การพัฒนาน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดผลมะแว้งเครือ

Development of Mouthwash from Guava Leaf Extract and Maweng Kruea Fruit Extract

ธันษ์ญพัศษ์ มนุษย์[1*] จรินทร์ธร ฟักคำ[1] อนงค์นุช ทุมปัด[1] และกนกกร ผิวอ่อน[1]

Thanyaphat Manud[1*] Charinthorn Fakkham[1] Anongnooch Thumpad[1] and Kanokkorn Phio-on[1]

Received: *December 30, 2023;* ***Revised:*** *April 22, 2024;* ***Accepted:*** *April 23, 2024*

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้ง และพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดผลมะแว้งเครือ ดำเนินการทดลอง โดยทำการสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ด้วย 95 % เอทานอล ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* ประเมินความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) พบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขณะที่ความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (MBC) พบสารสกัดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีอัตราส่วน MBC/MIC เท่ากับ 1 ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay พบว่า สารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 16.06 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดใบฝรั่งผสมสารสกัดผลมะแว้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน BHT การพัฒนาน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพร พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่ง และสารสกัดมะแว้งเครือ มีสีเหลืองใส รสชาติขมฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็นเล็กน้อย ไม่รู้สึกร้อนลิ้น และมีค่า pH = 6.7 มีความเหมาะสมสำหรับสภาพในช่องปาก

คำสำคัญ : สารสกัดใบฝรั่ง; สารสกัดผลมะแว้งเครือ; น้ำยาบ้วนปาก; ต้านเชื้อ; *Streptococcus mutans*

[1] *วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา*

[1] *College of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University*

[*] *Corresponding Author, Tel. 09 4156 3961, E - mail: Thanyaphat.ma@ssru.ac.th*

Abstract

This study aims to test the antibacterial efficacy and antioxidant activity of leaf extract and Maweng Kruea fruit extract and develop a mouthwash product containing extracts from guava leaf and Maweng Kruea. The experiments were conducted by extracting both herbs with 95 % ethanol. Research results indicated that herbal extracts possess inhibitory effects against *Streptococcus mutans*. The minimum inhibitory concentration (MIC) that can inhibit microbial growth was found at 0.25 mg/mL, while the minimum bactericidal concentration (MBC) for killing bacteria was found at 0.25 mg/mL, with an MBC/MIC ratio of 1. The mouthwash composed of guava leaf and Maweng kruea fruit extracts exhibited antioxidant properties with an IC_{50} of 16.06 µL/ml. The developed mouthwash from these herbal extracts was found to have physical properties suitable for oral use, including a clear yellow color, slightly bitter and slightly sweet taste, minty aroma, slight cooling sensation, no tongue irritation, and a pH value of 6.7, making it suitable for oral conditions.

Keywords: Guava Leaf Extract; Maweng Kruea Fruit Extract; Moutwash; Antibacterial; *Streptococcus mutans*

