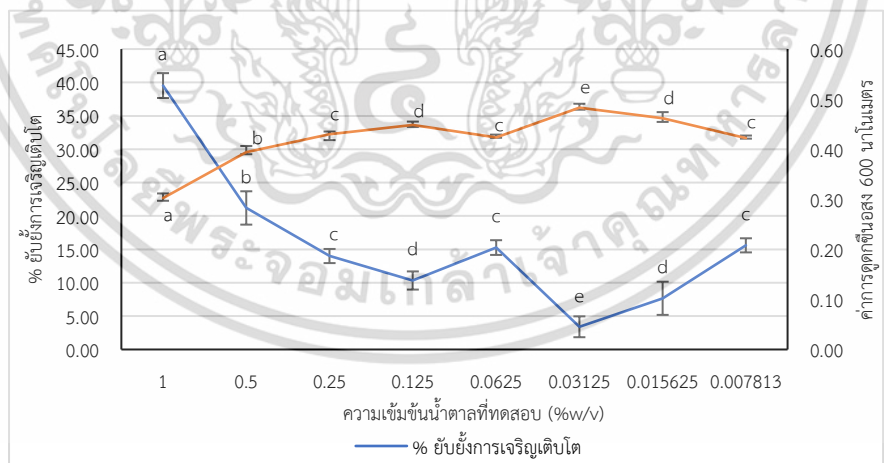
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)



(ค)

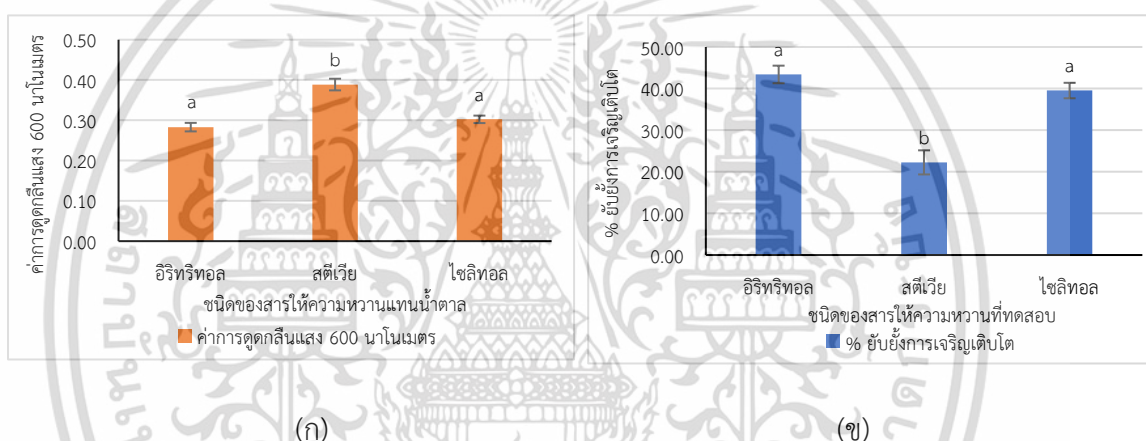
รูปที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล ดังนี้ (ก) อิริทริทอล (ข) สตีวีโอไซด์ (ค) ซิลิทอล เพื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ต่างกัน

การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)

ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ทดสอบ (%w/v)	ชนิดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาล	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	% ยับยั้งการเจริญเติบโต
1	อิริทริทอล	0.29 ^a ±0.01	43.40 ^a ±2.12
	สตีวีโอไซด์	0.39 ^a ±0.02	22.27 ^a ±2.89
	ไซลิทอล	0.30 ^a ±0.01	39.53 ^a ±1.86



รูปที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานชนิดต่างกันและความเข้มข้น 1 %(w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ก) ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร (ข) % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans*

จากตารางที่ 4.4 วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษา ระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan's new multiple range prodeure โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0 ทำการเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าอิริทริทอลและไซลิทอลที่ระดับความเข้มข้น 1 %(w/v) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้นสตีวีโอไซด์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังรูปที่ 4.4

จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาล พบว่าอิริทริทอลความเข้มข้น 1 %(w/v) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.29 ซึ่งเป็นค่าน้อยที่สุดและ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* คือ 43.40% เป็น

สารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ดีที่สุดที่มีการเจริญเติบโตลดลงของ *S. mutans* มากที่สุด และไฮลิตอลที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.30 และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* คือ 39.53% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Söderling et al. (2009) ทำการศึกษาผลการยับยั้งการเจริญเติบโตและการยึดเกาะของเชื้อกลุ่ม streptococci โดยเปรียบเทียบไฮลิตอลและอิริทริทอลที่ความเข้มข้น 2 % (w/v) และ 4 % (w/v) พบว่าไฮลิตอลและอิริทริทอลความเข้มข้น 4 % (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* และ *S. sobrinus* ได้ดีกว่าความเข้มข้น 2 % (w/v) แม้ว่าทั้งไฮลิตอลและอิริทริทอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการยึดเกาะ แต่ระดับของการยับยั้งและรูปแบบการยับยั้งนั้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของกลุ่ม streptococci

มีงานวิจัยของ Söderling et al. (2021) ศึกษาไฮลิตอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* NCTC10449 และเชื้อ *S. mutans* ที่แยกได้ 3 ชนิด เมื่อทำการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเติบโต 5 สายพันธุ์ กับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีไฮลิตอล พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำกว่ามีผลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นที่สูง

ผลจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาล พบว่า สตีวีโอไซด์ที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.39 และ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* คือ 22.27% จากงานวิจัยของ Ajagannavar et al. (2014) ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดสตีเวียที่สกัดได้จากน้ำและแอลกอฮอล์ ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *L. acidophilus* เทียบกับสารกลุ่มคลอร์เฮกซิดีน พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากน้ำที่สามารถยับยั้ง *S. mutans* ที่ความเข้มข้น 25 % (w/v) และ *L. acidophilus* ความเข้มข้น 50 % (w/v) และความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากแอลกอฮอล์ที่สามารถยับยั้ง *S. mutans* ความเข้มข้น 12.5 % (w/v) และ *L. acidophilus* ความเข้มข้น 6.25 % (w/v) จะเห็นได้ว่าสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากแอลกอฮอล์มีผลการยับยั้งการเจริญเติบโต *S. mutans* และ *L. acidophilus* ดีกว่าสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากน้ำ อาจเป็นผลมาจากสารสกัดสตีเวียละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จึงทำให้มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากน้ำ และสารสกัดสตีเวียที่สกัดจากแอลกอฮอล์นั้นมีความสามารถเทียบเท่าผลการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยคลอร์เฮกซิดีน ต่อ *S. mutans* และ *L. acidophilus*

4.3 ผลการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์จากเชื้อ 3 - 5 โคโลนี จากอาหารแข็ง BHI เพาะเลี้ยงต่อในอาหารเหลว BHI จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังบ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์ครบเวลาแล้ว ปิเปิดหัวเชื้อจุลินทรีย์จากการเพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารเหลว BHI จุดเทียบก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.25 โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เท่ากับ 0.25 (หรือประมาณ 1.13×10^8 cfu/ml) เจือจางด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 % (w/v))

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

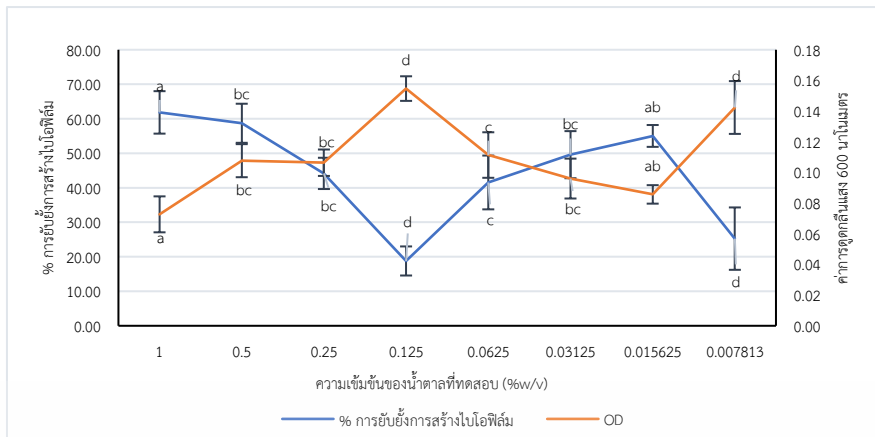
ให้ได้ 1×10^5 cfu/ml โดยมีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ทดสอบ คือ อิริทริทอล, สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่มีความเข้มข้น 4 % (w/v) และคลอเฮกซิดีน 0.12 % (w/v) (chlorhexidine 0.12 % w/v) ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ แต่อาหารเหลว BHI 4 เท่าที่เติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) 4 % (w/v) และอาหารเหลว BHI 2 เท่าที่เติมน้ำตาลซูโครส (sucrose) 2 % (w/v) ทดสอบในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุม จุดเทียนก่อนนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ (incubator) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้ว ปิเปตต์เชื้อออกจากเพลทออก ล้างเพลทด้วยเติมน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 % w/v) 200 ไมโครลิตร เพื่อชะล้างและทิ้งเพลทไว้ให้แห้ง จากนั้นตรึงไปโอฟิล์มโดยเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 99.8 % (v/v) (ethyl alcohol absolute 99.8 % v/v) หลุมละ 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 15 นาที ย้อมเพลทโดยการเติมคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 % (v/v) (crystal violet 0.01 % v/v) 200 ไมโครลิตร เวลา 15 นาที คว่ำเพลทไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้แห้ง ชะล้างเพลททีกรอบด้วยน้ำกลั่น สุดท้ายเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % (v/v) (ethyl alcohol 95 % v/v) ลงแต่ละหลุมแล้ว จากนั้นปิเปตต์แต่ละหลุมใส่ในไมโครไทเทอร์เพลท 96 หลุมอันใหม่ วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตรของสีสารคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 % (v/v) (crystal violet 0.01 % v/v) ที่ย้อมไปโอฟิล์ม โดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ได้ผลค่าการดูดกลืนแสง ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI มีสารให้ความหวานชนิดต่างกันและความเข้มข้นต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

