เอกสารอ้างอิง

1. กัลยา วงศ์วาน, จันเพชร ราชดา, นิตยา พันสี. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีและเบต้า-แคโรทีนในพืชผักผลไม้ที่ขายในตลาดวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2542.
2. เกศริน เงินหมื่น, ธัญลักษณ์ พินิจเชื้อ, พรพิมล พรมทอง. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของผักพื้นบ้านและสมุนไพรบางชนิด. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2549.
3. คเชนทร์ ชนะชัย, พลศักดิ์ อันทะนิล และวิภาพร กุลสุวรรณ์. การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นเพื่อหาฤทธิ์ที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวน B และ T lymphocyte ของสมุนไพรไทยบางชนิดในภาคอีสานด้วยวิธี MTT assay. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2546, หน้า 1-14, 32-8.
4. จิกน้ำ. 2006; [1หน้า]. Available at: http://www.school.net.th/library/create-web/10000/science/10000-5472.html. Accessed December 31, 2006.
5. ฉวีวรรณ ภักดีธนากุล. น้ำยาบ้วนปาก. 2001;[1 screen]. Available at: URL: http:// www.elib-online.com/doctors3/ent_mouth02.htm. Accessed January 13, 2007.
6. ไชยวัฒน์ ไชยสุต, เฉลิมพงษ์ แสนจุ้ม, สาร์ทจีน ถีระจันทร์. ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและป้องกันการทำลายดีเอ็นเอของพืชผักพื้นบ้านและสมุนไพรบางชนิด, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
7. ณัฏฐา รัชตะนาวิน. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant). ใน:วิชิต ลีนุตพงษ์, บรรณาธิการ. แสงแดดและผิวหนัง. กรุงเทพมหานคร: งานตำราวารสารและสิ่งพิมพ์ สถานเทคโนโลยีการศึกษาแพทย์ศาสตร์ คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล; 2547. 433 -49.
8. ทัดทรง ทั่วทิพย์. การประเมินผลยาเม็ด. ใน:สุทิน ศิริไพรวันและฤดี เสาวคนธ์, บรรณาธิการ. เภสัชอุตสาหกรรม 1. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ก. การพิมพ์; 2525. 359-400.
9. ธัญญาพร สุภักดี, พิมพิกา ทองปน และวรรณิสา พัฒนพุฒิวงศ์. การเตรียมตำรับยาเม็ดที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสารสกัดกระโดน. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2549

10. นิตยา พรหมเกตุ , อภิรุจ เชียงโสม. การศึกษาคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของน้ำหมักชีวภาพในผักพื้นบ้านของจังหวัดอุบลราชธานี. พิมพ์ครั้งที่1. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ; 2547.16-21.
11. นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: NOBEL PRINT, 2544.
12. ปรีชา บุญจูง. สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidant). ใน:โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. Radical Scavenging Agent สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี. เอส.พริ้นท์; 2549.123-44.
13. รศ.พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง ฉบับปรับปรุง, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544, 66-94
14. พจนีย์ สุริยวงค์. ความก้าวหน้าของสมุนไพรและยาต้านจุลชีพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. หน้า 126-136. กรุงเทพ : ที. พี. พรินท์, 2537
15. มัทธนี อนันนตพงษ์, อัญชลี ชุติไพจิตร. แผ่นฟิล์มระงับกลิ่นปากชนิดละลายเร็ว. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2544.
16. มานี เหลืองธนะอนันต์ และ ธนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์. การประยุกต์ใช้พอลิเมอร์เพื่อพัฒนาตำรับยาเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ. หน้า นครปฐม : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. 2546
17. มาลิน จุลศิริ, รุ่งระวี เต็มศิริกุล, อรุณี สาระยา, วรลักษณ์ ปรัชญพฤกษ์, อรพิน เติมวิชชากร, วนิดา ศรีไพโรจน์กุล และคณะ. สารสกัดละลายน้ำต้านจุลชีพจากเปลือกผลทับทิม: องค์ประกอบในน้ำยาบ้วนปากฆ่าเชื้อ. วารสารเภสัชศาสตร์
18. มนต์ชุลี นิติพน. ส่วนประกอบของยาเม็ด. ใน:สุทิน ศิริไพรวันและฤดี เสาวคนธ์, บรรณาธิการ. เภสัชอุตสาหกรรม 1. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ก. การพิมพ์; 2525.143-74.
19. ยุพิน รุ่งเวชวุฒิวิทยา. ปัญหาในการผลิตยาเม็ด. ใน:สุทิน ศิริไพรวันและฤดี เสาวคนธ์, บรรณาธิการ. เภสัชอุตสาหกรรม 1. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ก. การพิมพ์; 2525.307-38.
20. เรียนเคมีพื้นฐานด้วยเครื่องดื่มชาเขียว. หมอชาวบ้าน กรกฎาคม 2545;279: [16 screens]. Available at: URL: http://chemw.sc.mahidol.ac.th/scess/scch109/Thai.pdf. Accessed December 28, 2006.

21. วันดี กฤษณพันธ์ (2536) : ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 2. หน้า 299-318

22. วันดี รังสีวิจิตรประภา. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำหมักสมุนไพรท้องถิ่นจังหวัดอุบลราชธานี. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2547.

23. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. ผักพื้นบ้านอีสาน. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2541.

24. สารต้านอนุมูลอิสระในผักพื้นบ้าน. 2000; [22 หน้า]. Available at: http://www.agric-prod.mju.ac.th/web-veg/plantlist/pak.htm. Accessed December 31, 2006

25. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. สืบค้นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับอนุญาต. Available at: URL:http://www.2.fda.moph.go.th/consumer/conframe.asp. Accessed December 18, 2006.

26. ศิริพร พลเสน และอภินันท์ คำเพชรดี. การศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของน้ำหมักชีวภาพจากติ้ว ด้วยวิธีการวัดการเพิ่มจำนวนของ T-lymphocytes. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2547, หน้า 32-3.

27. อนุช อาภาภิรม. โครงการข่าวสารทิศทางประเทศไทย.2004; [63 หน้า]. Available at: URL:http://www.ttmp.trf.or.th /โครงการข่าวสารทิศทางประเทศไทย. htm. Accessed January 1 , 2007.

28. โอภา วัชระคุปต์. ภาวะถูกออกซิไดซ์เป็นสมดุลโดยอนุมูลอิสระและดัชนีชี้วัด. ใน:โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. Radical Scavenging Agent สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์; 2549. 44-74.

29. โอภา วัชระคุปต์.บทบาทอนุมูลอิสระกับโรคและการป้องกัน. ใน:โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์; 2549. 27-43.

30. โอภา วัชระคุปต์. อนุมูลอิสระ (Free Radical). ใน:โอภา วัชระคุปต์, บรรณาธิการ. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์; 2549. 1-10.

31. Auttachoat W, Chitsomboon B, Peachee V, Guo T, White K. Immunomodulation by Dok Din Daen (*Aeginetia indica* Roxb.) extracts in female B6C3F1 mice. 2004.

