



ความคงตัวของสารสกัดหยาบจาก
เม่าหลวงในน้ำยาบ้วนปาก
สูตรมาตรฐานต่อการยับยั้ง
Streptococcus จากช่องปาก

- แก้วกัลยา โสติดิสวัสดิ์
- นภาพร อินสิน

ความคงตัวของสารสกัดเหาหลวงในน้ำยาบ้วนปากสูตร
มาตรฐานต่อการยับยั้ง Streptococcus จากช่องปาก
Stability of Mao Luang (*Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg.)
Crude Extract in Standard Formula Mouthwash against Oral
Streptococci Bacteria

แก้วกัลยา โสติธวิสวัสดิ์¹

นำพร อินสิน¹

บทคัดย่อ

การศึกษาคงตัวของสารสกัดเหาหลวงในน้ำยาบ้วนปากสูตรมาตรฐานหรือน้ำเกลือ 0.9% จากผลการศึกษาคงตัวทางกายภาพพบว่า สีของสารสกัด ในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 80, 100, 120, 140 และ 160 mg/ml นั้นมีความคงตัวค่อนข้างน้อยมาก โดยมีสีที่เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงเฉด Greyed-orange ตลอด 30 วัน สำหรับค่าความเป็นกรดต่างพบว่า ทุกช่วงเวลาเก็บตัวอย่างในทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 160 mg/ml พบว่าค่า pH ที่วัดได้นั้นมีความต่างกันตลอด 5 ช่วงเวลาทำการเก็บตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในขณะที่การวัดค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 520 nm) ของสารสกัด ที่ผสมในน้ำเกลือ 0.9% พบว่ามีความสอดคล้องกับค่าความกรดต่างที่มีค่าลดลงเช่นกัน โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 100 mg/ml พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันตลอด 5 ช่วงเวลาทำการเก็บตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการศึกษาความคงตัวทางชีวภาพของสารสกัด ในการยับยั้ง Streptococcus 3 สายพันธุ์ คือ S. constellatus, S. salivarius และ S. mitis 1 ด้วยวิธี paper disc diffusion agar พบว่า ระยะเวลาค่อนข้างมีผลต่อความคงตัวของฤทธิ์ในการยับยั้ง Streptococcus ทั้ง 3 สายพันธุ์ จะเห็นได้จากการเก็บตัวอย่าง 3 ครั้งคือ วันที่ 1, 7 และ 15 มีผลทำให้ขนาดของบริเวณยับยั้ง Streptococcus ลดลงในทุกความเข้มข้นของสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นในวันที่ 23 และ 30 ที่ไม่พบการยับยั้ง Streptococcus ทุกสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 80 ถึง 120 mg/ml นั่นคือระดับความเข้มข้นของสารสกัด ที่สูงกว่าจะสามารถยับยั้ง Streptococcus ได้ดีหรือมากกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ถึงแม้เวลาจะผ่านไปจนถึงวันที่ 23 และ 30 โดย ณ ที่ระดับความเข้มข้น 140 และ 160

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ตำบลธาตุเชิงชุม อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร 47000

mg/ml ก็สามารถยับยั้ง Streptococcus ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ จากการวิจัยครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเม่าหลวงมีความคงตัวทางชีวภาพค่อนข้างต่ำ ดังนั้นในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในรูปแบบต่างๆ อาจจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปัจจัยที่ส่งผลถึงความคงตัวของฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ รวมถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดๆ ที่เหมาะสมเพียงพอในการต้านจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มชนิดร่วมด้วย