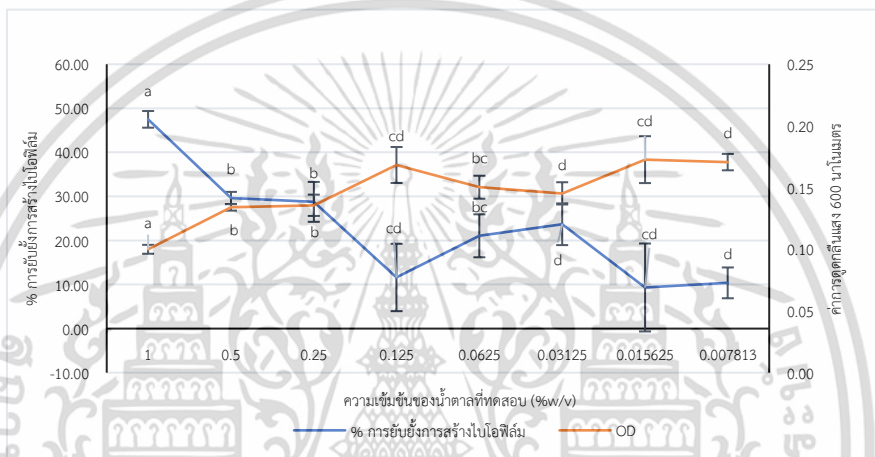
ความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ (%w/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร			% การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>S. mutans</i>		
	อิริทริทอล	สตีวีโอไซด์	ไซลิทอล	อิริทริทอล	สตีวีโอไซด์	ไซลิทอล
1	0.07 ^a ±0.01	0.10 ^a ±0.00	0.08 ^a ±0.01	61.84 ^a ±6.15	47.49 ^a ±1.89	57.47 ^a ±5.53
0.5	0.11 ^{ab} ±0.01	0.13 ^b ±0.00	0.12 ^b ±0.01	43.46 ^{bc} ±5.66	29.64 ^b ±1.39	36.99 ^b ±3.79
0.25	0.11 ^{ab} ±0.01	0.14 ^b ±0.01	0.16 ^c ±0.01	44.16 ^{bc} ±4.52	28.76 ^b ±4.53	18.26 ^c ±6.69
0.125	0.15 ^d ±0.01	0.17 ^{cd} ±0.01	0.19 ^d ±0.01	18.78 ^d ±4.21	11.61 ^{cd} ±7.65	2.16 ^d ±3.94
0.0625	0.11 ^c ±0.01	0.15 ^{bc} ±0.01	0.14 ^c ±0.02	41.54 ^c ±7.79	21.06 ^{bc} ±4.88	25.61 ^c ±9.53
0.03125	0.10 ^{bc} ±0.01	0.17 ^d ±0.01	0.14 ^c ±0.01	49.59 ^{bc} ±6.83	9.33 ^d ±4.74	25.96 ^c ±2.92
0.015625	0.09 ^{ab} ±0.01	0.16 ^{cd} ±0.01	0.16 ^c ±0.01	55.02 ^{ab} ±3.17	14.23 ^{cd} ±9.98	17.73 ^c ±5.05
0.007813	0.14 ^d ±0.02	0.17 ^d ±0.01	0.09 ^a ±0.01	25.26 ^d ±9.04	10.38 ^d ±3.50	50.46 ^a ±3.50

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงผลคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

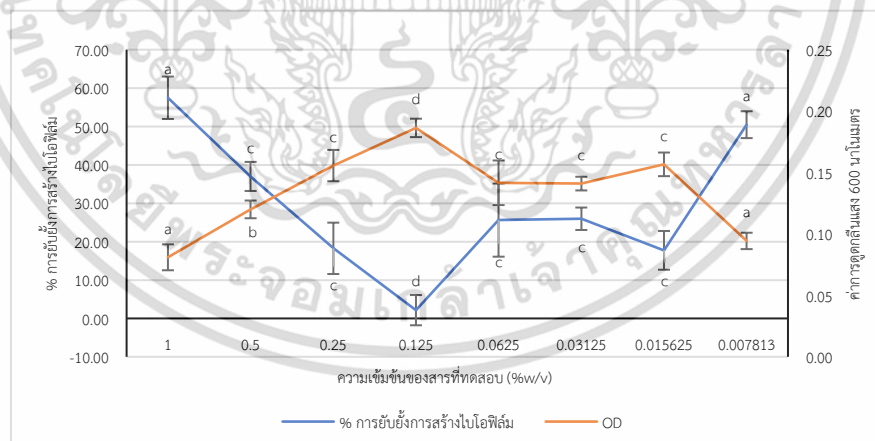
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)



(ค)

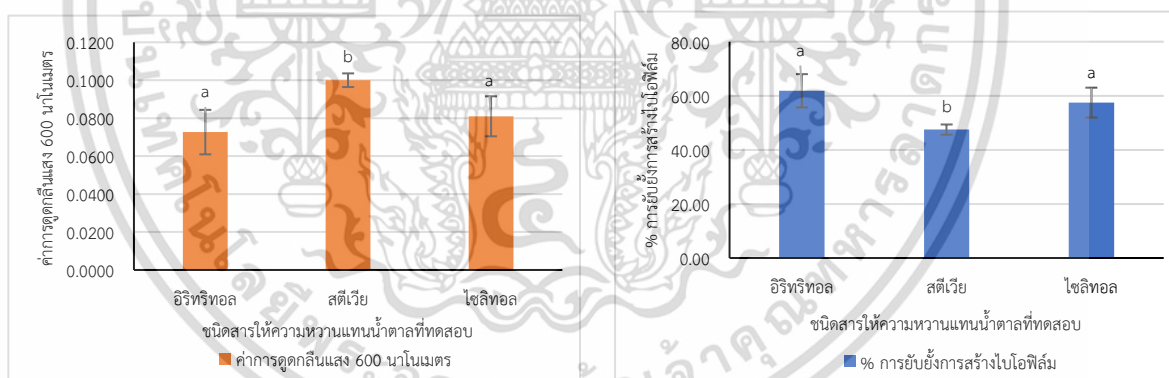
รูปที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ดังนี้ แสดงรูป (ก) อิริทริทอล (ข) สตีวีโอไซด์ (ค) ซิลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษาระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan's new multiple range prodeure โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0 จากรูปที่ 4.5 สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทั้งสามชนิดสามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* ได้ เมื่อเปรียบเทียบน้ำตาลชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)

ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ทดสอบ (%w/v)	ชนิดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาล	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	% การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม
1	อิริทริทอล	0.07 ^a ±0.01	61.84 ^a ±6.15
	สตีวีโอไซด์	0.10 ^a ±0.00	47.49 ^a ±1.89
	ไซลิทอล	0.08 ^a ±0.01	57.47 ^a ±5.53



(ก)

(ข)

รูปที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI ที่มีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดต่างกันและความเข้มข้น 1 %(w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ก) ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร (ข) % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษา ระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan's new multiple range prodeure โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0 สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทั้งสามชนิดสามารถยับยั้งการ สร้างไบโอฟิล์มได้ในระดับที่แตกต่างกัน โดยทำการเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่าง ชนิดกันที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าอิริทริทอลและไซลิทอลที่ระดับความเข้มข้น 1 %(w/v) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้นสตีวีโอไซด์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับ นัยสำคัญ 0.05 ดังรูปที่ 4.6

ผลจากการทดสอบการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* พบว่าอิริทริทอลที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) มีการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มสูงสุด คือ 61.84% มีค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.07 ดังรูปที่ 4.5

งานวิจัยของ Saran et al. (2015) ทดสอบทดสอบโดยใช้อิริทริทอลบริสุทธิ์ที่ได้จากการหมัก ด้วยจุลินทรีย์ พบว่าอิริทริทอลยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* อย่างมีนัยสำคัญ อิริทริทอล สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มโดย *S. mutans* ลดลง คือ 30.12%, 36.42% และ 40.2% เมื่อ อิริทริทอลความเข้มข้น 3 %(w/v), 4 %(w/v) และ 5 %(w/v) ตามลำดับ และการศึกษาการยับยั้ง การเจริญเติบโตโดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี พบว่าความเข้มข้นของอิริทริทอลตั้งแต่ความเข้มข้น 5 %(w/v) ขึ้นไปส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงมากกว่า 78% พบว่าความเข้มข้นของอิริทริทอลที่ต่ำ กว่ามีผลการยับยั้งการเจริญเติบโตได้น้อยลง

ไซลิทอลความเข้มข้น 1 %(w/v) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.08 และการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มคือ 57.47% จากงานวิจัยของ Nassar et al. (2021) ศึกษา ผลของไซลิทอลต่อการสร้างไบโอฟิล์มและการเจริญเติบโตของ *S. mutans* 7 สายพันธุ์ (UA159, A32-2, NG8, 10449, UA130, LM7 และ OMZ175) ทดสอบในไมโครไทเทอร์เพลทที่มีไซลิทอล ความเข้มข้นต่างๆ (0.0, 0.0016, 0.0031, 0.0063, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 กรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มและการเจริญเติบโตของ *S. mutans* โดย วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 0.0, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 กรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไซลิทอลสามารถยับยั้ง การสร้างไบโอฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญสำหรับทุกสายพันธุ์ที่ 0.4 กรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการทดสอบจากงานวิจัยนี้อิริทริทอลและไซลิทอลแสดงให้เห็นว่า % ยับยั้งการเจริญเติบโต และการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* มีค่าใกล้เคียงกัน สอดคล้องงานวิจัย Park et al. (2014) ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอลต่อโรคฟันผุแสดงให้เห็นว่าอิริทริทอลไม่ได้ใช้ สำหรับเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแลคติก หรือสำหรับการสร้างไบโอฟิล์มจากเชื้อกลุ่ม Streptococci บางชนิด พบว่าอิริทริทอลมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ในระดับที่ใกล้เคียงกับไซลิทอล

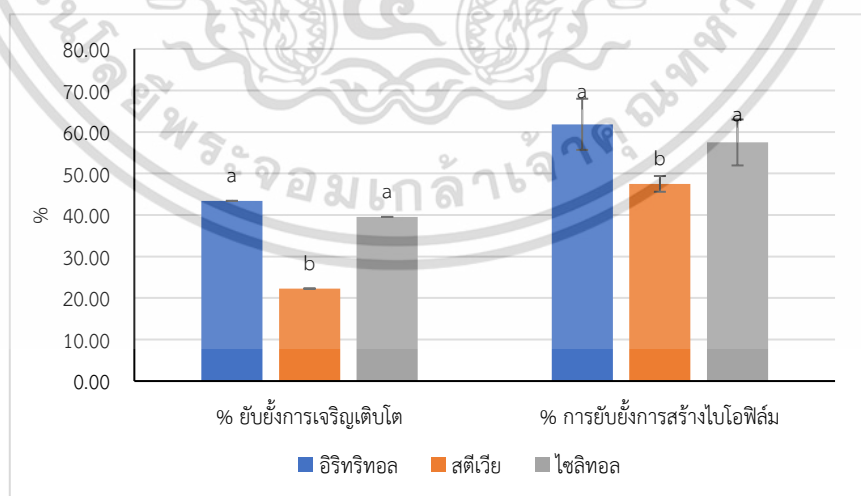
สตีวีโอไซด์ที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) มีร้อยละการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม คือ 47.49% แต่ค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.10 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Escobar et al. (2020) ทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการ ยับยั้งไบโอฟิล์ม (MBIC) ของสตีเวีย (stevia) ต่อ *S. mutans* UA159 พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการ ยับยั้ง (MIC) คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทั่วไปการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ไม่ได้