32. Available at: URL:http://www.axxora.com/cell_stress_oxidative_stress__redox_signalling-ALX-270-267/opfa.1.1.ALX-270-267.1126.4.1.html. Accessed December 31, 2006.

33. Available at :URL: http://biodiversity.biotec.or.th/update/news/news/oldnews/december/33.html. Accessed December 31, 2006.

34. Available at: URL: http://www.ch.ic.ac.uk/wiki/index.php/It:Vitamin_E. Accessed December 31, 2006.

35. Available at: URL:http://www.mypharmacy.com.sg/ShopFront/ProductPage.aspx?CatID=236&ProdSKU=402499108H. Accessed December 18, 2006.

36. Available at: URL: http://ubon.obec.go.th/school/swws/pictures/pak_mek.jpg. Accessed December 28, 2006.

37. Barter DC, Gagnon JP, Bransome ED, Valentino JG. USP27/NF22. Ontario: web com limited;2003.

38. Bernard Idson (1995) : Treatment cosmetics : A moving target. DCI. April : 40-44

39. Boonnak N, Karalai C, Chantrapromma S, et al. Bioactive prenylated xanthones and anthraquinones from *Cratoxylum formosum ssp. Pruniflorum*. 2006.

40. Boonsri S, Karalai C, Ponglimanont C, Kanjana-opas A, Chantrapromma K. Antibacterial and cytotoxic xanthones from the roots of *Cratoxylum formosum*. 2006.

41. Chen YT, Lin KW. Effects of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. Food Chemistry 2007;101: [9 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-4JRKWRY-4&_user=1750347&_coverDate=12%2F31%2F2007&_alid=518214730&_rdoc=1&_fmt=full&_orig=search&_cdi=5037&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=2b2c8daff1d4c2baef45aac403c035cc. Accessed December 28, 2006.

42. Chinwangso P. Effect of Crude Extract from Peel and Flesh of Some Vegetables on Antioxidant Activity. Available at: URL: http://www.science.cmu.ac.th/Reg-sci/presentstud/ViewAbstract.asp?QAutoID=237. Accessed December 28, 2006.

43. Chinwangso P. Effect of Crude Extract from Peel and Flesh of Some Vegetables on Antioxidant Activity. Available at: URL: http://www.science.cmu.ac.th/Reg-sci/presentstud/ViewAbstract.asp?QAutoID=237. Accessed December 28, 2006.

44. Daun J, Wang X, Dong Q, Fang J, Li X. Structural features of a pectic arabinogalactan with immunological activity from the leaves of *Diospyros kaki*. 2003.

45. Duerden BI, Reid TMS, Jewsbury JM. Microbial and parasitic infection. London: British Library Cataloguing in Publication Data, 1993: 197.

46. Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. Biochimica et Biophysica Acta - Lipids and Lipid Metabolism 1996;1034: [3 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T1X-3W2XPHV-5&_user=1750347&_coverDate=12%2F13%2F1996&_alid=518216879&_rdoc=27&_fmt=summary&_orig=search&_cdi=4902&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=6eeb06653b464818f238727ed917f963. Accessed December 28, 2006.Hans & Elzbieta Brand (2000) ; Fabulous flavonoids, SPC. Mar : 23

47. Hernandez P, Rodriguez P, Delgado R, Walczak H. Protective effect of *Mangifera indica* L. polyphynols on human T lymphocytes against activation-inducted cell death. 2007.

48. Khan B, Ahmed S, Bani S, et al. Augmentation and proliferation of T lymphocytes and Th-1 cytokine by *Withania somnifera* in stressed mice. 2006.

49. Liazid A, Palma M, Brigui J, Barroso CG. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A 2006;15: [6 screens]. Available at: URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Display&DB=pubmed.. Accessed December 28, 2006.

50. Listerine® PocketPak.[1 screen]. Available at: URL: http://www.pfizer.com.au/Products/ListerinePocketPak/Ingredients.aspx. Accessed January 13, 2007.

51. Liu ZQ, Ma LP, Zhou B, Yang L, Liu ZL. Antioxidative effects of green tea polyphenols on free radical initiated and photosensitized peroxidation of human low density lipoprotein. Chemistry and Physics of Lipids 2000;106: [11 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T2N-40KR3VN-4&_user=1750347&_coverDate=06%2F01%2F2000&_alid=518180842&_rdoc=1&_fmt=full&_orig=search&_cdi=4923&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=3507689b6e0b532ec311a0e2ae4bf523. Accessed December 28, 2006.

52. L Wenhong, YW Catherina, GA Theresa, MH Thomas,LJ Lawrence, M Antonia. Dermination of Phenolic compounds in Dietary Supplements and Tea Blends Containing *Echinacea* by Liquid Chromatography with Coulometric Electrochemical Detection. Journal of AOAC International. 2003 (march) 86(2). Available at: URL: http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijnw/vol1n2/q10.xml. Accessed December 31,2006.

53. Maisuthisakul P, Gordon M, Pongsawatmanit R, Suttajit M. Enhancing oxidative stability of rice snack with ethanolic extracts from *Cratoxylum formasum*. 2006.

54. Maisuthisakul P, Pongsawatmanit R, H.Gordon M. Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). 2005.

55. Mehrotra S, Singh V, Agarwal S, Maurya R, Srimal R. Antilymphoproliferative activity of Ethanolic extract of *Boerhaavia diffusa* roots. 2002.

56. Mongkolsilp S, Pongbupakit I, Sae-Lee N, Sitthithaworn W. Radical scavenging activity and total phenolic content of medicinal plants used in primary health care. SWU J Pharm Sc 2004;9: [4 screens]. Available at: URL: http://pharm.swu.ac.th/psi/content/content9_1.11.47/SWU%20J%20Pharm%20Sci%20Vol%209%20No%201-Pg%2032-35.pdf. Accessed December 28, 2006.

57. Morazzoni P, Cristoni A, Pierro F, et al. In vitro and in vivo immune stimulating effects of a new standardized *Echinacea angustifolia* root extract (Polinecea™). 2005.

58. Morris H, Carrillo O, Almarales A, Bermudez R, Lebeque Y, Fontaine R, Llaurado G, Beltran Y. Immunostimulant activity of an enzymatic protein hydrolysate from green microalga *Cholella valgaris* on undernourished mice. 2007.

59. Palma M, Pineiro Z, Barroso CG. Stability of phenolic compounds during extraction with superheated solvents. Journal of Chromatography A. 2001;921: [6 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TG8-438BMSV-6&_user=1750347&_coverDate=07%2F06%2F2001&_alid=518222197&_rdoc=3&_fmt=full&_orig=search&_cdi=5248&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=5754456a8c2d521942cf331e02491a7a. Accessed December 25, 2006.

60. Phenolic. 2006 ; [1หน้า]. Available at: http://www.axxora.com/files/formula/ALX-270-254.gif. Accessed December 31, 2006.

61. Pinto A, Rego G, Siquera M, et al. Immunosuppressive effects of *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract. 2006.