บทนำ

จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO) เรื่องสุขภาพในช่องปาก ความเสมอภาค และปัจจัยทางสังคม พบว่า ยังมีความไม่เท่าเทียมกันในระบบบริการสุขภาพช่องปากในหลายประเทศ จนกลายเป็นปัญหาระดับสากล ที่มีความไม่เท่าเทียมกันในระดับสังคมที่แตกต่างกันไปตามขนาด และขอบเขต ถึงแม้ในประเทศที่มีรายได้สูง อาจมีสวัสดิการดูแลสุขภาพช่องปากของรัฐเป็นอย่างดี ซึ่งปัจจัยนี้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพช่องปาก [1] ร้อยละของการมีกลิ่นปากที่ไม่พึงประสงค์ประมาณ 90 % เกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การสูบบุหรี่ ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การรับประทานอาหารบางชนิดที่มีกลิ่นแรง [2] นอกจากนี้โรคในช่องปากและฟัน อาทิ โรคฟันผุ โรคปริทันต์อักเสบ โรคแผลร้อนใน โรคทอนซิลอักเสบ อาการไอเจ็บคอ มีเสมหะ หรือโรคระบบทางเดินหายใจ โรคเหล่านี้มักจะทำให้มีอาการปวด บวม เลือดออก และมีกลิ่นปาก [3] เชื้อโรคที่พบบ่อยในช่องปากเกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่มาจากการดูแลรักษาความสะอาดภายในช่องปากและอาจต้องใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา [4] อาจทำให้มีความเสี่ยงต่อเชื้อดื้อยาและเกิดผลข้างเคียงจากยาต่อระบบอื่น ๆ ของร่างกายผู้ใช้ ซึ่งการดูสุขภาพในช่องปากเป็นขั้นตอนที่สำคัญช่วยป้องกันการเกิดโรคเหล่านี้ ผลิตภัณฑ์รักษาความสะอาดในช่องปาก เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก หรือสเปรย์ฉีดพ่นดับกลิ่นปาก เป็นอีกทางเลือกที่ส่วนใหญ่ใช้สารเคมีเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งบางครั้งทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ผลอาจทำให้เกิดการบวมของเหงือก แสบร้อนปาก เป็นแผลที่ปากมากขึ้น หรืออาจทำให้สีของฟันเปลี่ยนแปลงได้

ปัจจุบันมีการนิยมนำสารสกัดสมุนไพรหรือสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ เป็นทางเลือกในการดูแลสุขภาพมากขึ้น เพื่อลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาที่มีสารเคมี และลดค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีสรรพคุณในการรักษาโรคต่าง ๆ และระงับกลิ่นปากได้ดี สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในใบฝรั่ง ได้แก่ Tannins, Guajaverin, Quercetin, Essential oil และ Ellagicacid มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดใบฝรั่งสำหรับรักษาโรคอุจจาระร่วง [5] ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ลดอาการเหงือกอักเสบและบวมได้ [6] และมีความปลอดภัย สำหรับสารสกัดผลมะแว้งมีฤทธิ์การต้านการอักเสบ ลดอาการบวมออกฤทธิ์ดีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อเทียบกับยามาตรฐาน Streptomycin ไม่พบความเป็นพิษในหนูทดลองและไม่พบการระคายเคืองผิวต่อผิวหนังกระต่าย [7]

จากข้อมูลดังกล่าวผู้วิจัยสนใจทำการวิจัยศึกษาด้านสมุนไพรที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นปากศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสมุนไพร เพื่อเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรในท้องถิ่น จากการศึกษาและการหาข้อมูลเบื้องต้นพบว่า ใบฝรั่งที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและมะแว้งเครือที่มีสรรพคุณช่วยอาการเจ็บคอและลดอาการบวม ต้านการอักเสบ จึงนำสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดมาเป็นสารสกัดสมุนไพรและทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากด้วยวิธีการการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) โดยวิธี Broth Dilution Assay ทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นำไปพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพรใบฝรั่งและสารสกัดผลมะแว้งเครือ

วิธีดำเนินการ

1. **สารเคมีโดยวิธี DPPH Free Radical Scavenging Assay**
   - 1.1 สารสกัดใบฝรั่ง และสารสกัดผลมะแว้งเครือ ที่ได้จากการสกัดเครื่อง Rotary Evaporator
   - 1.2 95 % Absolute Ethanol
   - 1.3 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
   - 1.4 Butylated Hydroxytoluene (BHT)
2. **สารเคมีที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์**

ตารางที่ 1 สารเคมีใช้ในการทำผลิตภัณฑ์

สารเคมี	คุณสมบัติ
สารสกัดใบฝรั่ง	สารสำคัญ
สารสกัดผลมะแว้งเครือ	สารสำคัญ
70 % Sorbitol	สารให้ความหวาน
Glycerin	สารช่วยเปียก, ตัวทำละลายร่วม
Propylene Glycol	เพิ่มความชุ่มชื้น ดูดความชื้น
10 % Menthol in Alcohol	สารให้ความเย็น
Peppermint Oil	ระงับกลิ่นปาก กลิ่นหอมสดชื่น
95 % Ethanol	ตัวทำละลาย
70 % Ethanol	ตัวทำละลาย
น้ำกลั่น	ตัวทำละลายร่วม

