

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาถึงสายพันธุ์ของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำส้มเกี๊ยดหิมะ โดยการศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจัดกลุ่มยีสต์ที่เหมือนกัน ออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ และเมื่อนำยีสต์ทั้ง 3 กลุ่มมาศึกษาถึงลักษณะทางสรีระวิทยา พบว่า ยีสต์ทั้ง 3 กลุ่มเป็นยีสต์ในกลุ่ม *ascosporogenous yeasts* เมื่อนำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางสรีระวิทยาของยีสต์ทั้ง 3 กลุ่มมาเทียบกับอนุกรมวิธานของยีสต์ตาม *The Yeast, A Taxonomic Study* (Kurtzman and Fell, 1998) และ *Yeast Characteristics and Identification* (Barnett *et al.*, 2000) สามารถพิสูจน์เชื้อยีสต์ได้เป็น 3 จินัส คือ *Candida* sp. *Zygosaccharomyces* sp. และ *Kluyveromyces* sp. และเมื่อทำการพิสูจน์ต่อถึงระดับสปีชีส์ โดยการศึกษาลำดับเบสของ DNA สามารถจำแนกยีสต์ได้เป็นสปีชีส์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus*

2. การศึกษาถึงสายพันธุ์ของยีสต์ที่แยกได้จากน้ำผักกาดดอง โดยการศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจัดกลุ่มยีสต์ตามลักษณะสัณฐานวิทยาที่เหมือนกัน ออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ และเมื่อนำยีสต์ทั้ง 2 กลุ่มมาศึกษาถึงลักษณะทางสรีระวิทยา พบว่า ยีสต์ทั้ง 2 กลุ่มเป็นยีสต์ในกลุ่ม *ascosporogenous yeasts* เมื่อนำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางสรีระวิทยาของยีสต์ทั้ง 2 กลุ่มมาเทียบกับอนุกรมวิธานของยีสต์ตาม (Kurtzman and Fell, 1998) และ (Barnett *et al.*, 2000) สามารถพิสูจน์เชื้อยีสต์ได้เป็น 2 จินัส คือ *Issatchenkia* sp. และ *Candida* sp. และเมื่อทำการพิสูจน์ต่อถึงระดับสปีชีส์ โดยการศึกษาลำดับเบสของ DNA สามารถจำแนกยีสต์ได้เป็นสปีชีส์ *Issatchenkia orientalis* และ *Candida humilis*

3. การศึกษาผลของสารสกัดพืชสมุนไพร 11 ชนิด ได้แก่ กระเทียม หอม อบเชย กานพลู กะเพรา กะหล่ำปลี ข่า กระชาย กลัวยี่น้ำว่า บัวบก และฝรั่ง ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% ต่อการยับยั้งยีสต์ *C.parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K marxianus* ที่แยกได้จากน้ำส้มเกี๊ยดหิมะและ *I. orientalis* และ *C. humilis* ที่แยกได้น้ำผักกาดดอง พบว่า สารสกัดพืชสมุนไพรเพียง 2 ชนิด คือ สารสกัดอบเชย และกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล สามารถยับยั้งยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ แต่สารสกัดพืชสมุนไพรทั้ง 11 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ ดังกล่าวข้างต้นได้

4. การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดเอทานอลของอบเชยและกานพลูต่อการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* *K. marxianus* *I. orientalis* และ *C. humilis* พบว่าทั้งสารสกัดอบเชยและกานพลูให้ผลการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ที่แยกได้จากน้ำส้มเกี๊ยดหิมะได้ดีกว่ายีสต์ *I. orientalis* และ *C. humilis* ที่แยกได้จากน้ำผักกาดดองโดย

ให้ค่า MIC ต่ำกว่าเป็น 2 เท่า และสารสกัดกานพลูจะให้ผลการยับยั้งยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้ดีกว่าสารสกัดอบเชย โดยให้ค่า MIC ต่ำกว่า เป็น 2 เท่า

5. การศึกษาผลร่วมระหว่าง ฟีเอช ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและสารสกัดอบเชย ในน้ำส้มเกี๊ยดหิมะต่อการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากอบเชยและฟีเอชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้งยีสต์ ทั้ง 3 สายพันธุ์ ขณะที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยเพิ่มขึ้นขณะที่ฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะลดลง เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่าง สารสกัดจากอบเชยและฟีเอชต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์ พบว่า เมื่อปรับฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะจาก 2.5 เป็น 3.5 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งยีสต์ลดลง ซึ่งฟีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* มากกว่าสารสกัดอบเชยในขณะที่ฟีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* น้อยกว่าสารสกัดอบเชย