62. Pintukanon C, Pattarameteewong S, Kongkaneramittra L, Kamkaen N. Determination of antioxidant in phytocosmetic;89: [8 screens]. Available at: URL: http://www.scisoc.or.th/stt/30/sec_h/paper/stt30_H0009.pdf. Accessed December 28, 2006.

63. Pollulan. 2002;[12 screen].Available at: URL: http://www.ncpri.ro/pollulan/en/index.htm. Accessed June 26, 2006.

64. Raymond CR, Paul JS, Paul JW. Handbook of pharmaceutical excipients. 4th ed, 2003.

65. Santosh S, Neela P, Anil T. Coenzyme Q10:A Review of Essential Functions. 1996. Available at: URL:http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijnw/ front. xml. Accessed December 30, 2006.

66. Schwarz E, Parlesak H. Zepelin H, Bode J, Bode C. Effect of oral administration of freshly pressed juice of *Echinacea purpurea* on the number of various subpopulaions of B- and T-lymphocytes in healthy volunteers : Results of a double blind, placebo-controlled cross-over study. 2005.

67. Stevanato R, Fabris S, Momo F. New enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine. J. Agric. Food Chem. 2004;52: [7 screens]. Available at: URL: http://pubs.acs.org/cgi-bin/article.cgi/jafcau/ 2004/52/i20/pdf/ jf049898s.pdf. Accessed December 28, 2006.

68. Talcott ST, Duncan CE, Pozo-Insfran DD, Gorbet DW. Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts. Food Chemistry 2005;89: [8 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-4C47NMR-G&_user=1750347&_coverDate=01%2F31%2F2005&_alid=518215470&_rdoc=1&_fmt=full&_orig=search&_cdi=5037&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=5912bc70fb97d7e0d646b357352da89b. Accessed January 2, 2007.

69. Uawonggul N, Chaveerach A, Thammasirirak S,Arkaravichien T, Chuachan C, Daduang S. Screening of plants acting against *Heterometrus laoticus* scorpion venom activity on fibroblast cell lysis. 2005.

70. Van der sluis AA, Dekker M, Van boekel MAJS. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice 3 stability during storage. J. Agric. Food Chem 2005;53: [8 screens]. Available at: URL: http://pubs.acs.org/cgi-bin/article.cgi/jafcau/2005/53/i04/pdf/ jf040270r.pdf. Accessed January 2, 2007.

71. Weinreb O, Mandel S, Amit T, Youdim MBH. Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Journal of Nutritional Biochemistry 2004;15: [11 screens]. Available at: URL: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T8P-4D8V948-1&_coverDate=09%2F30%2F2004&_alid=514932428&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_qd=1&_cdi=5092&_sort=d&view=c&_acct=C000054434&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1750347&md5=2dc77432569432532eee132b305d4d41. Accessed December 28, 2006.

72. Wikipedia. Ascorbic acid. 2007;[2 screens]. Available at: URL:http://www.en.wikipedia.org/wiki/Ascorbic_acid.htm. Accessed January 5, 2007.

73. Yang L, Siriamornpun S, Suttajit M, Li D. Anti-glycation activity of phenolic compounds from Thai plants. 2006.

74. Yang Z, Chen A, Sun H, Ye Y, Fang W. Ginsenoside Rd elicits Th1 and Th2 immune response to ovalbumin in mice. 2007.

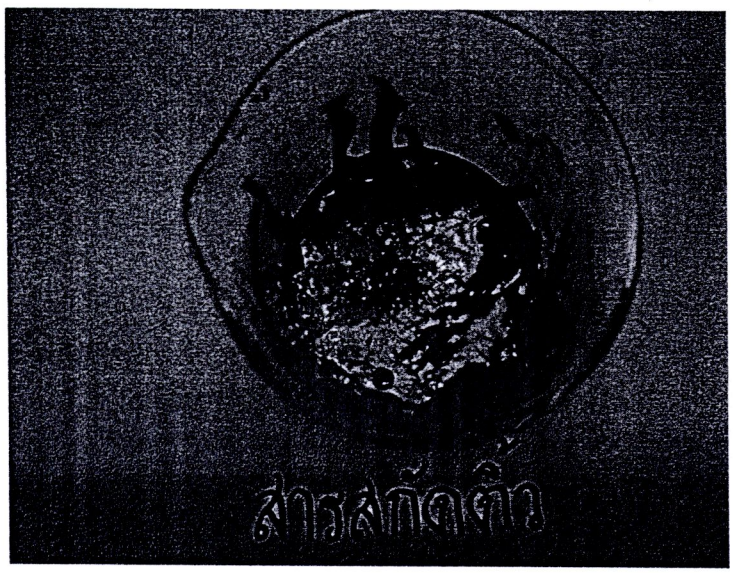
75. Zhou B, Jia ZS, Chen ZH, Yang L, Wu LM, Liu ZL. Synergistic antioxidant effect of green tea polyphenols with α - tocopherol on free radical initiated peroxidation of linoleic acid in micelles. J. Chem. Soc 2000;2: [7 screens]. Available at: URL:http://www.rsc.org/delivery/_ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=a908084h&JournalCode=P2. Accessed December 28, 2006.

ภาคผนวก

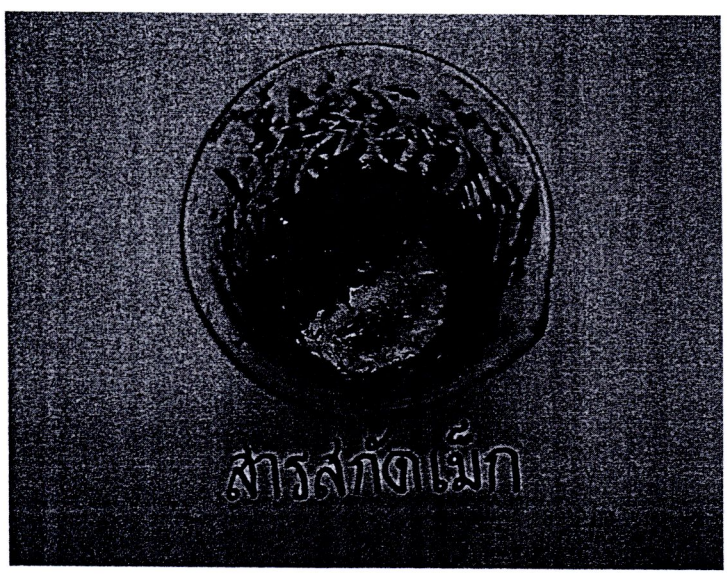
(Appendix)