3. **การเตรียมสารสกัดสมุนไพร**

การเตรียมตัวอย่างของสมุนไพร นำใบฝรั่งสด (*Psidium guajava L.*) และผลมะแว้งเครือ (*Solanum trilobatum L.*) มาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปตากแดดให้แห้ง แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วนำสมุนไพรแต่ละชนิดไปบดหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพร นำผงบดหยาบใบฝรั่งน้ำหนัก 500 กรัม และผลมะแว้งเครือน้ำหนัก 300 กรัม ทั้ง 2 ชนิดมาหมักรวมกันด้วย 95 % Ethanol ทิ้งไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดนำไปกรองแยกสารสกัดหยาบด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) จนสารสกัดแห้งแล้วนำมาเก็บใส่ขวดและเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และคำนวณ % Yield ดังสมการที่ (1)

$$\text{สูตร \% Yield} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดสมุนไพรที่ได้ x 100}}{\text{น้ำหนักสมุนไพรที่ใช้สกัด}} \quad (1)$$

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้าน Oxidation ที่ละลายด้วย Ethanol จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง การเตรียมสารละลาย DPPH Reagent ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ และตรวจวัดคุณสมบัติของสารสกัดสมุนไพรโดย

4.1 ชั่ง DPPH 7.9 มิลลลิกรัม ใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Ethanol เขย่าให้เข้ากัน และปรับปริมาตรจนถึงขีดที่กำหนด

4.2 เติมสารละลายมาตรฐาน และสารละลายสารสกัดสมุนไพร ลงใน 96 Well Plate จำนวน 100 ไมโครลิตร

4.3 เติมสารละลาย DPPH Radical ลงในหลุมที่มีสารมาตรฐาน และสารละลายสารสกัดสมุนไพร จำนวน 100 ไมโครลิตร

4.4 เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที

4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

4.6 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

4.7 นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณ % Inhibition จากสมการที่ (2)

$$\text{\% Inhibition} = \frac{\text{Control OD - Sample OD}}{\text{Control OD x 100}} \quad (2)$$

เมื่อ

Control OD คือ ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH และตัวทำละลายที่ใช้

Sample OD คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ผสมกับ DPPH

4.8 จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของ % Inhibition ในแต่ละความเข้มข้น ไปทำ Linear Regression เพื่อหาค่าความสามารถในการยับยั้งการเกิด Oxidation ได้ 50 % (50 % Inhibitory Concentration: IC_{50})

5. สายพันธุ์แบคทีเรียและสภาวะการเพาะเลี้ยง

เชื้อ *Streptococcus mutans* สายพันธุ์ NCTC 10449 (IFO 13955) ที่มีข้อมูลลำดับจิโนมที่แยกได้จากชั้นเนื้อฟัน และเพาะเลี้ยงเชื้อโดยวิธีที่ระบุไว้ใน ATCCM Guidelines โดยทำการเพาะเชื้อบนอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Agar (OXOID CM1135) และอาหารเหลว Brain Heart Infusion Broth (OXOID CM1135) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) โดยวิธี Broth Dilution Assay การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสำหรับการหาค่า MIC และ MBC ของสารสกัดเพื่อศึกษาค่า MIC และ MBC ด้วยวิธี Broth Dilution Assay เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ปริมาณ 0.5 x 10 CFU ถูกเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Broth ใน Microtiter Plate ขนาด 96 หลุม ทำการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 0.5 0.25 0.125 0.0625 0.03125 0.015 0.0075 และ 0.00375 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ต่อเนื่องเป็นเวลา 12 – 16 ชั่วโมง

5.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อและเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างกัน (1 0.5 0.25 0.125 0.0625