กำหนดไว้ว่าความเข้มข้นของสตีเวีย (stevia) จะต้องสูง เมื่อเทียบกับการสร้างไบโอฟิล์มมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสตีเวีย (stevia) สูงขึ้น มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งไบโอฟิล์ม (MBIC) คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

งานวิจัยของ Guo et al. (2023) ศึกษาสตีวิโอไซด์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม เมื่อเปรียบเทียบสตีวิโอไซด์ 1 %(w/v) เพียงอย่างเดียวและสตีวิโอไซด์ 1 %(w/v) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1 %(w/v) พบว่า มีการสร้างไบโอฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) แสดงให้เห็นว่าการทดสอบสตีวิโอไซด์ร่วมกับน้ำตาลซูโครสไม่สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียไม่ได้ใช้สตีวิโอไซด์เพื่อสร้าง Extracellular polysaccharide, EPS หรือสร้างกรด ในขณะที่เดียวกันสามารถเปลี่ยนโครงสร้างไบโอฟิล์มและลดปริมาณไบโอฟิล์มของ *S. mutans* ในการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการเติมน้ำตาลซูโครสช่วยลดผลยับยั้งของสตีวิโอไซด์ได้อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.7 % การยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)

ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ทดสอบ (%w/v)	ชนิดของน้ำตาล	% ยับยั้งการเจริญเติบโต	% การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม
1	อิริทริทอล	43.40 ^a ±2.12	61.84 ^a ±6.15
	สตีวิโอไซด์	22.27 ^a ±2.89	47.49 ^a ±1.89
	ไซลิทอล	39.53 ^a ±1.86	57.47 ^a ±5.53



รูปที่ 4.7 % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* ในอาหารเหลว BHI บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v)

จากตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) โดยมี % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *Streptococcus mutans* นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษาระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan's new multiple range pro dure โดยใช้โปรแกรม SPSS 3.0 พบว่า สารให้ความหวานแทนน้ำตาลทั้งสามชนิดมีการเจริญเติบโตลดลงและสามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มได้ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อิริทริทอลและไซลิทอลที่ระดับความเข้มข้น 1 %(w/v) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้นสติวิโอไซด์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังรูปที่ 4.7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาโครงงานพิเศษในครั้งนี้ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อและหาอัตราการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* พบว่าเวลาที่ใช้ในเพาะเลี้ยงเชื้อ คือ 4 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.25 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 1.13×10^8 cfu/ml และผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* โดยมีสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ทดสอบ คือ อิริทริทอล, สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษาระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลด้วยวิธี duncan เมื่อเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จากค่าการดูดกลืนแสงเทียบ % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยอิริทริทอลที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.29 มีการเจริญเติบโตลดลงโดยเทียบค่าการดูดกลืนแสงมี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 43.40% และผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.07 เทียบค่าการดูดกลืนแสงมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม 61.84% เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ให้ผลที่ดีที่สุด รองลงมาคือไซลิทอลที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.30 มีการเจริญเติบโตลดลงโดยเทียบค่าการดูดกลืนแสงมี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 39.53% และมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.08 เทียบค่าการดูดกลืนแสงมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม 57.47% สุดท้ายคือสตีวีโอไซด์ที่ความเข้มข้น 1 %w/v วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.39 มีผลการเจริญเติบโตลดลงโดยเทียบค่าการดูดกลืนแสงมี % ยับยั้งการเจริญเติบโต 22.27% และมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) วัดค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.10 เทียบค่าการดูดกลืนแสงมีผลยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม 47.49% จึงทำการเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน จากค่าการดูดกลืนแสงเทียบ % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม โดยนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) เพื่อศึกษาระดับความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) พบว่าอิริทริทอลและไซลิทอลที่ระดับความเข้มข้น 1 %(w/v) มี % ยับยั้งการเจริญเติบโตและการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้นสตีวีโอไซด์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05 และการเปรียบเทียบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่างชนิดกันที่ความเข้มข้น 1 %(w/v) โดยมี % ยับยั้งการเจริญเติบโต และ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อิริทริทอลและไซลิทอลที่ระดับความเข้มข้น 1 %(w/v) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีระดับนัยสำคัญ 0.05 ยกเว้นสตีวีโอไซด์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ทดสอบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลชนิดอื่นกับเชื้อ *Streptococcus mutans*
2. การศึกษาและพัฒนาต่อไปในอนาคตอาจจะต้องปรับเปลี่ยนขั้นตอนและวิธีการทดสอบสารให้ความหวานแทนน้ำตาลและเชื้อ *Streptococcus mutans* หรือเชื้ออื่นๆที่เกี่ยวข้องนอกเหนือจากงานวิจัยนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ทักษิณี สลัดยະนันทน์, นวลฉวี หงษ์ประสงค์, สุพันธ์ พงษ์สามารถ, วันดี อภินทสมิต และพสุธา ัญญะกิจไพศาล. 2550. “สารพอลิแซ็กคาไรด์เจลสกัดจากเปลือกทุเรียน: ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตค็อกคัสมิวแทนส์และแอกทริกเทททิแบกเทอร์ แอกทีโนไมซีเทมคอมมิแทนส์”. *CU Dent J.* 30: 235-44.
- บริษัท ทินกร เคมีคอล แอนด์ ซัพพลาย จำกัด. “Erythritol (อิริทริทอล)”. [Online]. เข้าถึงได้จาก <https://www.tinnakorn.com/erythritol/>.
- ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานพนธ์. “อิริทริทอล”. [Online]. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/002574/erythritol>.
- ผศ.ดร.ฉัตรภา หัตถโกศล. 2564. “น้ำตาลอิริทริทอล (Erythritol) คืออะไร ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอย่างไร”. [Online]. เข้าถึงได้จาก <https://www.gourmetandcuisine.com/stories/detail/1209>.
- พิกุล อินตะปาน. 2556. “ผลของสารสกัดจากหญ้าหวานและพืชสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร”. การประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 4 คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร. BL-172- BL178.
- พิสมัย กุลกาญจนาร. “หวาน-ธรรมชาติ-เพื่อสุขภาพ”. [Online]. <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/107/หวาน-ธรรมชาติ-เพื่อสุขภาพ/> 2012.
- ศิริลักษณ์ หอมละเอียด. 2557. “ฤทธิ์การยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans* จากสารสกัดใบกระทุ”. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ “สารไซลิทอล”. [Online]. เข้าถึงได้จาก <https://www.disthai.com/17290402/%E0%B9%84%E0%B8%8B%E0%B8%A5%E0%B8%B4%E0%B8%97%E0%B8%AD%E0%B8%A5>.
- อรนาฏ มาตังคสมบัติ, พนิดา ัญญะศรีสังข์. 2562. “สารให้ความหวานแทนน้ำตาลกับผลต่อสุขภาพร่างกายและสุขภาพช่องปาก”. *Matangkasombut and Thanyasrisung.* vol.69 : 381-382.
- Ajagannavar, S, Shamarao, S, Battur, H, Tikare, S, AlKheraif, A. and Sayed, M. 2014. “Effect of aqueous and alcoholic Stevia (*Stevia rebaudiana*) extracts against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: An in vitro study”. DOI: 10.4103/2231-0762.146215.
- Cannon, M I, Merchant, M, Kabat, W, Catherine, L, White, K, Unruh, B , Ramones, A. and Biria, M. 2020. “In Vitro Studies of Xylitol and Erythritol Inhibition of *Streptococcus*”. doi 10.17796/1053-4625-44.5.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Digel, I, Kern, I, Geenen, E. and Akimbekov, N. 2020. “Dental Plaque Removal by Ultrasonic Toothbrushes”. *Review* doi:10.3390.
- Escobar, E, Piedrahita, M. and Gregory, R. 2020. “Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana* Bertoni”. *Original Article* 24:3237–3242.
- Gupta, M. 2018. “Sugar Substitutes: Mechanism, Availability, Current Use and Safety Concerns-An Update”. 6(10):1888-1894.
- Iizuka, K. 2022. “Is the Use of Artificial Sweeteners Beneficial for Patients with Diabetes Mellitus? The Advantages and Disadvantages of Artificial Sweeteners”. *Review* 14, 4446.
- LEMOS, J, PALMER, S, ZENG, L, WEN, Z, KAJFASZ, J, FREIRES, I, ABRANCHES, J. and BRADY, L. 2023. “The Biology of *Streptococcus mutans*”. Doi : 10.1128.
- Mazi, T and Stanhope, K. 2023. “Erythritol: An In-Depth Discussion of Its Potential to Be a Beneficial Dietary Component”. *Review* 15(1), 204.
- Mehta, R, Pundir, R, Akhar, D. and Sharma, A. 2016. “Herbal Formulation Against Dental Caries Causing Microorganisms Using Extracts of *Stevia Rebaudiana* Leaves (A Natural Sweetener)”. 2210- 3 163/16.
- Michaud, D, Zhuxuan, F, Jian, S. and Chung, M. 2017. “Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk”. *Epidemiologic Rev* vol.39 : 49–58.
- Guo, M, Yang, K, Zhou, Z, Chen, Y, Zhou, Z, Chen, P, Huang, R. and Wang, X. 2023. “Inhibitory effects of Stevioside on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* dual-species biofilm”. *Original Article* 10.3389/fmicb.2023.1128668.
- Nassar, H, Alhazzazi, T, Hc dazzazi, L. and Gregory, R. 2021. “The anticariogenic effect of xylitol on seven *Streptococcus mutans* strains”. *MEDICAL SCIENCE*.
- Nayak, P, Nayak, U. and Khandelwal, V. 2014. “The effect of xylitol on dental caries and oral flora”. *Review* 2014:6.
- Park, M, Baek, H, Han, J. and Lee, H. 2022. “Stevioside Enhances the Anti-Adipogenic Effect and β -Oxidation by Activating AMPK in 3T3-L1 Cells and Epididymal Adipose Tissues of *db/db* Mice”. *Article* 11, 1076.
- Park, Y, Jeong, S, Zeng, J, Kim, S, Hong, S, Ohk, S. and Choi, C. 2014. “Anti-cariogenic Effects of Erythritol on Growth and Adhesion of *Streptococcus mutans*”. *Food Sci Biotechnol* ;23(5):1587-91.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Puechkaset. 25. “หญ้าหวาน (Stevia) สรรพคุณ และการปลูกหญ้าหวาน”. [Online].
<https://puechkaset.com/%E0%B8%AB%E0%B8%8D%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%99/>.
- Salli, K, Lehtinen, M, Tiihonen, K. and Ouwehand, A. 2019. “Xylitol’s Health Benefits beyond Dental Health”. A Comprehensive Review doi : 10.3390.
- Saran, S, Mukherjee, S, Dalal, J. and Saxena, R. 2015. “High production of erythritol from *Candida sorbosivorans* SSE-24 and its inhibitory effect on biofilm formation of *Streptococcus mutans*”. 198 (2015) 31-38.
- Serna, L, Loaiza, S, Masi, A, Mach, R, Aigner, A. and Friedl, Anton. 2021. “From the culture broth to the erythritol crystals: an opportunity for circular economy”. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 105:4467–4486.
- Shinde, M and Winnier, J. 2020. “Comparative evaluation of Stevia and Xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* count – A pilot study”. *Research* 12(6) : e568-73.
- Sichani, M, Karbasizadeh, V, Aghai, F. and Mofid, R. 2012. “Effect of different extracts of *Stevia rebaudiana* leaves on *Streptococcus mutans* growth”. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(32), pp. 4731-4734, 22 August, 2012.
- Sneath, P, Mair, N, Sharpe, M. and Holt, J. 1986. “BERGEY’S MANUAL of systemic bacteriology”. *Williams & Wilkins* 2: 1054-1063.
- Söderling, E. and Lenkkeri, A. 2009. “Xylitol and Erythritol Decrease Adherence of Polysaccharide-Producing Oral Streptococci”. 60:25–29. DOI 10.1007/s00284-009-9496-6.
- Söderling, E. and Pienihäkkinen, K. 2021. “Effects of xylitol chewing gum and candies on the accumulation of dental plaque”. a systematic review 26.
- Vaziriamjad, S, Solgi, M, Kamarehei, F, Nourí, F. and Taheri, M. 2022. “Evaluation of L-arginine supplement on the growth rate, biofilm formation, and antibiotic susceptibility in *Streptococcus mutans*”. *European Journal of Medical Research* 27:108.
- Yog, O. 2014. “*Streptococcus mutans*”. [Online].
<https://www.biologiedukasi.com/2014/10/streptococcus-mutans-penyebab-karies.html>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