คำสำคัญ: เม่าหลวง, ความคงตัวของสารสกัดหยาบ

Abstract

This study aimed to study of stability of Mao Luang (*Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg.) crude extract in standard formula mouthwash against oral Streptococci bacteria. The physical stability study of 5 differential levels of the extract concentration as followings: 80, 100, 120, 140 and 160 mg/ml dissolved in 0.9% saline were performed and found a low stability. The extract color of all conditions were changed in the shade of Greyed-orange throughout 30 days. The pH of all samples were shown the trends to decline at each level of concentration. In particular, the concentrations level of 160 mg/ml had shown the significantly different of pH in 5 sampling times at a confidence level of 95%. While absorbance measuring (at 520 nm) of the extract dissolved in 0.9% saline were related with the reduced pH value. In particular, the concentrations level of 80 and 100 mg/ml were found the significantly different of the absorption throughout 5 sampling times. For the study of biological stability of the extracts to inhibit three strains of Streptococcus as followings: *S. constellatus*, *S. salivarius* and *S. mitis* 1 by using paper disc diffusion agar method was determined. The result shown the time to affect the stability of the inhibitory effect. The three sampling times at day 1, 7 and 15 had shown the reducing of the Streptococcus inhibition zone significantly at a confidence level of 95%, except on day 23 and 30 that were no Streptococcus inhibition in all strains at concentrations of 80 to 120 mg/ml. From the results indicated that the higher extract concentration could inhibit Streptococcus better than at low concentrations. By at concentrations of 140 and 160 mg/ml could inhibit 3 strains of Streptococcus up to 23 and 30 days. This study demonstrates the Mao Luang crude extract had a relatively low biological stability. Therefore, applications for medicinal products that capable anti-pathogenic bacteria in different forms may need to learn more about the factors that affect the stability of the effect of antimicrobial particular with the study of appropriate extract concentration for anti-microbial in each group of pathogen.

Keyword: Mao Luang, Stability of crude extract

บทนำ

เม่าหลวงหรือหมากเม่า (*Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg.) เป็นพืชไม้ผลท้องถิ่น พบโดยทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนโดยเฉพาะจังหวัดสกลนคร มุกดาหาร นครพนม และกาฬสินธุ์ เม่าหลวงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมชุมชนหลายแห่ง โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น ไวน์เม่า น้ำเม่า แยมเม่า เป็นต้น ปัจจุบันการศึกษาประโยชน์ของเม่าหลวงในด้านประสิทธิภาพของตัวยาสมุนไพรรักษาโรคและเสริมความงามกำลังได้รับความสนใจจากนักวิชาการในหลายสาขา เนื่องจากในส่วนต่างๆ ของต้นเม่าหลวงมีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นสารสรรพคุณทางยาที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มของสารฟีนอลิก (Phenolic compound) ที่มีปริมาณสูงมากในผลเม่าเกือบทุกสายพันธุ์ ซึ่งสารดังกล่าวนี้พบว่ามีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้

การนำเม่าหลวงมาใช้ประโยชน์ในรูปของสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่อุดมไปด้วยกลุ่มของสารฟีนอลิกความเข้มข้นสูง จึงเป็นอีกแนวทางในการพัฒนาศักยภาพของเม่าหลวงเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดได้ กระบวนการในการสกัดสาร ได้แก่ การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม รวมถึงการศึกษาความคงตัวทั้งทางกายภาพและชีวภาพของสารสกัด จึงเป็นเรื่องจำเป็นเพื่อสนับสนุนแนวคิดที่จะนำสารสกัดสมุนไพรหยาบจากเม่าหลวง ไม้ผลที่มีอยู่แพร่หลายในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการผลิตน้ำยาบ้วนปากที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus* ในช่องปาก (เช่น *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius* และ *S. mitis* เป็นต้น) แทนการใช้สารเคมีบางชนิด ซึ่งนอกจากจะเป็นการลดการใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะแล้ว ยังมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภค

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาด้านความคงตัว (ความเสถียร) ของสารสกัดหยาบจากเม่าหลวงในสารละลายน้ำยาบ้วนปากสูตรมาตรฐานที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus* ในช่องปาก เพื่อสร้างองค์ความรู้และเผยแพร่แนวทางการพัฒนาเม่าหลวงให้เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากเม่าหลวง