1. **ตำรับยาเม็ดสมุนไพรต้านออกซิเดชัน**

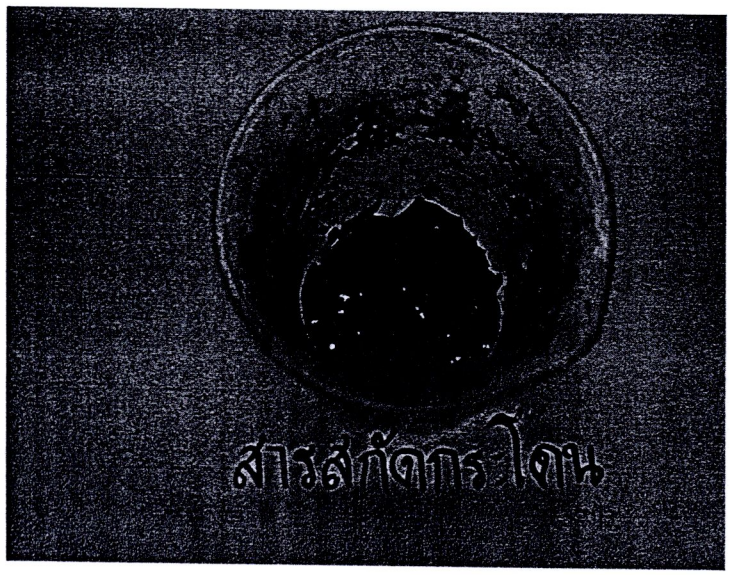
    1.1 การสกัดสารจากผักติ้ว เม็ก และกระโดน



รูปที่ 23 สารสกัดติ้ว

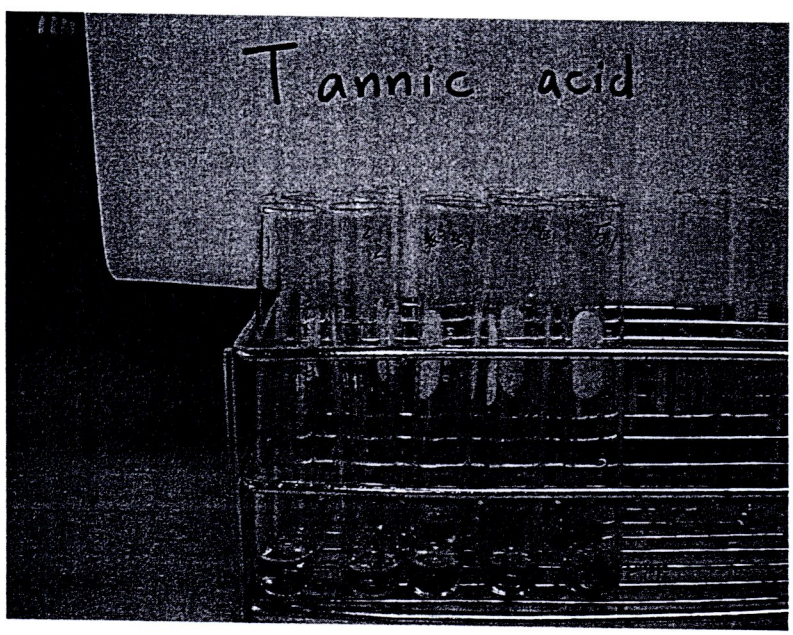


รูปที่ 24 สารสกัดเม็ก

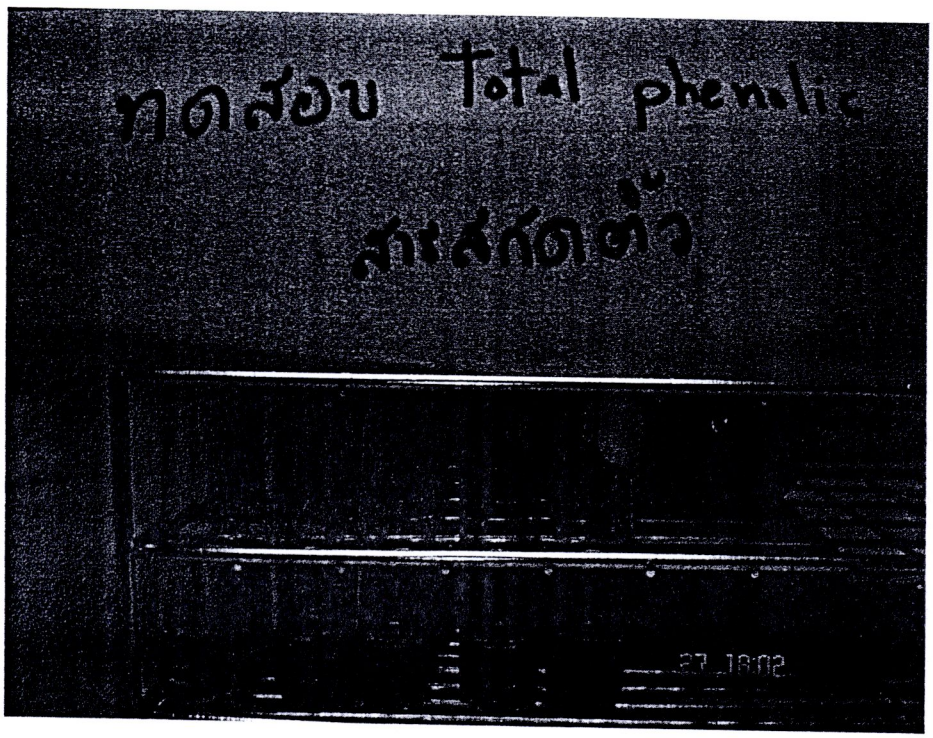


รูปที่ 25 สารสกัดกระโดน

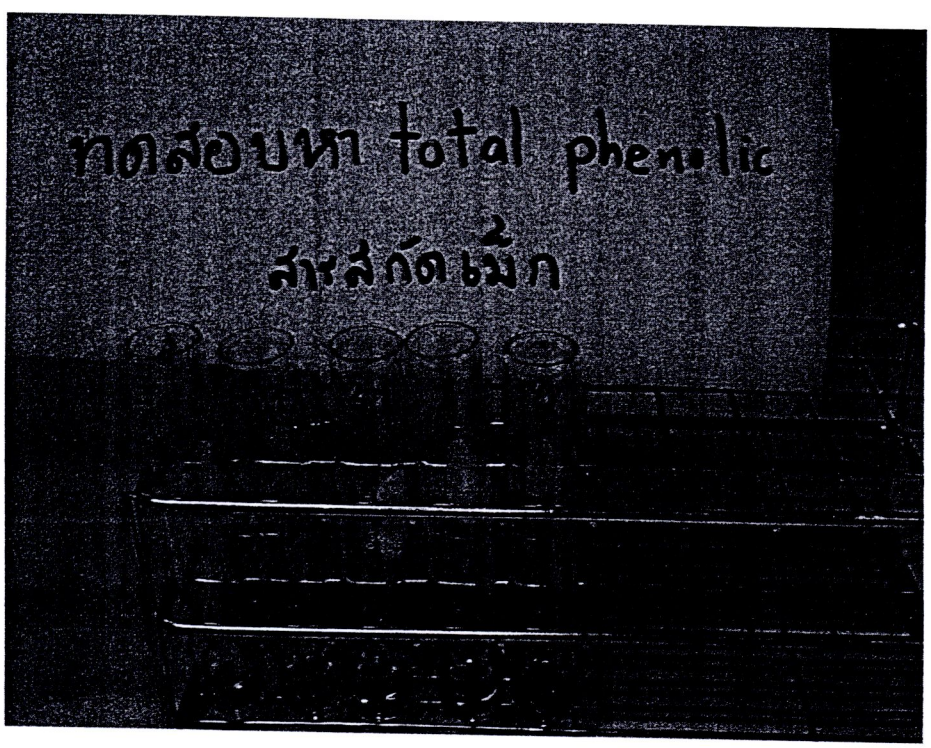
1.2 **การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดติ้ว เม็ก และกระโดน ด้วยวิธี** Folin-Ciocalteu