0.03125 0.015 0.0075 และ 0.00375 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ลงใน Microtiter Plate ขนาด 96 หลุม อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 – 16 ชั่วโมง จากนั้นเติมสาร Resazurin ที่ความเข้มข้นสุทธิ 44 ไมโครโมลาร์ ลงในแต่ละหลุม จากนั้นบ่มต่ออีก 3 ชั่วโมง และทำการบันทึกค่า MIC จากหลุมที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ DMSO และ Clarithromycin เป็นตัวแปรควบคุม และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

5.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อและเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างกันลงใน Microtiter Plate ขนาด 96 หลุม บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตามช่วงเวลาเดียวกันกับการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และนำแบคทีเรียจากหลุมที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียไปเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 – 16 ชั่วโมง และทำการบันทึกค่า MBC จากตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่แสดงผลการยังยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ DMSO และ Clarithromycin เป็นตัวแปรควบคุม และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

6. การเตรียมน้ำยาบ้วนปาก

สูตรน้ำยาบ้วนปากได้มีการพัฒนามาจากการพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรจากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้ในทางทันตกรรม [8] มีทั้งหมด 6 สูตร ซึ่งผลการวิจัยพบว่าสูตรที่ 6 มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะกับการใช้งานสำหรับเด็กและค่า pH เท่ากับ 6.7 เป็นสูตรพื้นฐานที่พัฒนาให้มีประสิทธิภาพทางการยังยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans*

ตารางที่ 2 สูตรตำรับของน้ำยาบ้วนปาก

สาร	ปริมาณ
สารสกัดใบฝรั่ง และผลมะแว้งเครือ	5 มิลลิลิตร
70% Sorbitol	4.5 มิลลิลิตร
Glycerin	1 มิลลิลิตร
Propylene Glycol	2 มิลลิลิตร
Peppermint Oil	0.03 มิลลิลิตร (1 หยด)
70 % Ethanol	2.5 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร

จากสูตรตามตารางที่ 2 ผสมสารสกัดใบฝรั่งและผลมะแว้งเครือทั้ง 2 ชนิด หมักรวมกันด้วย 95 % Ethanol จำนวน 5 มิลลิกรัม กับน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติม Propylene Glycol PEG 400 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติม 70 % Sorbitol 4.5 มิลลิลิตร และ Glycerin 1 มิลลิลิตร แล้วคนให้เข้ากัน แต่งกลิ่นและรสชาติด้วย Peppermint 1 หยด เติม 70 % Ethanol 2.5 มิลลิลิตร แล้วคนให้เข้ากันจนได้สารละลายใส ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการทดสอบกรด-ด่าง (pH Measurements) มีขั้นตอน คือ นำตัวอย่างปริมาณ 2 กรัม ไปทำละลายด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Eutech Instruments) ที่อุณหภูมิห้อง (21 องศาเซลเซียส ± 2) ทำการสังเกตและบันทึกผลการทดลอง ตำรับที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจึงจะถือว่ามีความคงตัวทางเคมีดี ซึ่ง pH ที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ต้องอยู่ในช่วง 6.2 – 7.72 จึงจะเป็นค่าที่เหมาะสมกับช่องปาก

ผลการวิจัย

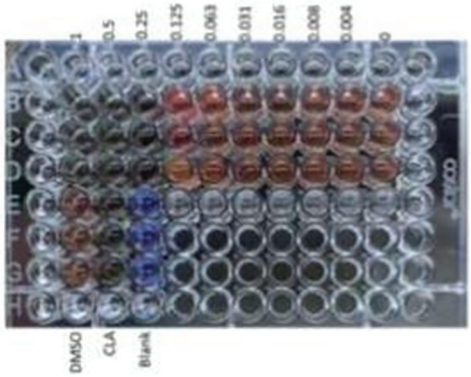
1. **การสกัดสารสมุนไพร**

สารสกัดจากใบฝรั่งและผลมะแว้งเครือที่ได้ระเหยแอลกอฮอล์ 95 % หลังอบให้แห้งแล้ว มีลักษณะของสารสกัดที่ได้ออกมาเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม น้ำหนักของสารสกัดที่ได้เท่ากับ 130.56 กรัม จากน้ำหนักของสมุนไพรที่อบแห้งทั้ง 2 ชนิด รวมกันทั้งหมด 800 กรัม และคิด % Yield ที่ได้เท่ากับ 16.32 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ดังรูปที่ 1