สำหรับการสกัดสารหยาบจากเม่าหลวง ได้ประยุกต์ตามวิธีการของ Heruansalee and Direkbusarakom. (1993) โดยนำเม่าหลวงผลสดสายพันธุ์ฟ้าประทาน มาคั้นเอาน้ำออกให้เหลือเฉพาะส่วนของกากและเมล็ดเม่า แล้วนำมาอบจนแห้งที่ 60 °C จากนั้นจึงบดกากและเมล็ดเม่าด้วยเครื่องบดจนเป็นผงละเอียด ก่อนแช่ผงเม่าในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ในอัตราส่วน 1:2 ของปริมาณเม่าผงต่อปริมาตรเอทิลแอลกอฮอล์ ทำการเขย่าทุกๆ ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน กรองสารละลายเม่าด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำส่วนของเหลวไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 8,000 rpm นาน 10 นาที นำส่วนของเหลวใสไประเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหย

สูญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) จนกระทั่งได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นหนืดและมีสีน้ำตาลอ่อน บรรจุสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 40 °C ก่อนนำมาใช้ทดสอบต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดเม่าหลวงในน้ำยาบ้วนปากสูตรมาตรฐาน

ผสมสารสกัดหยาบจากเม่าหลวงในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% (0.9% (w/v) saline) ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของน้ำยาบ้วนปากสูตรมาตรฐาน (Lucas และคนอื่นๆ. 2000) ให้มีระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับคือ 80, 100, 120, 140 และ 160 mg/ml เก็บตัวอย่างทุกวันที่ 1, 7, 15, 23, และ 30 เพื่อตรวจวิเคราะห์ผล

การตรวจวิเคราะห์ความคงตัวของสารสกัดฯ ในน้ำยาบ้วนปากสูตรมาตรฐาน

ทางกายภาพ ได้แก่ สี (วัดด้วยแถบวัดสี, R.H.S. Colour Chart, London), ค่าพีเอช (วัดด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง) และค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 520 นาโนเมตร)

ทางชีวภาพ ได้แก่การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้ง Streptococcus 3 สายพันธุ์ คือ S.constellatus, S. salivarius และ S. mitis 1 ด้วยวิธี paper disc diffusion agar โดยประยุกต์ตามวิธีของ Owlia, Rasooli and Saderi (2007) ร่วมกับ Forbes, Sahm and Weissfeld (2002) โดยเตรียมเชื้อทดสอบในอาหาร BHI broth (Himedia, India) แล้วนำไปบ่มที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง โดยบรรจุร่วมกับ Gas pack (Anaerocult A, MERCK) เพื่อสร้างสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) ก่อนการทดสอบทำการปรับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นให้ได้ตามค่ามาตรฐาน McFarland No. 0.5 ด้วยอาหาร BHI broth ปลอดเชื้อ ก่อนกวาดเชื้อทดสอบให้ทั่วผิวน้ำอาหาร BHI agar ด้วยไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (swab test) หลังจากนั้นแช่แผ่นทดสอบ (Antibiotic assay disc, diameter 6 mm., Whatman) ปลอดเชื้อลงในสารสกัดฯ ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% ที่มีระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับคือ 80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วใช้ forcep คีบแผ่นทดสอบวางลงบนผิวน้ำอาหาร BHI agar ที่ทำการกวาดเชื้อทดสอบแล้ว จากนั้นจึงทำการบ่มเชื้อที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมงในสภาวะไร้ออกซิเจน

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารหยาบจากเม่าหลวง

เมื่อนำผลเม่าหลวงสดมาทำการสกัดสารหยาบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และนำไประเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมงโดยประมาณ หรือจนกว่าจะได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นหนืดและมีสีน้ำตาลเข้ม สำหรับผลการสกัดได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของร้อยละของผลผลิต (%Yield) โดย %Yield ที่ได้นั้นคิดเป็น 2.44

2. ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพของสารสกัดฯ

การศึกษาความคงตัวของสารสกัดฯ ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับคือ 80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเก็บตัวอย่างทุกวันทั้งที่ 1, 7, 15, 23, และ 30 เพื่อตรวจวิเคราะห์ผลทางกายภาพและชีวภาพ โดยผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ (ได้แก่ สี, ค่าพีเอช และค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร) ของสารสกัดฯ ที่ผสมในน้ำเกลือ 0.9% นั้นแสดงดังตารางที่ 1 – 3

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความคงตัวของสีสารสกัดฯ ในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่ต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 30 วัน

Times	Color of Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 166 (B)	Greyed-orange 166 (B)	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 164 (A)
Day 7	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 166 (B)	Greyed-orange 166 (B)	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 164 (A)
Day 15	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 166 (B)	Greyed-orange 164 (A)	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 165 (B)
Day 23	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 164 (A)	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 165 (B)
Day 30	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 166 (C)	Greyed-orange 164 (A)	Greyed-orange 165 (B)	Greyed-orange 165 (B)

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาความคงตัวของค่าความกรดต่าง (ค่า pH) ของสารสกัดฯ ที่ผสมในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 30 วัน

Times	Acidity of Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	2.33 (± 0.02)	2.24 (± 0.01)	2.19 (± 0.01)	2.21 (± 0.01)	2.18 (± 0.00)*
Day 7	2.32 (± 0.02)	2.23 (± 0.01)	2.18 (± 0.01)	2.21 (± 0.01)	2.15 (± 0.01)**
Day 15	2.30 (± 0.02)	2.23 (± 0.02)	2.15 (± 0.01)**	2.20 (± 0.02)	2.14 (± 0.02)**
Day 23	2.26 (± 0.01)*	2.19 (± 0.01)*	2.14 (± 0.00)**	2.15 (± 0.01)**	2.11 (± 0.02 ***
Day 30	2.18 (± 0.01)*	2.11 (± 0.01)*	2.11 (± 0.02)*	2.14 (± 0.01)**	2.11 (± 0.02 ***
Mean	2.28 (± 0.06)	2.20 (± 0.06)	2.15 (± 0.03)	2.18 (± 0.03)	2.14 (± 0.03)

หมายเหตุ: ตัวเลขในวงเล็บคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation), * คือ ความแตกต่าง (ในคอลัมน์เดียวกัน) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < .05$)

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความคงตัวของค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารสกัดฯ ในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 30 วัน

Times	Absorbance of Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	0.160 (± 0.001)*	0.194 (± 0.001)*	0.196 (± 0.001)	0.199 (± 0.001)	0.210 (± 0.004)
Day 7	0.149 (± 0.001)*	0.180 (± 0.001)*	0.182 (± 0.002)	0.191 (± 0.001)	0.202 (± 0.004)
Day 15	0.132 (± 0.002)*	0.178 (± 0.001)**	0.176 (± 0.001)*	0.168 (± 0.001)*	0.171 (± 0.002)*
Day 23	0.128 (± 0.001)*	0.177 (± 0.001)**	0.164 (± 0.001)*	0.155 (± 0.002)*	0.168 (± 0.002)*
Day 30	0.119 (± 0.002)*	0.168 (± 0.004)*	0.162 (± 0.002)*	0.147 (± 0.001)*	0.159 (± 0.001)*
Mean	0.138 (± 0.145)	0.180 (± 0.010)	0.183 (± 0.011)	0.189 (± 0.009)	0.196 (± 0.012)

หมายเหตุ: ตัวเลขในวงเล็บคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation), * คือ ความแตกต่าง (ในคอลัมน์เดียวกัน) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < .05$)

จากตารางที่ 1 พบว่าสีของสารสกัดฯ ที่ผสมในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) นั้นมีความคงตัวค่อนข้างน้อยมาก โดยมีสีที่เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงเฉด Greyed-orange ตลอด 30 วัน สำหรับค่าความกรดต่าง (ตารางที่ 2) ใน 5 ช่วงเวลาคือ ตั้งแต่วันที่ 1, 7, 15, 23 และ 30 นั้นพบว่าในทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าค่า pH ที่วัดได้มีความต่างกันตลอด 5 ช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สำหรับผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 520 นาโนเมตร) ของสารสกัดฯ ในน้ำเกลือ 0.9% ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (ตารางที่ 3) พบว่ามีความสอดคล้องกับค่าความกรดต่าง ที่มีค่าลดลงเช่นกัน โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันตลอด 5 ช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 120 ถึง 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่า ตั้งแต่วันที่ 15 ถึงวันที่ 30 ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