รูปที่ 26 แสดงสารละลาย tannic acid 0.1 mg/ml เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน



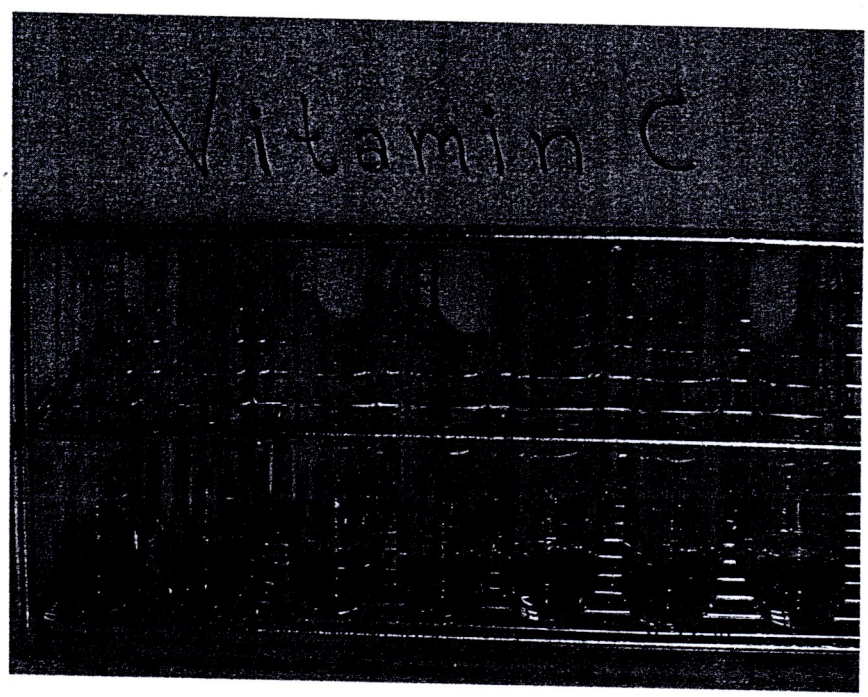
รูปที่ 27 แสดงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดติ้ว (1 mg/ml)



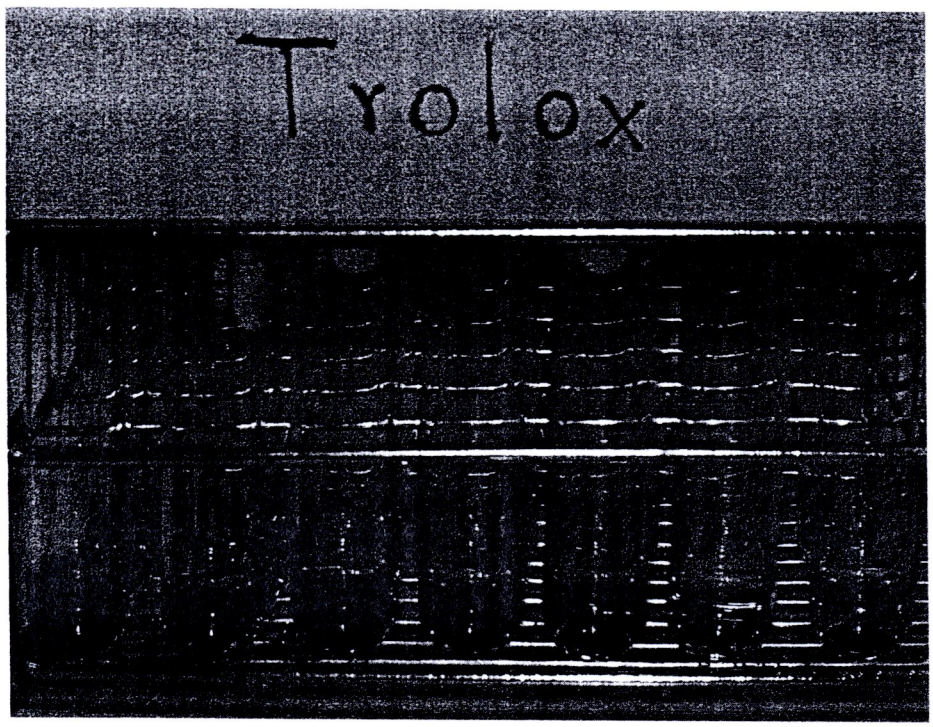
รูปที่ 28 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดเม็ก (5 mg/ml)

รูปที่ 29 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในสารสกัดกระโดน (1 mg/ml)

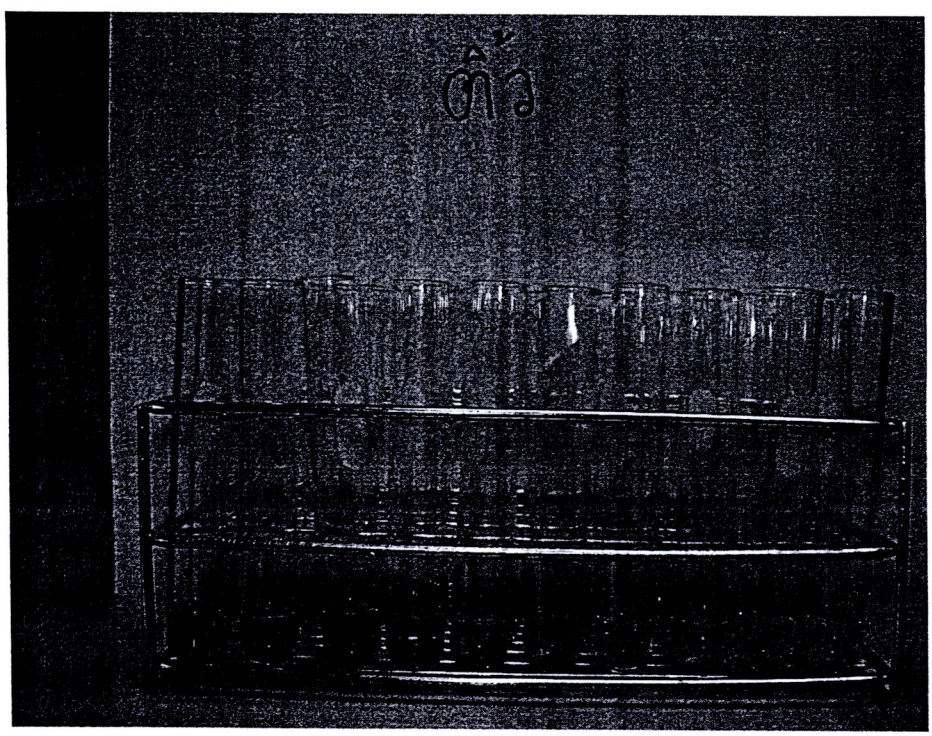
1.3 **การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี** DPPH Radical Scavenging Assay