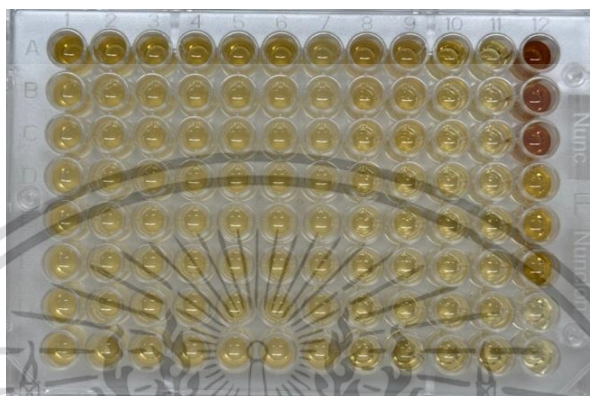


ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
รูปผลการทดลอง

รูปที่ ก.1 ผลทดสอบไมโครไทเทอร์เพลทหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของอิริทริทอลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans*

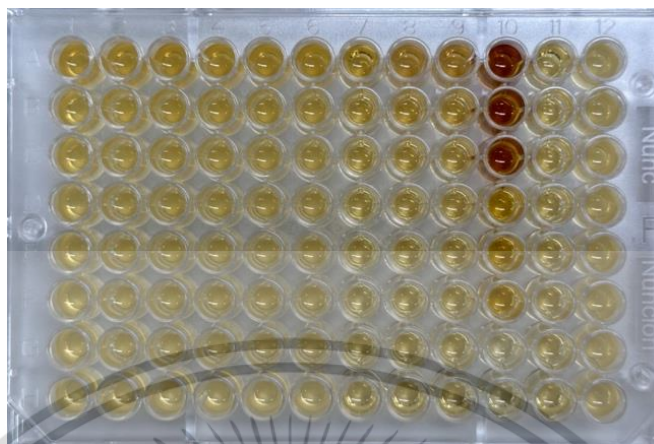


หมายเหตุ

- แถวที่ 1-6 คือ อิริทริทอล และเชื้อ *S. mutans* โดยเจือจางความเข้มข้นน้ำตาล แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 7 คือ อาหารเหลว BHI และเชื้อ *S. mutans* เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control)
- แถวที่ 8 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และเชื้อ *S. mutans* เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยเจือจางความเข้มข้นคลอเฮกซิดีน แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 9 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นคลอเฮกซิดีน แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 10 คือ อิริทริทอล และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นน้ำตาล แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 11 คือ อาหารเหลว BHI และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v)
- แถวที่ 12 คือ อาหารเหลว BHI เปร่า โดยแถว A - C คือ อาหารเหลว BHI 4 เท่า
แถว D - F คือ อาหารเหลว BHI 2 เท่า
แถว G - H คือ อาหารเหลว BHI สูตรปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.2 ผลทดสอบไมโครโทเทอร์เพลทหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสตีวีโอไซด์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans*

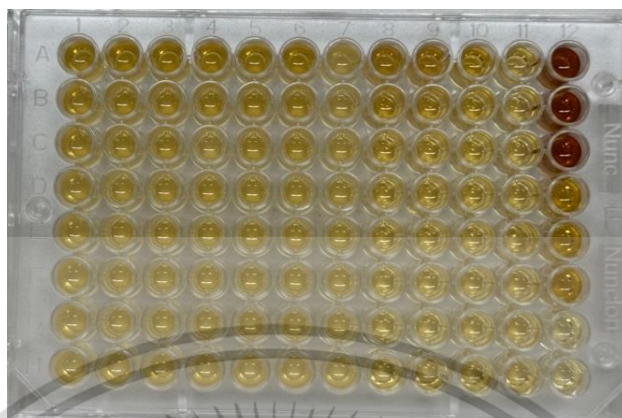


หมายเหตุ

- แถวที่ 1-6 คือ สตีวีโอไซด์ และเชื้อ *S. mutans*
โดยเจือจางความเข้มข้นน้ำตาล แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 7 คือ สตีวีโอไซด์ และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นน้ำตาล แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 8 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และเชื้อ *S. mutans*
เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยเจือจางความเข้มข้นของคลอเฮกซิดีน แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 9 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นของคลอเฮกซิดีน แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 10 คือ อาหารเหลว BHI โดยแถว A - C คือ อาหารเหลว BHI 4 เท่า
แถว D - F คือ อาหารเหลว BHI 2 เท่า
แถว G - H คือ อาหารเหลว BHI สูตรปกติ
- แถวที่ 11 คือ อาหารเหลว BHI และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline 0.85 %w/v)
- แถวที่ 12 คือ อาหารเหลว BHI และเชื้อ *S. mutans*
เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.3 ผลทดสอบไมโครโทเทอร์เพลทหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของไซลิทอลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans*

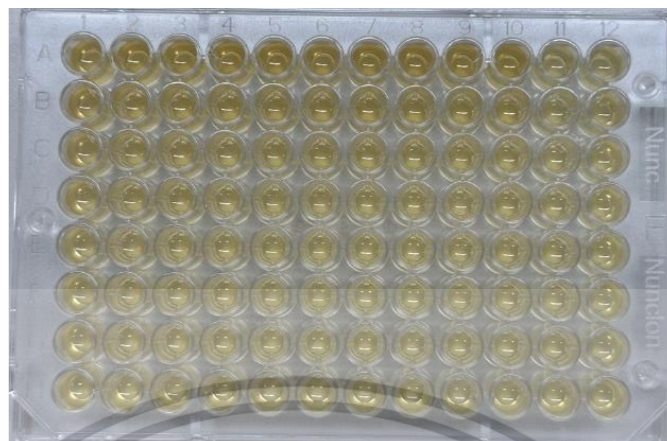


หมายเหตุ

- แถวที่ 1-6 คือ ไซลิทอล และเชื้อ *S. mutans*
โดยเจือจางความเข้มข้นน้ำตาล แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 7 คือ อาหารเหลว BHI และเชื้อ *S. mutans*
เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control)
- แถวที่ 8 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และเชื้อ *S. mutans*
เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยเจือจางความเข้มข้น
คลอเฮกซิดีน แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 9 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v)
(normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นคลอเฮกซิดีน
แถว A (0.06%) – H (0.00046875%)
- แถวที่ 10 คือ ไซลิทอล และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v) (normal saline
0.85 %w/v)
โดยเจือจางความเข้มข้น แถว A (1%) – H (0.0078125%)
- แถวที่ 11 คือ อาหารเหลว BHI และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v)
(normal saline 0.85 %w/v)
- แถวที่ 12 คือ อาหารเหลว BHI โดยแถว A - C คือ อาหารเหลว BHI 4 เท่า
แถว D - F คือ อาหารเหลว BHI 2 เท่า
แถว G - H คือ อาหารเหลว BHI สูตรปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.4 ผลทดสอบไมโครโทเทอร์เพลทการยับยั้งไบโอฟิล์มของอิริทริทอลและสตีวิโอไซด์

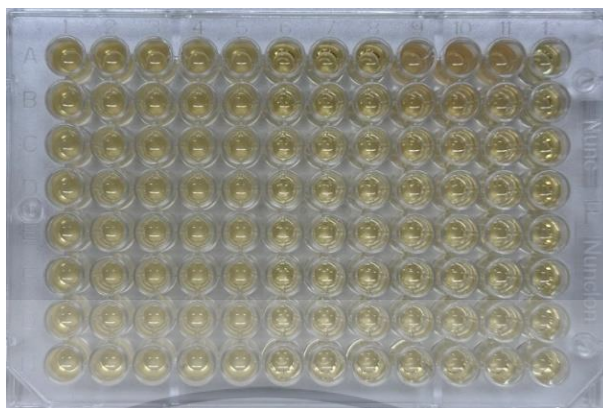


หมายเหตุ

- แถวที่ 1-5 คือ อิริทริทอล และเชื้อ *S. mutans*
 เจริญจากความเข้มข้นของ
 แถว A (1%) – H (0.0078125%)
 แถวที่ 6-10 คือ สตีวิโอไซด์ โดยเจริญจากความเข้มข้น
 แถว A (1%) – H (0.0078125%)
 แถวที่ 11-12 คือ ซูโครส (sucrose) กับเชื้อ *S. mutans*
 เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.5 ผลทดสอบไมโครไทเทอร์เพลทการยับยั้งไบโอฟิล์มของไซลิทอล