3. การทดสอบความคงตัวของชีวภาพของสารสกัดฯ

สำหรับการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้ง Streptococcus 3 สายพันธุ์ ด้วยวิธี paper disc diffusion agar (ตารางที่ 4-6) พบว่า ระยะเวลา (ที่ผ่านไป) ค่อนข้างมีผลต่อความคงตัวของฤทธิ์ในการยับยั้ง Streptococcus ทั้ง 3 สายพันธุ์ จะเห็นได้จากการเก็บตัวอย่าง 3 ครั้งคือ วันที่ 1, 7 และ 15 มีผลทำให้ขนาดของบริเวณยับยั้ง Streptococcus ลดลงในทุกความเข้มข้นของสารสกัดฯ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นในวันที่ 23 และ 30 ที่ไม่พบการยับยั้ง Streptococcus ทุกสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 80 ถึง 120 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดฯ มีผลโดยตรงต่อการยับยั้ง Streptococcus ทั้ง 3 สายพันธุ์ นั่นคือระดับความเข้มข้นของสารสกัดฯ ที่สูงกว่าจะสามารถยับยั้ง Streptococcus ได้ดีหรือมากกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ถึงแม้เวลาจะผ่านไปถึงวันที่ 23 และ 30 โดยที่ระดับความเข้มข้น 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้ง Streptococcus ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้

ตารางที่ 4 แสดงบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) *S. constellatus* ของสารสกัดที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% เป็นเวลา 30 วัน

Times	Size of Inhibition zone (mm)				
	Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	7.37 (± 0.15)*	7.57 (± 0.06)*	8.30 (± 0.10)*	8.80 (± 0.02)*	9.10 (± 0.17)*
Day 7	7.27 (± 0.15)*	7.43 (± 0.06)*	8.03 (± 0.21)*	8.33 (± 0.12)*	8.60 (± 0.10)*
Day 15	7.17 (± 0.06)*	7.33 (± 0.06)*	7.77 (± 0.15)*	8.30 (± 0.10)*	8.37 (± 0.12)*
Day 23	-	-	-	8.10 (± 0.10)*	8.27 (± 0.06)*
Day 30	-	-	-	7.20 (± 0.17)*	7.30 (± 0.10)*

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีการยับยั้ง (no inhibitory effect) หรือไม่เกิดบริเวณใส (clear zone), ตัวเลขในวงเล็บคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation), * คือ ความแตกต่าง (ในคอลัมน์เดียวกัน) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < .05$)

ตารางที่ 5 แสดงบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) *S. salivarius* ของสารสกัดที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% เป็น เวลา 30 วัน

Times	Size of Inhibition zone (mm)				
	Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	7.30 (± 0.10)*	7.60 (± 0.36)*	7.93 (± 0.15)*	8.30 (± 0.10)*	8.60 (± 0.10)*
Day 7	7.10 (± 0.10)*	7.37 (± 0.25)*	7.77 (± 0.06)*	8.17 (± 0.15)*	8.37 (± 0.21)*
Day 15	6.67 (± 0.15)*	7.0 (± 0.26)*	7.43 (± 0.15)*	8.03 (± 0.15)*	8.23 (± 0.15)*
Day 23	-	-	-	7.67 (± 0.25)*	7.97 (± 0.06)*
Day 30	-	-	-	7.4 (± 0.10)*	7.63 (± 0.42)*

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีการยับยั้ง (no inhibitory effect) หรือไม่เกิดบริเวณใส (clear zone), ตัวเลขในวงเล็บคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation), * คือ ความแตกต่าง (ในคอลัมน์เดียวกัน) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < .05$)