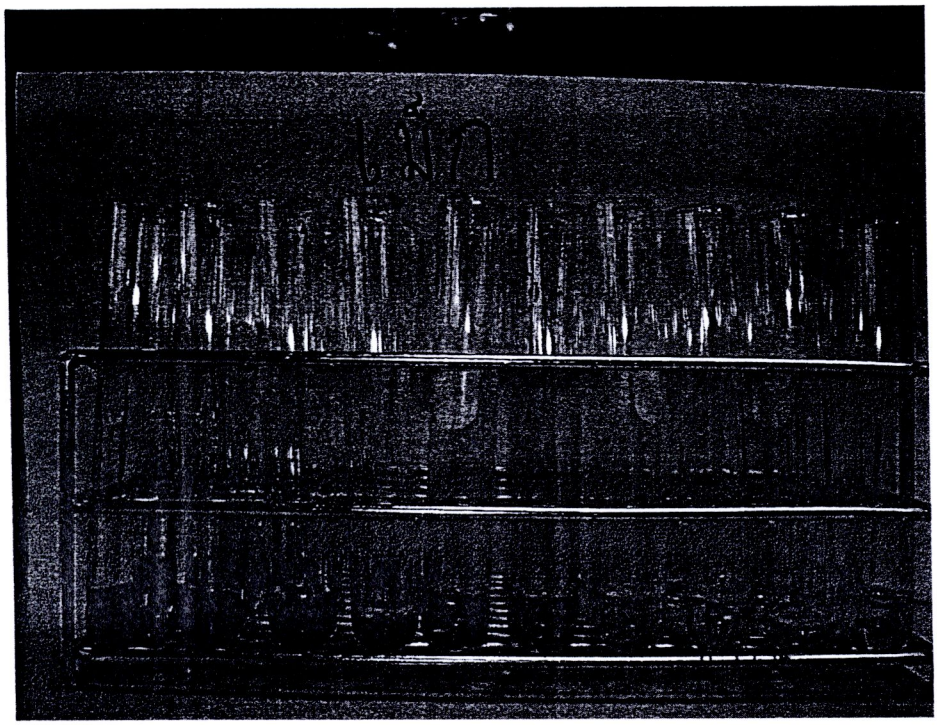
รูปที่ 30 แสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของวิตามินซี (0.1 mg/ml)



รูปที่ 31 แสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ trolox (0.1 mg/ml)



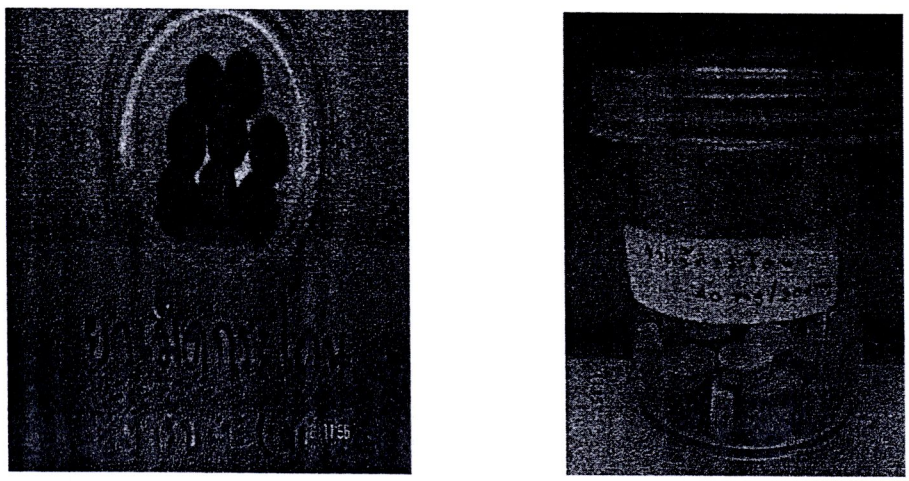
รูปที่ 32 แสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดติ้ว (1 mg/ml)



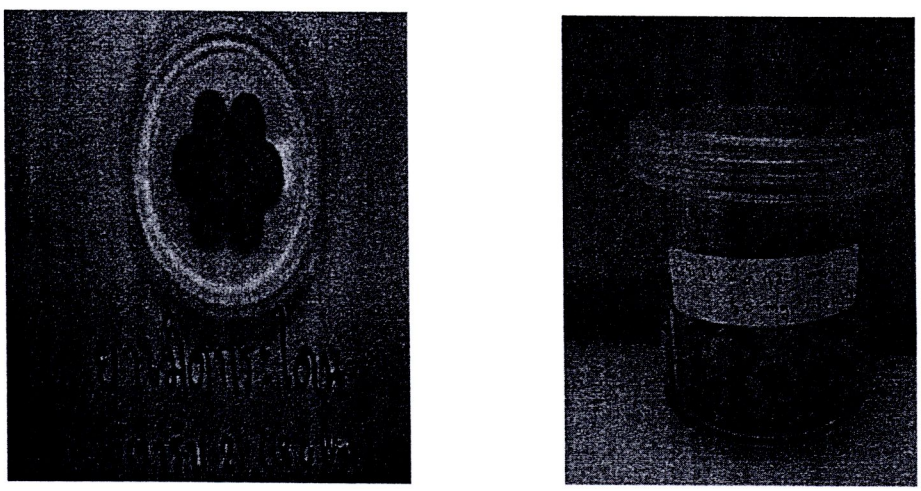
รูปที่ 33 แสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเม็ก (1 mg/ml)

รูปที่ 34 แสดงการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดกระโดน (1 mg/ml)