หมายเหตุ

แถวที่ 1-5 คือ ไซลิทอล และเชื้อ *S. mutans*

โดยเจือจางความเข้มข้นของ

แถว A (1%) – H (0.0078125%)

แถวที่ 6 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) ซูโครส (sucrose)

และเชื้อ *S. mutans* เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control)

โดยเจือจางความเข้มข้น แถว A (1%) – H (0.0078125%)

แถวที่ 7 คือ คลอเฮกซิดีน (chlorhexidine) ซูโครส และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85

% (w/v) (normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้นของ

แถวที่ 8-10 คือ ซูโครส (sucrose) อิริทริทอล (แถว 8), สตีวีโอไซด์ (แถว 9),

ไซลิทอล (แถว 10) และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v)

(normal saline 0.85 %w/v) โดยเจือจางความเข้มข้น

แถว A (1%) – H (0.0078125%)

แถวที่ 11 คือ ซูโครส (Sucrose) และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ 0.85 % (w/v)

(normal saline 0.85 %w/v)

แถวที่ 12 คือ อาหารเหลว BHI

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของ *Streptococcus mutans* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI ป่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาตร เซลล์ (มิลลิลิตร)	น้ำหนัก หลอดเปล่า (กรัม)	น้ำหนักหลอด และเซลล์ (กรัม)	น้ำหนักเซลล์ (กรัม/ มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)
0	1	1.0421	1.0423	0.0002	0.2
2	1	1.0484	1.0488	0.0004	0.4
4	1	1.0407	1.0419	0.0012	1.2
6	1	1.0563	1.0580	0.0017	1.7
8	1	1.0606	1.0625	0.0019	1.9
10	1	1.0278	1.0298	0.0020	2.0
12	1	1.0550	1.0566	0.0016	1.6
24	1	1.0676	1.0690	0.0014	1.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการเตรียมสารละลาย

การเตรียมสาร Normal saline 0.85 %(w/v)

เตรียมสารละลาย Normal Saline 0.85 %(w/v) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำโซเดียมคลอไรด์มาชั่งให้ได้ 8.5 กรัม ละลายโซเดียมคลอไรด์ 8.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 %(v/v)

เตรียมสารคริสตัลไวโอเล็ต 0.01 %(v/v) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งคริสตัลไวโอเล็ต 0.02 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% 20 มิลลิลิตร และละลายแอมโมเนียมออกซาลेट 0.08 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมสารละลายคริสตัลไวโอเล็ตและแอมโมเนียมออกซาลेटเข้าด้วยกันแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง กรองเสร็จนำไปเจือจาง 10 เท่า จะได้ความเข้มข้นที่ 0.01 %(v/v)

การเตรียมสารละลายไซลิทอล 4 %(w/v)

เตรียมสารละลายไซลิทอล 400 มิลลิกรัมต่อปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่งไซลิทอล 400 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

การเตรียมสารละลายอิริทริทอล 4 %(w/v)

เตรียมสารละลายอิริทริทอล 400 มิลลิกรัมต่อปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยอิริทริทอล 400 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

การเตรียมสารละลายสตีวีโอไซด์ 4 %(w/v)

เตรียมสารละลายสตีวีโอไซด์ 400 มิลลิกรัมต่อปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่งสตีวีโอไซด์ 400 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

การเตรียมอาหารเหลว Brain Heart Infusion 2 เท่า

เตรียมอาหารเหลว BHI ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 จากสูตรอาหารปกติ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยนำ $3.7 \times 2 = 7.4$ กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้อาหารเหลว BHI ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าจากสูตรอาหารปกติ หลังจากนั้นผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหารเหลว Brain Heart Infusion 4 เท่า

เตรียมอาหารเหลว BHI ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 จากสูตรอาหารปกติ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยนำ $3.7 \times 4 = 14.8$ กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้อาหารเหลว BHI ที่มีความเข้มข้นเป็น 4 เท่าจากสูตรอาหารปกติ หลังจากนั้นผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมอาหารเหลว Brain Heart Infusion ที่มีน้ำตาลซูโครส (sucrose)

อาหารเหลว BHI 2 เท่า ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 %(w/v)

เตรียมอาหารเหลว BHI มีความเข้มข้น 2 เท่าจากสูตรอาหารปกติ ที่มีน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลซูโครส 2 กรัม ละลายในอาหารเหลว BHI มีความเข้มข้น 2 เท่า และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

อาหารเหลว BHI 4 เท่า ที่มีน้ำตาลซูโครส 4 %(w/v)

เตรียมอาหาร BHI Broth ที่มีความเข้มข้น 4 เท่าจากสูตรอาหารปกติ ที่มีน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลซูโครส 4 กรัม ละลายในอาหารเหลว BHI ที่มีความเข้มข้น 4 เท่า และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 ข้อมูลทางสถิติตาราง ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญ อิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Erythritol	Between Groups	.045	7	.006	42.984	.000
	Within Groups	.002	16	.000		
	Total	.048	23			
Stevioside	Between Groups	.020	7	.003	4.351	.007
	Within Groups	.011	16	.001		
	Total	.031	23			
Xylitol	Between Groups	.063	7	.009	86.989	.000
	Within Groups	.002	16	.000		
	Total	.065	23			

ตารางที่ ค.2 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญ อิริทริทอล โดยใช้วิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Erythritol

Duncan^a

Subset for alpha = 0.05

Concentration	N	1	2	3	4	5	
1.000000	3	.2867					
.250000	3		.3567				
.500000	3			.3567			
.015625	3				.3767		
.125000	3					.3933	
.062500	3					.4000	
.007813	3						.4267
.031250	3						.4300
Sig.		1.000	.075	.115	.514	.743	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญ สติวิโอไซด์ โดยใช้วิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Stevioside

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1.000000	3	.3900	
.062500	3		.4500
.015625	3		.4567
.007813	3		.4600
.031250	3		.4667
.125000	3		.4833
.250000	3		.4833
.500000	3		.4833
Sig.		1.000	.177

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.4 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงของทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญ ซิลิทอล โดยใช้วิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Xylitol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1.000000	3	.3033				
.500000	3		.3933			
.007813	3			.4233		
.062500	3			.4233		
.250000	3			.4233		
.125000	3				.4500	
.015625	3				.4633	
.031250	3					.4833
Sig.		1.000	1.000	1.000	.129	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญ อิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Erythritol	.007813	3	.4267	.00577	.00333	.4123	.4410	.42	.43
	.015625	3	.3767	.01528	.00882	.3387	.4146	.36	.39
	.031250	3	.4300	.01000	.00577	.4052	.4548	.42	.44
	.062500	3	.4000	.00000	.00000	.4000	.4000	.40	.40
	.125000	3	.3933	.01155	.00667	.3646	.4220	.38	.40
	.250000	3	.3567	.02082	.01202	.3050	.4084	.34	.38
	.500000	3	.3567	.01155	.00667	.3280	.3854	.35	.37
	1.000000	3	.2867	.01155	.00667	.2580	.3154	.28	.30
	Total	24	.3783	.04546	.00928	.3591	.3975	.28	.44
Stevioside	.007813	3	.4600	.00000	.00000	.4600	.4600	.46	.46
	.015625	3	.4567	.04509	.02603	.3447	.5687	.41	.50
	.031250	3	.4667	.02309	.01333	.4093	.5240	.44	.48
	.062500	3	.4500	.04359	.02517	.3417	.5583	.42	.50
	.125000	3	.4833	.02082	.01202	.4316	.5350	.46	.50
	.250000	3	.4833	.00577	.00333	.4690	.4977	.48	.49
	.500000	3	.4833	.00577	.00333	.4690	.4977	.48	.49
	1.000000	3	.3900	.01732	.01000	.3470	.4330	.37	.40
	Total	24	.4592	.03647	.00744	.4438	.4746	.37	.50
Xylitol	.007813	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
	.015625	3	.4633	.01528	.00882	.4254	.5013	.45	.48
	.031250	3	.4833	.01155	.00667	.4546	.5120	.47	.49
	.062500	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
	.125000	3	.4500	.01000	.00577	.4252	.4748	.44	.46
	.250000	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
	.500000	3	.3933	.01155	.00667	.3646	.4220	.38	.40
	1.000000	3	.3033	.01155	.00667	.2746	.3320	.29	.31
	Total	24	.4204	.05320	.01086	.3980	.4429	.29	.49

ตารางที่ ค.6 ข้อมูลทางสถิติตาราง ANOVA % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Erythritol	Between Groups	1849.567	7	264.224	49.511	.000
	Within Groups	85.387	16	5.337		
	Total	1934.953	23			
Stevioside	Between Groups	6261.876	7	894.554	3.408	.020
	Within Groups	4199.348	16	262.459		
	Total	10461.224	23			
Xylitol	Between Groups	7011.628	7	1001.661	5.773	.002
	Within Groups	2775.887	16	173.493		
	Total	9787.515	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Erythritol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
.031250	3	14.4000				
.007813	3	15.2000				
.062500	3		19.4667			
.125000	3		21.5333	21.5333		
.015625	3			25.4667	25.4667	
.250000	3				28.6667	
.500000	3				28.8000	
1.000000	3					43.4000
Sig.		.677	.289	.053	.112	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.8 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของ สตีวิโอไซด์ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Stevioside

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.250000	3	2.6767	
.125000	3	6.1800	
.015625	3	14.2300	
.062500	3	21.0567	21.0567
.500000	3	22.1100	22.1100
.031250	3	23.6867	23.6867
.007813	3		46.7900
1.000000	3		50.2867
Sig.		.175	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

- หมายเหตุ 1 = e
 2 = d
 3 = c
 4 = b
 5 = a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.9 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของไซลิทอลที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Xylitol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.125000	3	15.8067		
.062500	3	25.6100		
.015625	3	26.6600		
.250000	3	26.8333		
.031250	3	35.2400		
.500000	3	40.3167	40.3167	
.007813	3		62.7200	62.7200
1.000000	3			66.5667
Sig.		.058	.054	.725