ตารางที่ 6 แสดงบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) *S. mitis* 1 ของสารสกัดขี้ที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน 5 ระดับ (80, 100, 120, 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% เป็นเวลา 30 วัน

Times	Size of Inhibition zone (mm)				
	Extract Concentration in 0.9% NaCl (mg/ml)				
	80	100	120	140	160
Day 1	7.13 (± 0.06)*	7.90 (± 0.00)*	8.23 (± 0.15)*	9.00 (± 0.17)*	9.20 (± 0.10)*
Day 7	6.97 (± 0.21)*	7.43 (± 0.21)*	7.87 (± 0.06)*	8.50 (± 0.10)*	8.60 (± 0.10)*
Day 15	6.63 (± 0.21)*	7.40 (± 0.10)*	7.80 (± 0.10)*	8.17 (± 0.06)*	8.20 (± 0.10)*
Day 23	-	-	-	7.57 (± 0.15)*	7.67 (± 0.21)*
Day 30	-	-	-	7.40 (± 0.10)*	7.47 (± 0.21)*

หมายเหตุ: - คือ ไม่มีการยับยั้ง (no inhibitory effect) หรือไม่เกิดบริเวณใส (clear zone), ตัวเลขในวงเล็บคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation), * คือ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า เม้าหลวงมีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปากได้ แต่การนำไปพัฒนาหรือประยุกต์ใช้เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพรยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในรูปแบบต่างๆ อาจจำเป็นต้องพิจารณาถึงปัจจัยที่ส่งผลถึงความคงตัวของฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค รวมถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมเพียงพอของสารสกัด ในการต้านจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มชนิด เนื่องจากเม้าหลวงมีความคงตัวทางชีวภาพค่อนข้างต่ำ โดยจะเห็นได้จากการเก็บตัวอย่างตลอด 30 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 140 และ 160 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าวันที่ 1 คือวันที่มีกิจกรรมยับยั้ง *Streptococcus* สูงที่สุดคือ 9.00 และ 9.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อถึงวันที่ 30 พบว่ากิจกรรมการยับยั้ง *Streptococcus* มีค่าลดลงเป็น 7.40 และ 7.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ หรือคิดเป็น 17.78 และ 18.80 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมการยับยั้งที่ลดลงตามลำดับ

นอกจากนี้ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพทุกพารามิเตอร์ได้แก่ สี, ค่าพีเอช และค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด ที่ผสมในน้ำเกลือ 0.9% นั้นแสดงให้เห็นว่าสารผสมระหว่างสารสกัด (ทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น) และ 0.9% NaCl นั้นมีความคงตัวทางกายภาพที่ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจเกิดจากผลขององค์ประกอบทางเคมีของเม้าหลวงที่มีความซับซ้อนสูงมาก โดยเฉพาะกลุ่มของสารฟีนอลิกหรือโพลีฟีนอล โดย สุจิตรา ไชยฤกษ์