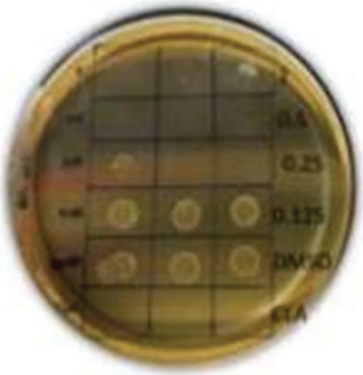
รูปที่ 1 สารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือ

2. **ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดมะแว้ง**

การทดสอบการต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* จากสารสกัดสมุนไพรได้รับการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยทดสอบเพื่อประเมินความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Broth Dilution Assay พบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (MBC) พบสารสกัดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีอัตราส่วน MBC/MIC เท่ากับ 1 ซึ่งบ่งชี้ถึงฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยกระตุ้นให้เซลล์แบคที่เรียตายในระดับเดียวกับที่ยับยั้งการเจริญเติบโต ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี Agar Dilution พบว่า ไม่สามารถทำผลการทดลองซ้ำได้ และพบการตกตะกอนเมื่อเตรียมสารประกอบในความเข้มข้นเกิน 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และพบว่าไม่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแม้จะทดสอบที่ความเข้มข้นสูงถึง 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากผลการทดลองโดยใช้วิธี Agar Dilution อาจเกิดขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดมีคุณสมบัติไม่ทนความร้อน ส่งผลให้สารออกฤทธิ์เสื่อมคุณภาพ ในขณะที่ Broth Dilution Assay จะเตรียมสารสกัดในระบบปิดที่ไม่ผ่านความร้อน ในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของอุณหภูมิและความสามารถในการละลายของสารออกฤทธิ์ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* การเลือกวิธีการผลิตที่มีอุณหภูมิที่เย็นอาจเป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าในการควบคุมศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และควรมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อทำความเข้าใจการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่เป็นสาเหตุของการสูญเสียศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว



(ก) การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)



(ข) การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

รูปที่ 2 ความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

3. **ผลทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ**

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพรใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือและสารมาตรฐาน BHT โดยทำปฏิกิริยากับ Free Radical Scavenging Assay (DPPH Assay) ผลที่ได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

สารสกัดจากสมุนไพร	IC_{50} Values of DPPH Radical Scavenging Activity (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
ใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือ	16.06
BHT	46.98

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay สารสกัดจากสมุนไพรพบว่า IC_{50} สารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารมาตรฐาน BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 46.98 ไมโครลิตร /มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดสมุนไพรกับสารมาตรฐาน BHT พบว่า สารสกัดสมุนไพรสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} สูงกว่าสารมาตรฐาน BHT

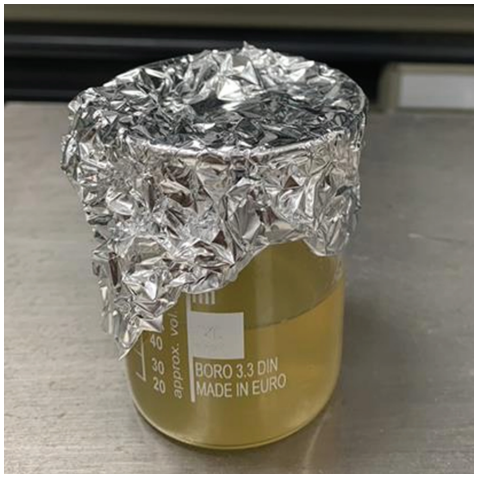
4. **คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปาก**

จากการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากของการพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรจากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้ในทางทันตกรรมในสูตรที่ 6 พัฒนาต่อยอดเป็นน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดมะแว้งเครือ พบว่าน้ำยาบ้วนปาก เมื่อผสมสารสกัดใบฝรั่งผสมมะแว้งเครือใน 70 % Sorbitol และ Glycerin น้ำยาบ้วนปากจะเกิดการขุ่นขึ้น จึงได้ทำการเพิ่ม PEG 400 เข้าไปซึ่งผลพบว่า ทำให้ใสขึ้นแต่น้ำยาบ้วนปากที่ได้มีรสชาติค่อนข้างขมและมีความร้อนลิ้น ผู้วิจัยจึงมีการปรับลดปริมาณของ PEG 400 ลงจากเดิม 2 มิลลิลิตร เป็น 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งยังคงทำให้สารละลายใสอยู่ และจากการชิมรสชาติของผู้วิจัยพบว่ามีความขมน้อยลงและความร้อนลิ้นที่ลดลง แต่งกลิ่นด้วย Peppermint Oil และเปลี่ยนความเข้มข้นของ Alcohol จาก 95 % เป็น 70 % พบว่า ได้สารละลายที่ใสไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวหน้า ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดผลมะแว้งเครือ

คุณสมบัติ	ลักษณะของน้ำยาบ้วนปาก
ความใส	ใส
สี	เหลือง
รสชาติ	ขมฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็นเล็กน้อย ไม่รู้สึกร้อนลิ้น
pH	6.7

จากตารางที่ 4 พบว่า คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดมะแว้งเครือมีสีเหลืองใส รสชาติขมฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็นเล็กน้อย ไม่รู้สึกร้อนลิ้น และมีค่า pH 6.7 เหมาะสมกับสภาพในช่องปากของมนุษย์



รูปที่ 3 น้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพรใบฝรั่งและสารสกัดมะแว้งเครือ

สรุปผลการวิจัย

1. **สรุปผลการวิจัย**

การพัฒนาน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งผสมสารสกัดผลมะแว้งการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร จากนั้นจึงพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดมะแว้ง และทำการทดสอบทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพร ผลการทดลองให้ดังนี้

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.06 ไมโครลิตร /มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT มีค่า IC_{50} เท่ากับ 46.98 ไมโครลิตร /มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดใบฝรั่งผสมสารสกัดผลมะแว้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน BHT

ผลของการต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่า สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ที่ทำให้เกิดกลิ่นปาก ด้วยการหาค่า Minimum Inhibition Concentration (MIC) และ Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ด้วยวิธี Broth Dilution Assay พบว่าสารสกัดยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ลักษณะทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพร มีลักษณะ สีเหลืองใส รสชาติขมฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็นเล็กน้อยและไม่รู้สึกร้อนลิ้น

ผลจากการทดสอบค่า pH ที่วัดได้ในน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพรมีค่าเท่ากับ 6.7 ซึ่งเหมาะสมกับช่องปากโดยค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับช่องปากมนุษย์จะอยู่ในช่วง 6.2 – 7.72

2. อภิปรายผล

เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่พบในคราบจุลินทรีย์ ที่ส่งผลให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ในช่องปาก และก่อให้เกิดโรคในช่องปากนั้น มักพบเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* จากการศึกษาสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด คือ สารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือที่สกัดด้วย 95 % Ethanol นำไปทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ด้วยการประเมินความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Broth Dilution Assay พบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (MBC) พบสารสกัดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีอัตราส่วน MBC/MIC เท่ากับ 1 ซึ่งบ่งชี้ถึงฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยกระตุ้นให้เซลล์แบคทีเรียตายในระดับเดียวกับที่ยับยั้งการเจริญเติบโต สอดคล้องกับงานวิจัยสารสกัดสมุนไพรต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก [9] ที่พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดสมุนไพรสารสกัดใบฝรั่งผสมผลมะแว้งเครือมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จึงนำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 มาพัฒนาเป็นสูตรน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคและระงับกลิ่นปากจำนวน 1 สูตร โดยพัฒนาสูตรมาจากน้ำยาบ้วนปากของงานวิจัยศึกษาการพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากสุมนไพรจากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้ในทางทันตกรรม [8] ที่มีลักษณะของน้ำยาบ้านปากมีสีเหลืองใส รสชาติขมฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็นเล็กน้อย ไม่รู้สึกร้อนลิ้น ที่มีค่า pH ที่เหมาะสมกับช่องปาก