6. การศึกษาผลร่วมระหว่าง ฟีเอช ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและสารสกัดกานพลู ในน้ำส้มเกี๊ยดหิมะต่อการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากกานพลูและฟีเอชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้งยีสต์ ทั้ง 3 สายพันธุ์ ขณะที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูเพิ่มขึ้นขณะที่ฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะลดลง เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่าง สารสกัดจากกานพลูและฟีเอชต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์ พบว่าเมื่อปรับฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะจาก 2.5 เป็น 3.5 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งยีสต์ลดลง ซึ่งฟีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* มากกว่าสารสกัดกานพลูในขณะที่ฟีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis* น้อยกว่าสารสกัดกานพลู

7. การศึกษาผลร่วมระหว่าง ฟีเอช ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและโพแตสเซียมซอร์เบทในน้ำส้มเกี๊ยดหิมะต่อการยับยั้งยีสต์ *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* พบว่า ความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทและฟีเอชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *C. parapsilosis* ขณะที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลน้อยที่สุดและความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* รองลงมาคือ ฟีเอช และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทเพิ่มขึ้น ขณะที่ฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะลดลง เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่าง โพแตสเซียมซอร์เบทและฟีเอชต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์ พบว่าเมื่อปรับฟีเอชของน้ำส้มเกี๊ยดหิมะจาก 2.5 เป็น 3.5 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งยีสต์ลดลง ซึ่งฟีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *C. parapsilosis*

มากกว่าโพแตสเซียมซอร์เบทในขณะที่พีเอชมีผลต่อการยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* น้อยกว่าโพแตสเซียมซอร์เบท

8. เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ในน้ำส้มเกี๊ยะที่มี พีเอช 2.5 และ 3.5 เติมสารสกัดอบเชย หรือ สารสกัดกานพลู หรือ โพแตสเซียมซอร์เบท ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า *C. parapsilosis* จะถูกยับยั้งโดยสารสกัดกานพลูได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดอบเชยและโพแตสเซียมซอร์เบทตามลำดับ ส่วน *Z. fermentati* และ *K. marxianus* จะถูกยับยั้งโดยโพแตสเซียมซอร์เบทได้ดีที่สุดรองลงมาคือสารสกัดกานพลูและสารสกัดอบเชยตามลำดับ

9. การศึกษาผลร่วมระหว่าง พีเอช ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์และสารสกัดอบเชยในน้ำผักกาดคองต่อการยับยั้งยีสต์ *I. orientalis* พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากอบเชยและพีเอชเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* ขณะที่ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์มีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยเพิ่มขึ้นขณะที่พีเอชของน้ำผักกาดคองลดลง เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่าง สารสกัดจากอบเชยและพีเอชต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* พบว่าเมื่อปรับพีเอชของน้ำผักกาดคองจาก 3.2 เป็น 3.8 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* ลดลง

10. การศึกษาผลร่วมระหว่าง พีเอช ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์และสารสกัดกานพลูในน้ำผักกาดคองต่อการยับยั้งยีสต์ *I. orientalis* พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากกานพลูเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* รองลงมาคือ พีเอช และความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์มีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูเพิ่มขึ้นขณะที่พีเอชของน้ำผักกาดคองลดลง เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่าง สารสกัดจากกานพลูและพีเอชต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* พบว่าเมื่อปรับพีเอชของน้ำผักกาดคองจาก 3.2 เป็น 3.8 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* ลดลง

11. การศึกษาผลร่วมระหว่าง พีเอช ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์และโพแตสเซียมซอร์เบทในน้ำผักกาดคองต่อการยับยั้งยีสต์ *I. orientalis* พบว่าความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* รองลงมาคือ พีเอช และความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์มีผลน้อยที่สุด โดยพบว่าค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโพแตสเซียมซอร์เบทเพิ่มขึ้นขณะที่พีเอชของน้ำผักกาดคองลดลง (ภาพที่ 4) เมื่อพิจารณาผลร่วมระหว่างโพแตสเซียมซอร์เบทและพีเอชต่อความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* พบว่าเมื่อปรับพีเอชของน้ำผักกาดคองจาก 3.2 เป็น 3.8 แล้วเติมสารสกัดอบเชย 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้ง *I. orientalis* ลดลง