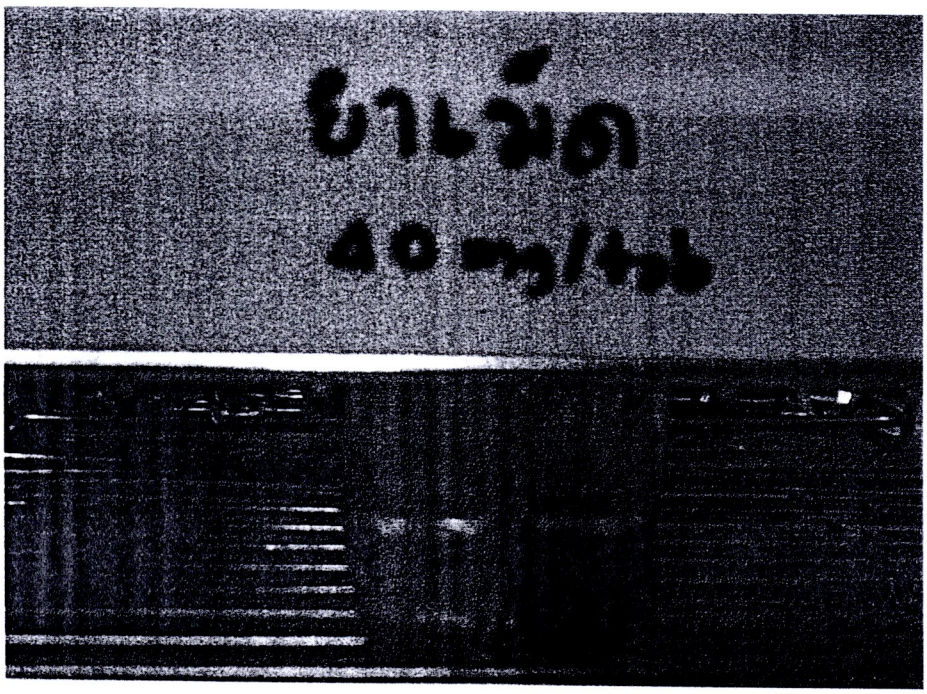
1.4 **ตำรับยาเม็ด**



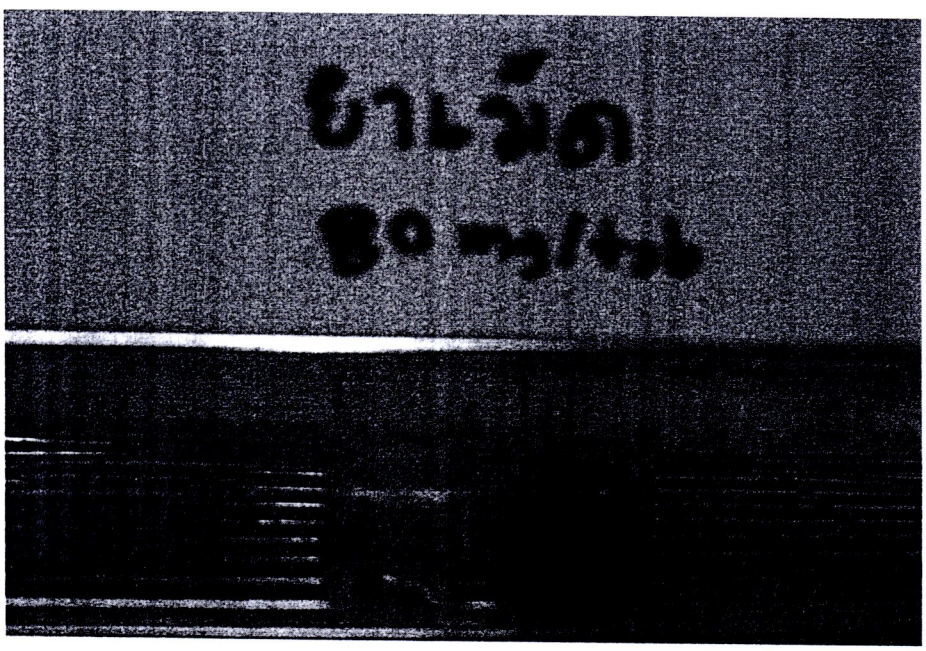
รูปที่ 35 แสดงยาเม็ดตำรับที่ 1



รูปที่ 36 แสดงยาเม็ดตำรับที่ 2

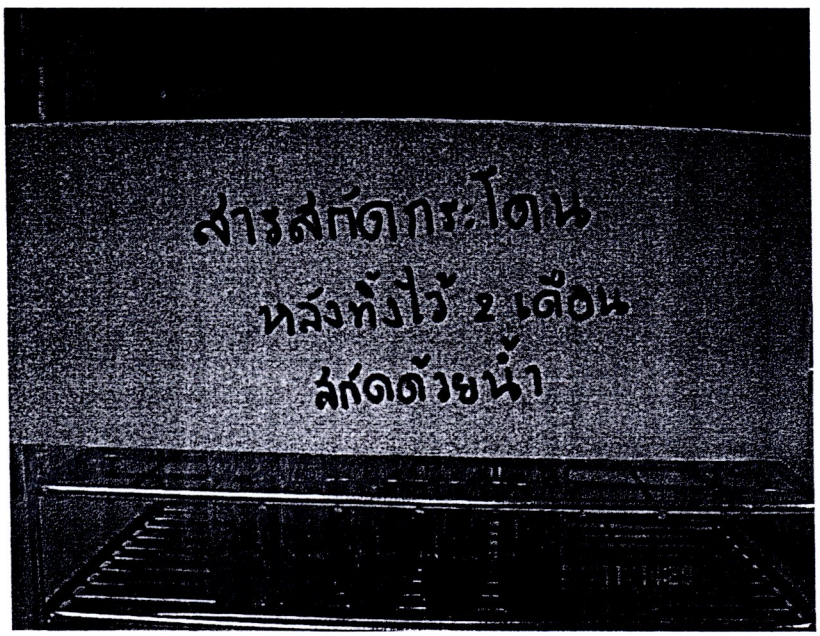


รูปที่ 37 แสดงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในยาเม็ด ตำรับที่ 1

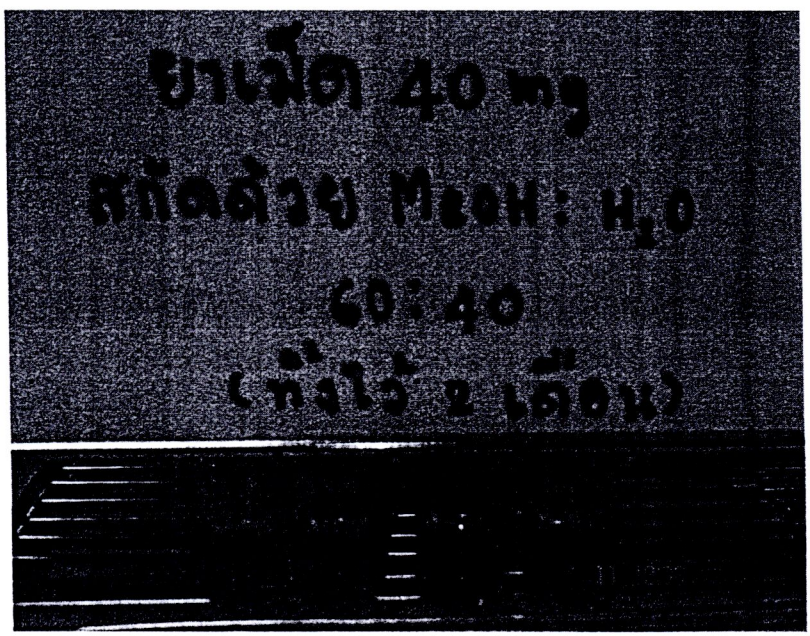


รูปที่ 38 แสดงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในยาเม็ด ตำรับที่ 2