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ 1 = e
2 = d
3 = c
4 = b
5 = a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.10 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % ยับยั้งการเจริญเติบโตของการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในการยับยั้งการเจริญอิทธิพล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	.007813	3	15.2000	.34641	.20000	14.3395	16.0605	15.00	15.60
	.015625	3	25.4667	2.85890	1.65059	18.3648	32.5686	23.00	28.60
	.031250	3	14.4000	1.60000	.92376	10.4254	18.3746	12.80	16.00
	.062500	3	19.4667	.30551	.17638	18.7078	20.2256	19.20	19.80
	.125000	3	21.5333	1.47422	.85114	17.8712	25.1955	20.40	23.20
	.250000	3	28.6667	4.75114	2.74307	16.8642	40.4692	23.20	31.80
	.500000	3	28.8000	1.58745	.91652	24.8566	32.7434	27.00	30.00
	1.000000	3	43.4000	2.11660	1.22202	38.1421	48.6579	41.00	45.00
	Total	24	24.6167	9.17215	1.87226	20.7436	28.4897	12.80	45.00
	Stevioside	.007813	3	46.7900	16.10394	9.29761	6.7856	86.7944	29.11
.015625		3	14.2300	9.97960	5.76173	-10.5607	39.0207	4.43	24.38
.031250		3	23.6867	12.83667	7.41125	-8.2014	55.5747	9.68	34.89
.062500		3	21.0567	4.87521	2.81470	8.9460	33.1673	15.46	24.38
.125000		3	6.1800	16.24029	9.37633	-34.1631	46.5231	-11.85	19.66
.250000		3	2.6767	18.00917	10.39760	-42.0606	47.4139	-9.75	23.33
.500000		3	22.1100	31.02204	17.91058	-54.9530	99.1730	-9.75	52.22
1.000000		3	50.2867	1.32387	.76434	46.9980	53.5753	49.06	51.69
Total		24	23.3771	21.32688	4.35333	14.3715	32.3826	-11.85	60.62
Xylitol		.007813	3	62.7200	3.15000	1.81865	54.8950	70.5450	59.57
	.015625	3	26.6600	16.96938	9.79728	-15.4943	68.8143	12.31	45.39
	.031250	3	35.2400	13.37806	7.72383	2.0071	68.4729	26.49	50.64
	.062500	3	25.6100	9.52746	5.50068	1.9425	49.2775	18.61	36.46
	.125000	3	15.8067	20.75345	11.98201	-35.7478	67.3611	-7.12	33.31
	.250000	3	26.8333	13.41134	7.74304	-6.4823	60.1490	13.88	40.66
	.500000	3	40.3167	14.42198	8.32654	4.4905	76.1429	28.59	56.42
	1.000000	3	66.5667	1.32387	.76434	63.2780	69.8553	65.34	67.97
	Total	24	37.4692	20.62872	4.21082	28.7584	46.1799	-7.12	67.97

ตารางที่ ค.11 ข้อมูลทางสถิติตาราง ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงของการสร้างไบโอฟิล์ม อิทธิพล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Erythritol	Between Groups	.016	7	.002	16.128	.000
	Within Groups	.002	16	.000		
	Total	.018	23			
Stevioside	Between Groups	.013	7	.002	17.194	.000
	Within Groups	.002	16	.000		
	Total	.015	23			
Xylitol	Between Groups	.025	7	.004	32.798	.000
	Within Groups	.002	16	.000		
	Total	.027	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.12 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล โดยใช้วิธี duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Erythritol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.000000	3	.0727			
.015625	3	.0857	.0857		
.031250	3		.0960	.0960	
.250000	3		.1063	.1063	
.500000	3		.1077	.1077	
.062500	3			.1113	
.007813	3				.1423
.125000	3				.1547
Sig.		.196	.050	.162	.219

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.13 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งสร้างไบโอฟิล์มของสตีวิโอไซด์ โดยใช้วิธี duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Stevioside

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.000000	3	.1000			
.500000	3		.1340		
.250000	3		.1357		
.062500	3		.1503	.1503	
.015625	3			.1633	.1633
.125000	3			.1683	.1683
.007813	3				.1707
.031250	3				.1727
Sig.		1.000	.088	.062	.331

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.14 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งสร้างไบโอฟิล์มของไซลิทอล โดยใช้วิธี duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Xylitol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.000000	3	.0810			
.007813	3	.0943			
.500000	3		.1200		
.031250	3			.1410	
.062500	3			.1417	
.250000	3			.1557	
.015625	3			.1567	
.125000	3				.1863
Sig.		.139	1.000	.110	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.15 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
Erythritol	.007813	3	25.2597	9.03961	5.21902	2.8040	47.7153	18.08	35.41
	.015625	3	55.0157	3.16508	1.82736	47.1532	62.8781	51.69	57.99
	.031250	3	49.5900	6.82673	3.94141	32.6315	66.5485	41.71	53.79
	.062500	3	41.5383	7.79443	4.50012	22.1759	60.9008	34.89	50.12
	.125000	3	18.7837	4.21144	2.43148	8.3219	29.2455	14.41	22.81
	.250000	3	44.1637	4.52746	2.61393	32.9168	55.4105	40.14	49.07
	.500000	3	43.4633	5.66368	3.26993	29.3940	57.5327	36.99	47.49
	1.000000	3	61.8423	6.15358	3.55277	46.5560	77.1287	54.84	66.39
	Total	24	42.4571	14.67109	2.99472	36.2620	48.6521	14.41	66.39
Stevioside	.007813	3	10.3817	3.49677	2.01886	1.6952	19.0681	8.11	14.41
	.015625	3	14.2330	9.98160	5.76288	-10.5627	39.0287	4.43	24.39
	.031250	3	9.3320	4.73571	2.73416	-2.4322	21.0962	4.43	13.88
	.062500	3	21.0590	4.87899	2.81689	8.9389	33.1791	15.46	24.39
	.125000	3	11.6073	7.65164	4.41768	-7.4004	30.6151	4.43	19.66
	.250000	3	28.7607	4.52692	2.61362	17.5152	40.0062	23.86	32.79
	.500000	3	29.6357	1.38940	.80217	26.1842	33.0871	28.59	31.21
	1.000000	3	47.4893	1.89333	1.09311	42.7860	52.1926	45.39	49.07
	Total	24	21.5623	13.40975	2.73725	15.8999	27.2248	4.43	49.07
Xylitol	.007813	3	50.4647	3.49620	2.01853	41.7796	59.1497	46.44	52.74
	.015625	3	17.7330	5.04573	2.91315	5.1987	30.2673	12.31	22.28
	.031250	3	25.9597	2.92362	1.68795	18.6970	33.2223	22.81	28.59
	.062500	3	25.6097	9.52954	5.50188	1.9370	49.2823	18.61	36.46
	.125000	3	2.1550	3.94141	2.27558	-7.6360	11.9460	-1.87	6.01
	.250000	3	18.2587	6.69018	3.86258	1.6393	34.8780	13.88	25.96
	.500000	3	36.9873	3.78638	2.18607	27.5814	46.3932	33.84	41.19
	1.000000	3	57.4660	5.53221	3.19403	43.7232	71.2088	51.69	62.72
	Total	24	29.3293	17.98263	3.67069	21.7359	36.9226	-1.87	62.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นไว้สำหรับใช้งานที่ 2.92362 1.68795 18.6970 33.2223 22.81 28.59
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและข้อมูลของเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ตารางที่ ค.16 ข้อมูลทางสถิติตาราง ANOVA เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิตอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Erythritol	Between Groups	4336.006	7	619.429	16.127	.000
	Within Groups	614.535	16	38.408		
	Total	4950.541	23			
Stevioside	Between Groups	3650.601	7	521.514	17.194	.000
	Within Groups	485.294	16	30.331		
	Total	4135.895	23			
Xylitol	Between Groups	6953.067	7	993.295	32.799	.000
	Within Groups	484.555	16	30.285		
	Total	7437.622	23			

ตารางที่ ค.17 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เพอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.125000	3	18.7837			
.007813	3	25.2597			
.062500	3		41.5383		
.500000	3		43.4633	43.4633	
.250000	3		44.1637	44.1637	
.031250	3		49.5900	49.5900	
.015625	3			55.0157	55.0157
1.000000	3				61.8423
Sig.		.219	.162	.050	.196

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

- หมายเหตุ 1 = e
2 = d
3 = c
4 = b
5 = a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.18 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เปรอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของสตีวิโอไซด์ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Stevioside

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.031250	3	9.3320			
.007813	3	10.3817			
.125000	3	11.6073	11.6073		
.015625	3	14.2330	14.2330		
.062500	3		21.0590	21.0590	
.250000	3			28.7607	
.500000	3			29.6357	
1.000000	3				47.4893
Sig.		.331	.062	.088	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.19 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เปรอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Xylitol

Duncan^a

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.125000	3	2.1550			
.015625	3		17.7330		
.250000	3		18.2587		
.062500	3		25.6097		
.031250	3		25.9597		
.500000	3			36.9873	
.007813	3				50.4647
1.000000	3				57.4660
Sig.		1.000	.110	1.000	.139

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ 1 = e

2 = d

3 = c

4 = b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.20 ข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

		Descriptives							
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	.007813	3	25.2597	9.03961	5.21902	2.8040	47.7153	18.08	35.41
	.015625	3	55.0157	3.16508	1.82736	47.1532	62.8781	51.69	57.99
	.031250	3	49.5900	6.82673	3.94141	32.6315	66.5485	41.71	53.79
	.062500	3	41.5383	7.79443	4.50012	22.1759	60.9008	34.89	50.12
	.125000	3	18.7837	4.21144	2.43148	8.3219	29.2455	14.41	22.81
	.250000	3	44.1637	4.52746	2.61393	32.9168	55.4105	40.14	49.07
	.500000	3	43.4633	5.66368	3.26993	29.3940	57.5327	36.99	47.49
	1.000000	3	61.8423	6.15358	3.55277	46.5560	77.1287	54.84	66.39
	Total	24	42.4571	14.67109	2.99472	36.2620	48.6521	14.41	66.39
Stevioside	.007813	3	10.3817	3.49677	2.01896	1.6952	19.0681	8.11	14.41
	.015625	3	14.2330	9.98160	5.76288	-10.5627	39.0287	4.43	24.39
	.031250	3	9.3320	4.73571	2.73416	-2.4322	21.0962	4.43	13.88
	.062500	3	21.0590	4.87899	2.81689	8.9389	33.1791	15.46	24.39
	.125000	3	11.6073	7.65164	4.41768	-7.4004	30.6151	4.43	19.66
	.250000	3	28.7607	4.52692	2.61362	17.5152	40.0062	23.86	32.79
	.500000	3	29.6357	1.38940	.80217	26.1842	33.0871	28.59	31.21
	1.000000	3	47.4893	1.89333	1.09311	42.7860	52.1926	45.39	49.07
	Total	24	21.5623	13.40975	2.73725	15.8999	27.2248	4.43	49.07
Xylitol	.007813	3	50.4647	3.49620	2.01853	41.7796	59.1497	46.44	52.74
	.015625	3	17.7330	5.04573	2.91315	5.1987	30.2673	12.31	22.28
	.031250	3	25.9597	2.92362	1.68795	18.6970	33.2223	22.81	28.59
	.062500	3	25.6097	9.52954	5.50188	1.9370	49.2823	18.61	36.46
	.125000	3	2.1550	3.94141	2.27558	-7.6360	11.9460	-1.87	6.01
	.250000	3	18.2587	6.69018	3.86258	1.6393	34.8780	13.88	25.96
	.500000	3	36.9873	3.78638	2.18607	27.5814	46.3932	33.84	41.19
	1.000000	3	57.4660	5.53221	3.19403	43.7232	71.2088	51.69	62.72
	Total	24	29.3293	17.98263	3.67069	21.7359	36.9226	-1.87	62.72