(2545) ได้วิเคราะห์หาองค์ประกอบของแทนนินในเมล็ดเม่าหลวง พบว่า เมล็ดเม่าหลวงผลสีแดง และสีดำ มีแทนนินเป็นองค์ประกอบ 1.546 และ 1.172 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ รัตน อินทรานุปรกรณ์ (2550) กล่าวว่า แทนนินนั้นเป็นสารพอลิฟีนอล (polyphenol) มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีรสฝาดที่มีฤทธิ์ในการรักษาแผล หรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ดังนั้นหากสารดังกล่าวทำปฏิกิริยาเคมีกับ 0.9% NaCl จึงอาจทำให้เกิดเป็นลักษณะแขวนลอยและตะกอนขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป นอกจากนี้ชนิดของสายพันธุ์ของเม่าหลวงและ/หรือตัวทำลาย อาจมีผลต่อความคงตัวของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vudhivanich (2003) ที่พบว่าพืชชนิดเดียวกันที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 40, 60 และ 95% ให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* แตกต่างกันไป เช่นเดียวกับ ศศิธร วุฒินิชย์ และ สุพจน์ ศุภนันทร (2548) ที่รายงานว่าสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดคงฤทธิ์อยู่ได้ไม่นานนัก เช่น สารสกัดหยาบจากใบทองพันชั่งคงฤทธิ์อยู่ได้ไม่เกิน 3 วัน ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกผลทับทิมสามารถคงฤทธิ์อยู่ได้นานกว่า 3 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับ วันดี กฤษณพันธ์ (2537) ที่กล่าวว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญไม่เหมือนกันและในปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ สภาพแวดล้อมในการปลูก อายุและช่วงเวลาเก็บเกี่ยว การศึกษาหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิด ศึกษาคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ การเพิ่มประสิทธิภาพและความคงตัวของสารออกฤทธิ์ ตลอดจนวิธีการนำไปประยุกต์ใช้ที่เหมาะสม เป็นสิ่งที่น่าสนใจ ควรทำการศึกษาอย่างต่อเนื่องต่อไป

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยที่ได้แสดงให้เห็นศักยภาพในการใช้ประโยชน์จากสารสกัดหยาบจากเม่าหลวงเพื่อนำมาใช้ผลิตน้ำยาบ้วนปากหรือผลิตภัณฑ์ยับยั้งแบคทีเรียในช่องปากนั้นมีความเป็นไปได้สูงในแง่ของประสิทธิภาพในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทดแทนการใช้สารเคมีที่อาจส่งผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค แต่ในแง่ของความเหมาะสมของสูตรหรือส่วนผสมนั้น อาจจะต้องมีการปรับปรุงและนำไปพัฒนาเพื่อให้ได้มาซึ่งสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรหรือคงตัวทั้งทางกายภาพและชีวภาพมากขึ้น ซึ่งในอนาคตอาจเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งให้กับผู้บริโภค และอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากสมุนไพร นอกจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมความรู้เกี่ยวกับการใช้สมุนไพรแก่ประชาชนและผู้สนใจ เนื่องจากในปัจจุบันประชาชนให้ความสนใจในเรื่องของการดูแลสุขภาพ จึงหันมาใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรกันมากขึ้น ซึ่งถือว่าการเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรในท้องถิ่นอีกทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

- วันดี กฤษณพันธ์. (2537). **สมุนไพรน่ารู้**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตน์ อินทรานุปกรณ์. (2550). **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุจิตรา ไชยฤกษ์. (2545). **ชีววิทยาของดอก ผล และปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจนที่สะสมในใบและกิ่งในหนึ่งปีของเม่าหลวง (Antidesma thwaitesianum Muell.Arg.)**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศศิธร วุฒิวนิชย์ และ สุพจน์ ศุภนันทร. (2548). **ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งการเจริญของ Ralstonia solanacearum สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ**. **วารสารกำแพงแสน**. 3(2) : 11–27.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2002). **Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology**. 11th ed. Missouri: An Imprint of Elsevier Science.
- Heruansalee, A. and Direkbusarakom, A. (1993). Investigation on the bioactive Thai medical plants to virus in tiger prawns. In pp. 104–106; P. Menawasat (ed) **Proc. On Conference on Marine Biotechnology in the Asian Pacific Region**.
- Lucas, V.S., Beighton, D., and Robert, G.J. (2000). Composition of the oral streptococcal flora in healthy children. **Journal of Dentistry**. 28: 45–50.
- Owlia, P., Rasooli, I., and Saderi, H. (2007). Antistreptococcal and antioxidant activity of essential oil from *Matricaria chamomilla* L. **Research Journal of Biological Sciences**. 2(2): 155–160.
- Vudhivanich, S. (2003). Potential of some Thai herbal extracts for inhibiting growth of *Ralstonia solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt of tomato. **Kamphaengsaen Academic Journal**. 1(2): May–August 2003. 70–77.