12. เมื่อเปรียบเทียบการเจริญ *I. orientalis* ในน้ำฝักกาดองที่มี พีเอช 3.2 และ 3.8 และเติมสารสกัดอบเชย หรือ สารสกัดกานพลูหรือ โปแตสเซียมซอร์เบท ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า *I. orientalis* จะถูกยับยั้งโดยสารสกัดกานพลูได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โปแตสเซียมซอร์เบทและสารสกัดอบเชยตามลำดับ

13. เมื่อศึกษาจุดที่เหมาะสมต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำส้มเกล็ดหิมะของสารสกัดอบเชย พบว่า น้ำส้มเกล็ดหิมะความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 15 องศาบริกซ์ พีเอช 2.0 ความเข้มข้นของสารสกัดอบเชย 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ได้ ทั้งหมด (10^5 CFU/ml) ส่วนที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ได้ 10^3 CFU/ml ในขณะที่ที่ทั้ง 2 ความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยดังกล่าวยับยั้ง *C. parapsilosis* ได้ เพียงประมาณ 10^1 CFU/ml เท่านั้น ดังนั้นความเข้มข้นดังกล่าวยังไม่เหมาะต่อการนำมายับยั้งยีสต์ในน้ำส้มเกล็ดหิมะได้ เนื่องจากปริมาณการปนเปื้อนยีสต์ในน้ำส้มเกล็ดหิมะสูงสุดประมาณ 10^3 CFU/ml

14. เมื่อศึกษาจุดที่เหมาะสมต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำส้มเกล็ดหิมะของสารสกัดกานพลู พบว่า น้ำส้มเกล็ดหิมะความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 15 องศาบริกซ์ พีเอช 1.8 ความเข้มข้นของสารสกัดกานพลู 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *C. parapsilosis* *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ได้ทั้งหมด (10^5 CFU/ml) และที่พีเอช 2.1 ความเข้มข้นของสารสกัดกานพลู 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้ 10^3 CFU/ml ดังนั้นในน้ำส้มเกล็ดหิมะ พีเอช 2.1 ความเข้มข้นของสารสกัดกานพลู 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เหมาะสมที่จะนำมายับยั้งยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มเกล็ดหิมะซึ่งมีปริมาณสูงสุดประมาณ 10^3 CFU/ml ได้

15. เมื่อศึกษาจุดที่เหมาะสมต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำส้มเกล็ดหิมะของโปแตสเซียมซอร์เบท พบว่า น้ำส้มเกล็ดหิมะความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 15 องศาบริกซ์ พีเอช 2.2 ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบท 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ได้ ทั้งหมด (10^5 CFU/ml) ส่วนการยับยั้ง *C. parapsilosis* ต้องใช้ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบท 3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งได้ทั้งหมด และในน้ำส้มเกล็ดหิมะที่พีเอช 2.6 ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบท 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Z. fermentati* และ *K. marxianus* ได้ 10^3 CFU/ml ส่วนการยับยั้ง *C. parapsilosis* ต้องใช้ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบท 2.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นในน้ำส้มเกล็ดหิมะพีเอช 2.6 ความเข้มข้นของโปแตสเซียมซอร์เบท 2.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เหมาะสมที่จะนำมายับยั้งยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำส้มเกล็ดหิมะซึ่งมีปริมาณสูงสุดประมาณ 10^3 CFU/ml ได้

16. เมื่อศึกษาจุดที่เหมาะสมต่อการยับยั้งยีสต์ในน้ำฝักกาดองของสารสกัดอบเชย กานพลู และ โปแตสเซียมซอร์เบท พบว่า ในน้ำฝักกาดองที่มีความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ 37 ส่วนในพันส่วน พีเอช 3.5 ความเข้มข้นของอบเชย กานพลู และ โปแตสเซียมซอร์เบท 3.0 0.6 และ

1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้ง *I. orientalis* ได้ทั้งหมด (10^5 CFU/ml) ความเข้มข้นดังกล่าวจึงเหมาะสมที่จะนำมายับยั้งยีสต์ที่ปนเปื้อนในน้ำผักกาดทองซึ่งมีประมาณ 10^5 CFU/ml ได้