ตารางที่ ค.21 ตารางรวม ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA					
Sugar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.207	23	.009	29.598	.000
Within Groups	.015	48	.000		
Total	.222	71			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.22 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
E 1	3	.2867	.01155	.00667	.2580	.3154	.28	.30
E 0.5	3	.3567	.01155	.00667	.3280	.3854	.35	.37
E 0.25	3	.3567	.02082	.01202	.3050	.4084	.34	.38
E 0.125	3	.3933	.01155	.00667	.3646	.4220	.38	.40
E 0.0625	3	.4000	.00000	.00000	.4000	.4000	.40	.40
E 0.03125	3	.4300	.01000	.00577	.4052	.4548	.42	.44
E 0.015625	3	.3767	.01528	.00882	.3387	.4146	.36	.39
E 0.007813	3	.4267	.00577	.00333	.4123	.4410	.42	.43
S 1	3	.3900	.01732	.01000	.3470	.4330	.37	.40
S 0.5	3	.4833	.00577	.00333	.4690	.4977	.48	.49
S 0.25	3	.4833	.00577	.00333	.4690	.4977	.48	.49
S 0.125	3	.4833	.02082	.01202	.4316	.5350	.46	.50
S 0.0625	3	.4500	.04359	.02517	.3417	.5583	.42	.50
S 0.03125	3	.4667	.02309	.01333	.4093	.5240	.44	.48
S 0.015625	3	.4567	.04509	.02603	.3447	.5687	.41	.50
S 0.007813	3	.4600	.00000	.00000	.4600	.4600	.46	.46
X 1	3	.3033	.01155	.00667	.2746	.3320	.29	.31
X 0.5	3	.3933	.01155	.00667	.3646	.4220	.38	.40
X 0.25	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
X 0.125	3	.4500	.01000	.00577	.4252	.4748	.44	.46
X 0.0625	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
X 0.03125	3	.4833	.01155	.00667	.4546	.5120	.47	.49
X 0.015625	3	.4633	.01528	.00882	.4254	.5013	.45	.48
X 0.007813	3	.4233	.00577	.00333	.4090	.4377	.42	.43
Total	72	.4193	.05588	.00658	.4062	.4324	.28	.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.23 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Sugar

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
E 1	3	.2867								
X 1	3	.3033								
E 0.5	3		.3567							
E 0.25	3		.3567							
E 0.015625	3		.3767	.3767						
S 1	3			.3900						
E 0.125	3			.3933	.3933					
X 0.5	3			.3933	.3933					
E 0.0625	3			.4000	.4000	.4000				
X 0.25	3				.4233	.4233	.4233			
X 0.0625	3				.4233	.4233	.4233			
X 0.007813	3				.4233	.4233	.4233			
E 0.007813	3					.4267	.4267	.4267		
E 0.03125	3					.4300	.4300	.4300	.4300	
S 0.0625	3						.4500	.4500	.4500	.4500
X 0.125	3						.4500	.4500	.4500	.4500
S 0.015625	3							.4567	.4567	.4567
S 0.007813	3								.4600	.4600
X 0.015625	3									.4633
S 0.03125	3									.4667
S 0.5	3									.4833
S 0.25	3									.4833
S 0.125	3									.4833
X 0.03125	3									.4833
Sig.		.248	.192	.151	.069	.069	.111	.064	.064	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค.24 ตารางรวม ANOVA % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8358.613	23	363.418	34.181	.000
Within Groups	510.347	48	10.632		
Total	8868.959	71			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.25 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิทธิพล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
E 1	3	43.4000	2.11660	1.22202	38.1421	48.6579	41.00	45.00
E 0.5	3	28.8000	1.58745	.91652	24.8566	32.7434	27.00	30.00
E 0.25	3	28.6667	4.75114	2.74307	16.8642	40.4692	23.20	31.80
E 0.125	3	21.5333	1.47422	.85114	17.8712	25.1955	20.40	23.20
E 0.0625	3	19.4667	.30551	.17638	18.7078	20.2256	19.20	19.80
E 0.03125	3	14.4000	1.60000	.92376	10.4254	18.3746	12.80	16.00
E 0.015625	3	25.4667	2.85890	1.65059	18.3648	32.5686	23.00	28.60
E 0.007813	3	15.2000	.34641	.20000	14.3395	16.0605	15.00	15.60
S 1	3	22.2667	2.89367	1.67066	15.0784	29.4549	20.40	25.60
S 0.5	3	3.4000	1.73205	1.00000	-.9027	7.7027	1.40	4.40
S 0.25	3	3.6667	1.20554	.69602	.6719	6.6614	2.40	4.80
S 0.125	3	3.6000	3.70405	2.13854	-5.6014	12.8014	.80	7.80
S 0.0625	3	10.0000	8.15598	4.70886	-10.2606	30.2606	.60	15.20
S 0.03125	3	6.6667	4.98130	2.87595	-5.7076	19.0409	3.40	12.40
S 0.015625	3	8.4667	8.41982	4.86118	-12.4493	29.3827	.40	17.20
S 0.007813	3	8.7333	.30551	.17638	7.9744	9.4922	8.40	9.00
X 1	3	39.5333	1.85831	1.07290	34.9170	44.1496	38.00	41.60
X 0.5	3	21.2000	2.49800	1.44222	14.9946	27.4054	19.20	24.00
X 0.25	3	15.6000	1.05830	.61101	12.9710	18.2290	14.80	16.80
X 0.125	3	10.3333	1.36137	.78599	6.9515	13.7152	8.80	11.40
X 0.0625	3	15.2667	1.10151	.63596	12.5304	18.0030	14.20	16.40
X 0.03125	3	3.4000	1.56205	.90185	-.4803	7.2803	2.40	5.20
X 0.015625	3	7.6667	2.48462	1.43450	1.4945	13.8388	4.80	9.20
X 0.007813	3	15.6000	1.05830	.61101	12.9710	18.2290	14.80	16.80
Total	72	16.3472	11.17653	1.31717	13.7209	18.9736	.40	45.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.26 ตารางข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Sugar

Duncan^a

Subset for alpha = 0.05

concentration	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
S 0.5	3	3.4000										
X 0.03125	3	3.4000										
S 0.125	3	3.6000										
S 0.25	3	3.6667										
S 0.03125	3	6.6667	6.6667									
X 0.015625	3	7.6667	7.6667									
S 0.015625	3	8.4667	8.4667	8.4667								
S 0.007813	3	8.7333	8.7333	8.7333								
S 0.0625	3		10.0000	10.0000	10.0000							
X 0.125	3		10.3333	10.3333	10.3333							
E 0.03125	3			14.4000	14.4000	14.4000						
E 0.007813	3				15.2000	15.2000	15.2000					
X 0.0625	3				15.2667	15.2667	15.2667					
X 0.25	3				15.6000	15.6000	15.6000	15.6000				
X 0.007813	3				15.6000	15.6000	15.6000	15.6000				
E 0.0625	3					19.4667	19.4667	19.4667	19.4667			
X 0.5	3						21.2000	21.2000	21.2000	21.2000		
E 0.125	3							21.5333	21.5333	21.5333		
S 1	3								22.2667	22.2667		
E 0.015625	3									25.4667	25.4667	
E 0.25	3										28.6667	
E 0.5	3											28.8000
X 1	3											39.5333
E 1	3											43.4000
Sig.		.092	.236	.050	.073	.101	.052	.050	.346	.150	.244	.153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

- 3 = i
- 4 = h
- 5 = g
- 6 = f
- 7 = e
- 8 = d
- 9 = c
- 10 = b
- 11 = a

ตารางที่ ค.27 ตารางรวม ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.074	23	.003	26.731	.000
Within Groups	.006	48	.000		
Total	.079	71			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.28 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงการยั้งยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
E 1	3	.0727	.01172	.00677	.0436	.1018	.06	.09
E 0.5	3	.1077	.01079	.00623	.0809	.1345	.10	.12
E 0.25	3	.1063	.00862	.00498	.0849	.1278	.10	.11
E 0.125	3	.1547	.00802	.00463	.1347	.1746	.15	.16
E 0.0625	3	.1113	.01484	.00857	.0745	.1482	.10	.12
E 0.03125	3	.0960	.01300	.00751	.0637	.1283	.09	.11
E 0.015625	3	.0857	.00603	.00348	.0707	.1006	.08	.09
E 0.007813	3	.1423	.01721	.00994	.0996	.1851	.12	.16
S 1	3	.1000	.00361	.00208	.0910	.1090	.10	.10
S 0.5	3	.1340	.00265	.00153	.1274	.1406	.13	.14
S 0.25	3	.1357	.00862	.00498	.1142	.1571	.13	.14
S 0.125	3	.1683	.01457	.00841	.1321	.2045	.15	.18
S 0.0625	3	.1503	.00929	.00536	.1273	.1734	.14	.16
S 0.03125	3	.1727	.00902	.00521	.1503	.1951	.16	.18
S 0.015625	3	.1633	.01901	.01097	.1161	.2106	.14	.18
S 0.007813	3	.1707	.00666	.00384	.1541	.1872	.16	.18
X 1	3	.0810	.01054	.00608	.0548	.1072	.07	.09
X 0.5	3	.1200	.00721	.00416	.1021	.1379	.11	.13
X 0.25	3	.1557	.01274	.00736	.1240	.1873	.14	.16
X 0.125	3	.1863	.00751	.00433	.1677	.2050	.18	.19
X 0.0625	3	.1417	.01815	.01048	.0966	.1867	.12	.16
X 0.03125	3	.1410	.00557	.00321	.1272	.1548	.14	.15
X 0.015625	3	.1567	.00961	.00555	.1328	.1805	.15	.17
X 0.007813	3	.0943	.00666	.00384	.0778	.1109	.09	.10
Total	72	.1312	.03343	.00394	.1233	.1390	.06	.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.29 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูกลืนแสงการยั้งยั้งการ
สร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้
โปรแกรม SPSS