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง การพัฒนาน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพร สำเร็จโดยสมบูรณ์ลงด้วยดีเนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาช่วยเหลือจากบุคคลผู้เกี่ยวข้องหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชุติกาญจน์ ศรีวิบูลย์ อธิการบดี และรองศาตราจารย์ ดร.รจนา จันทราสา ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่สนับสนุนและอนุมัติทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ซึ่งทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จโดยสมบูรณ์ตามวัตถุประสงค์ เจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องทุกคนของสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่ให้ความช่วยเหลือและการแนะนำด้านการเสนอโครงการวิจัยเพื่อขอรับทุนอุดหนุนการวิจัย นอกจากนั้นขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเดช รุ่งศรีสวัสดิ์ คณบดีวิทยาลัยสหเวชศาสตร์ หัวหน้าสาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุน ท้ายที่สุด ผู้วิจัยขอขอบพระคุณนักวิชาการผู้แต่งตำราและหนังสือจำนวนหลากหลายเล่มที่ผู้วิจัยใช้ศึกษาค้นคว้าประกอบการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างสูงยิ่ง หากปราศจากตำราและหนังสือของผู้ทรงคุณวุฒิดังกล่าวแล้ว รายงานการวิจัยนี้จะไม่สำเร็จสมบูรณ์ได้เลย

References

[1] Department of Dental Public Health, Department of Health. (2012). **Promoting Oral Health for Overall Health at Every Stage of Life**. Bangkok: The Royal Thai Army Welfare Printing Office

[2] Opiyanont, N. (2022). **Bad Breath**. Dentistry Department, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University. Bangkok

[3] Chidchuangchai, W. (2015). **Oral Examination and Diagnosis**. 2nd Edition. Bangkok: Mister Copy

[4] Kraipiboon, P. (2013). **Diseases of the Oral Cavity and Teeth**. Bangkok: Amarin Health Amarin Printing and Publishing

[5] Lutterodt, G. D. (1992). Inhibition of Microlax-Induced Experimental Diarrhoea with Narcotic-like Extracts of *Psidium guajava* Leaf in Rats. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 37, Issue 2, pp. 151-157. DOI: 10.1016/0378-8741(92)90073-Z

[6] Apisariyakul, A., Vanittanakorn, N., and Buddhasuk, D. (1995). Antifungal Activity of Turmeric Oil Extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 49, Issue 3, pp. 163-169. DOI: 10.1016/0378-8741(95)01320-2

[7] Thongpraditchote, S., Hanchanga, W., Wongkrajang, Y., Temsiririrkkul, R., and Atisuk, K. (2014). Toxicological Evaluation of *Solanum trilobatum* L. Fruit Extract. **Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol. 41, Issue 4, pp. 39-46

[8] Thoma-udta, A. and Thoma-udta, P. (2019). **Development of Herbal Mouthwash Formula from Guava Leaf Extracts for Dental Use**. Mahasarakham Hospital

[9] Khemnusawan, S., Chumparang, C., and Watcharagul, S. (2021). The Antibacterial Properties of Herbal Extracts Against Oral Pathogenic Bacteria. In **Proceedings of the National Science, Technology, and Innovation Conference, 3rd Edition**. pp. 255-264. Science and Technology for Community Innovation at the Faculty of Science and Technology, University Loei