Sugar

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
E 1	3	.0727										
X 1	3	.0810	.0810									
E 0.015625	3	.0857	.0857									
X 0.007813	3		.0943	.0943								
E 0.03125	3		.0960	.0960								
S 1	3		.1000	.1000								
E 0.25	3			.1063	.1063							
E 0.5	3			.1077	.1077							
E 0.0625	3			.1113	.1113							
X 0.5	3				.1200	.1200						
S 0.5	3					.1340	.1340					
S 0.25	3					.1357	.1357	.1357				
X 0.03125	3						.1410	.1410	.1410			
X 0.0625	3						.1417	.1417	.1417			
E 0.007813	3						.1423	.1423	.1423			
S 0.0625	3						.1503	.1503	.1503	.1503		
E 0.125	3						.1547	.1547	.1547	.1547	.1547	
X 0.25	3						.1557	.1557	.1557	.1557	.1557	
X 0.015625	3							.1567	.1567	.1567	.1567	
S 0.015625	3								.1633	.1633	.1633	
S 0.125	3								.1683	.1683	.1683	.1683
S 0.007813	3									.1707	.1707	.1707
S 0.03125	3										.1727	.1727
X 0.125	3											.1863
Sig.		.176	.062	.101	.170	.103	.115	.057	.136	.053	.087	.070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

หมายเหตุ 1 = k

2 = j

3 = i

4 = h

5 = g

6 = f

7 = e

8 = d

9 = c

10 = b

11 = a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.30 ตารางรวม ANOVA เปอร์เซนต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20293.718	23	882.336	26.731	.000
Within Groups	1584.385	48	33.008		
Total	21878.103	71			

ตารางที่ ค.31 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเปอร์เซนต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
E 1	3	61.8423	6.15358	3.55277	46.5560	77.1287	54.84	66.39
E 0.5	3	43.4633	5.66368	3.26993	29.3940	57.5327	36.99	47.49
E 0.25	3	44.1637	4.52746	2.61393	32.9168	55.4105	40.14	49.07
E 0.125	3	18.7837	4.21144	2.43148	8.3219	29.2455	14.41	22.81
E 0.0625	3	41.5383	7.79443	4.50012	22.1759	60.9008	34.89	50.12
E 0.03125	3	49.5900	6.82673	3.94141	32.6315	66.5485	41.71	53.79
E 0.015625	3	55.0157	3.16508	1.82736	47.1532	62.8781	51.69	57.99
E 0.007813	3	25.2597	9.03961	5.21902	2.8040	47.7153	18.08	35.41
S 1	3	47.4893	1.89333	1.09311	42.7860	52.1926	45.39	49.07
S 0.5	3	29.6357	1.38940	.80217	26.1842	33.0871	28.59	31.21
S 0.25	3	28.7607	4.52692	2.61362	17.5152	40.0062	23.86	32.79
S 0.125	3	11.6073	7.65164	4.41768	-7.4004	30.6151	4.43	19.66
S 0.0625	3	21.0590	4.87899	2.81689	8.9389	33.1791	15.46	24.39
S 0.03125	3	9.3320	4.73571	2.73416	-2.4322	21.0962	4.43	13.88
S 0.015625	3	14.2330	9.98160	5.76288	-10.5627	39.0287	4.43	24.39
S 0.007813	3	10.3817	3.49677	2.01886	1.6952	19.0681	8.11	14.41
X 1	3	57.4660	5.53221	3.19403	43.7232	71.2088	51.69	62.72
X 0.5	3	36.9873	3.78638	2.18607	27.5814	46.3932	33.84	41.19
X 0.25	3	18.2587	6.69018	3.86258	1.6393	34.8780	13.88	25.96
X 0.125	3	2.1550	3.94141	2.27558	-7.6360	11.9460	-1.87	6.01
X 0.0625	3	25.6097	9.52954	5.50188	1.9370	49.2823	18.61	36.46
X 0.03125	3	25.9597	2.92362	1.68795	18.6970	33.2223	22.81	28.59
X 0.015625	3	17.7330	5.04573	2.91315	5.1987	30.2673	12.31	22.28
X 0.007813	3	50.4647	3.49620	2.01853	41.7796	59.1497	46.44	52.74
Total	72	31.1162	17.55398	2.06876	26.9912	35.2412	-1.87	66.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.32 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เปรอร์เซนต์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Sugar

Duncan^a

concentration	N	Subset for alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
X 0.125	3	2.1550										
S 0.03125	3	9.3320	9.3320									
S 0.007813	3	10.3817	10.3817	10.3817								
S 0.125	3	11.6073	11.6073	11.6073								
S 0.015625	3		14.2330	14.2330								
X 0.015625	3		17.7330	17.7330	17.7330							
X 0.25	3		18.2587	18.2587	18.2587	18.2587						
E 0.125	3		18.7837	18.7837	18.7837	18.7837						
S 0.0625	3			21.0590	21.0590	21.0590	21.0590					
E 0.007813	3				25.2597	25.2597	25.2597					
X 0.0625	3				25.6097	25.6097	25.6097					
X 0.03125	3				25.9597	25.9597	25.9597					
S 0.25	3					28.7607	28.7607	28.7607				
S 0.5	3						29.6357	29.6357				
X 0.5	3							36.9873	36.9873			
E 0.0625	3								41.5383	41.5383		
E 0.5	3									43.4633	43.4633	
E 0.25	3										44.1637	
S 1	3											47.4893
E 0.03125	3											49.5900
X 0.007813	3											50.4647
E 0.015625	3											55.0157
X 1	3											57.4660
E 1	3											61.8423
Sig.		.070	.087	.053	.136	.057	.115	.103	.170	.101	.062	.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

หมายเหตุ 1 = k

2 = j

3 = i

4 = h

5 = g

6 = f

7 = e

8 = d

9 = c

10 = b

11 = a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.33 ตารางรวม ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตลดลงของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

concentration

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.018	2	.009	48.882	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.020	8			

ตารางที่ ค.34 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตลดลงของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

concentration

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	3	.286667	.0115470	.0066667	.257982	.315351	.2800	.3000
Stevioside	3	.390000	.0173205	.0100000	.346973	.433027	.3700	.4000
Xylitol	3	.303333	.0115470	.0066667	.274649	.332018	.2900	.3100
Total	9	.326667	.0494975	.0164992	.288620	.364714	.2800	.4000

ตารางที่ ค.35 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการเจริญเติบโตลดลงของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

concentration

Duncan^a

Subset for alpha = 0.05

sugar	N	1	2
Erythritol	3	.286667	
Xylitol	3	.303333	
Stevioside	3		.390000
Sig.		.188	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.36 ตารางรวม ANOVA % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

concentration					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	759.707	2	379.853	69.883	.000
Within Groups	32.613	6	5.436		
Total	792.320	8			

ตารางที่ ค.37 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives								
concentration								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	3	43.400000	2.1166010	1.2220202	38.142072	48.657928	41.0000	45.0000
Stevioside	3	22.266667	2.8936713	1.6706619	15.078389	29.454945	20.4000	25.6000
Xylitol	3	39.533333	1.8583146	1.0728985	34.917024	44.149643	38.0000	41.6000
Total	9	35.066667	9.9518842	3.3172947	27.416971	42.716362	20.4000	45.0000

ตารางที่ ค.38 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % ยับยั้งการเจริญเติบโตของอิริทริทอล สตีวีโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

concentration			
Duncan ^a			
Subset for alpha = 0.05			
sugar	N	1	2
Stevioside	3	22.266667	
Xylitol	3		39.533333
Erythritol	3		43.400000
Sig.		1.000	.089

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.39 ตารางรวม ANOVA ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

concentration

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	2	.001	6.759	.029
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.002	8			

ตารางที่ ค.40 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives

concentration

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	3	.072667	.0117189	.0067659	.043555	.101778	.0640	.0860
Stevioside	3	.100000	.0036056	.0020817	.091043	.108957	.0970	.1040
Xylitol	3	.081000	.0105357	.0060828	.054828	.107172	.0710	.0920
Total	9	.084556	.0145783	.0048594	.073350	.095761	.0640	.1040

ตารางที่ ค.41 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าการดูดกลืนแสงการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

concentration

Duncan^a

Subset for alpha = 0.05

sugar	N	1	2
Erythritol	3	.072667	
Xylitol	3	.081000	
Stevioside	3		.100000
Sig.		.316	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.42 ตารางรวม ANOVA % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

ANOVA

concentration					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	324.695	2	162.347	6.759	.029
Within Groups	144.113	6	24.019		
Total	468.808	8			

ตารางที่ ค.43 ตารางรวมข้อมูลทางสถิติค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

Descriptives								
concentration								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Erythritol	3	61.842333	6.1535763	3.5527689	46.556002	77.128664	54.8410	66.3930
Stevioside	3	47.489333	1.8933305	1.0931149	42.786040	52.192627	45.3890	49.0650
Xylitol	3	57.466000	5.5322148	3.1940257	43.723216	71.208784	51.6900	62.7170
Total	9	55.599222	7.6551289	2.5517096	49.714969	61.483475	45.3890	66.3930

ตารางที่ ค.41 ตารางรวมข้อมูลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ % การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของอิริทริทอล สตีวิโอไซด์ และไซลิทอล ความเข้มข้น 1 %(w/v) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS

concentration			
Duncan ^a			
Subset for alpha = 0.05			
sugar	N	1	2
Stevioside	3	47.489333	
Xylitol	3		57.466000
Erythritol	3		61.842333
Sig.		1.000	.316

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ เดือนมิถุนายน พ.ศ.2566

ข้าพเจ้า นางสาวบัณฑิตา อัจฉริยะ รหัสนักศึกษา 62050508

นางสาวอรณิชา โคตรบุรมย์ รหัสนักศึกษา 62050560

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่า
โครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ผลของสารให้ความหวานแทนน้ำตาลต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ
Streptococcus mutans

ชื่อภาษาอังกฤษ Effect of Sugar Substitutes on the Growth and Biofilm Production of
Streptococcus mutans

ปีการศึกษา 2565 เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบ
ความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนแบบงานวรรณกรรมที่
ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.14%

ลงชื่อ **บัณฑิตา**

บัณฑิตา อัจฉริยะ
นักศึกษา

ลงชื่อ **อรณิชา**

อรณิชา โคตรบุรมย์
นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยแผ้ววงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ และ ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษร่วม ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรอง
ว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ **หวัท!**

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ

ลงชื่อ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้