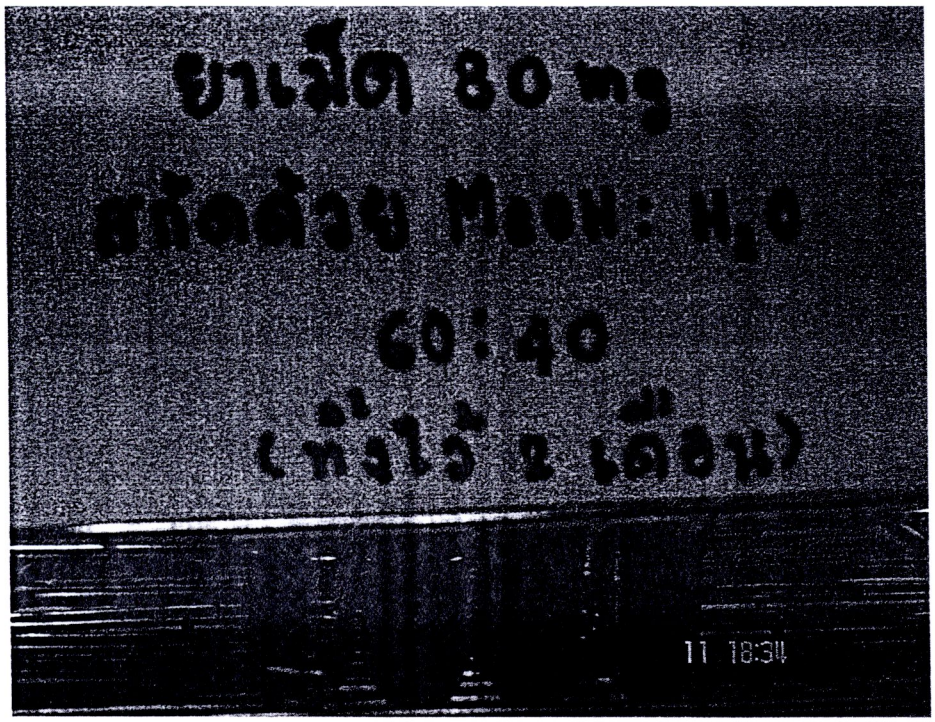
1.5 การทดสอบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดและตำรับยาเม็ด



รูปที่ 39 แสดงการทดสอบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิก
ในสารสกัดกระโดน (1 mg/ml)



รูปที่ 40 แสดงการทดสอบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในยาเม็ดตำรับที่ 1 (5 mg/ml)



รูปที่ 41 แสดงการทดสอบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในยาเม็ดตำรับที่ 2 (5 mg/ml)

2. ตำรับลูกอมสมุนไพรกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

การเตรียมแอลกอฮอล์ 70 % จากแอลกอฮอล์ 95 % ปริมาณ 1000 มล.

$$C_1V_1 = C_1V_1$$

$$95 \times V_1 = 70 \times 1000$$

$$V_1 = 736.8$$

ดังนั้นตวงแอลกอฮอล์ 95 % มา 736.8 มล. แล้วปรับด้วยน้ำให้ครบ 1000 มล.

การคำนวณ % Yield ของสารสกัดสมุนไพร

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{ปริมาณสารสกัดสมุนไพรที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นของสมุนไพร 200 กรัม}}$$

การเตรียม Trypan blue 0.4 %

ชั่ง Trypan blue 0.4 กรัม ลงใน flask

↓

เติม Distilled water 100 มล.

↓

Swirl flask จน Trypan blue ละลายหมด

↓

เก็บในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียม ACK lysing solution 1000 มล.

<u>สารเคมี</u>

1.NH_4Cl	8.29 กรัม
2.KCO_3	1.00 กรัม
3.Na_2EDTA	37.2 กรัม

<u>วิธีเตรียม</u>

ชั่งสารเคมีตามปริมาณที่กำหนด

↓

ละลายด้วย Distilled water ประมาณ 800 มล.

↓

นำไปตั้งบน magnetic stirrer โดยใช้ magnetic bar ช่วยกวนสารให้ละลายเข้ากัน

↓

ปรับ pH ด้วย 1 N HCl ให้ได้ pH ประมาณ 7.2-7.4

↓

เติมน้ำให้ครบ 1000 มล.

↓

กรองใน Laminar air flow โดยใช้กระดาษกรองขนาด 0.22 ไมครอน

↓

เก็บที่อุณหภูมิห้อง

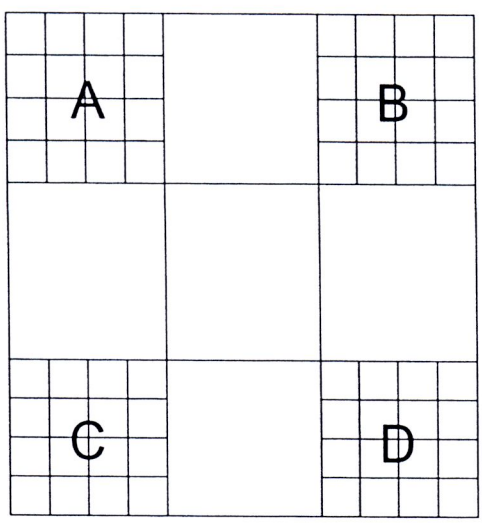
การเตรียม Complete media 500 **มล.**

ใช้ปิเปตดูด FBS 50 มล.

↓

เติม RPMI ให้ได้ประมาณ 500 มล.

การนับเซลล์



การนับเซลล์เม็ดเลือดขาวโดย Hemacytometer นับเฉพาะช่อง A , B , C และ D จากนั้นนำจำนวนที่นับได้ทั้งหมดมาหาร 4 เพื่อทำการเฉลี่ย

<u>สูตรการคำนวณ</u> ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว/มล. = จำนวนเซลล์เฉลี่ย x dilution factor x 10^4

การคำนวณ % viable

$$\% \text{ viable} = \frac{\text{viable} \times 100}{\text{Total}}$$

การเตรียมสมุนไพร

ความเข้มข้น : 800 , 400 , 200 , 100 , 50 , 25 , 12.5 , 0 µg/ml

<u>วิธีเตรียม</u>

ชั่งสมุนไพรแต่ละชนิด ปริมาณ 9.6 มก.

↓

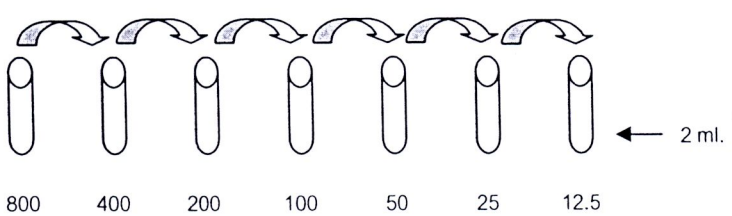
ละลายใน RPMI with FBS 3 มล.

↓

กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน

↓

เจือจางด้วยวิธี 2-fold dilution



ตารางที่ 51 แสดงค่าการเจือจางสารสกัดสมุนไพร

No.	Conc.(µg/ml)	MTT (4x) (50 µl)
1	3,200	800
2	1,600	400
3	800	200
4	400	100
5	200	50
6	100	25
7	50	12.5
8	25	-

การเตรียม PHA Stock Solution

PHA + sterile PBS 10 ml aliquot tube ละ 1 ml เก็บที่ -20 ° C

การเตรียม PWM Stock Solution

PWM 5 mg + sterile PBS 5 ml = conc. 1 mg/ml aliquot tube ละ 0.5 ml เก็บที่ -20 ° C

การเตรียม PHA working Solution

PHA 1 : 100 (4x)

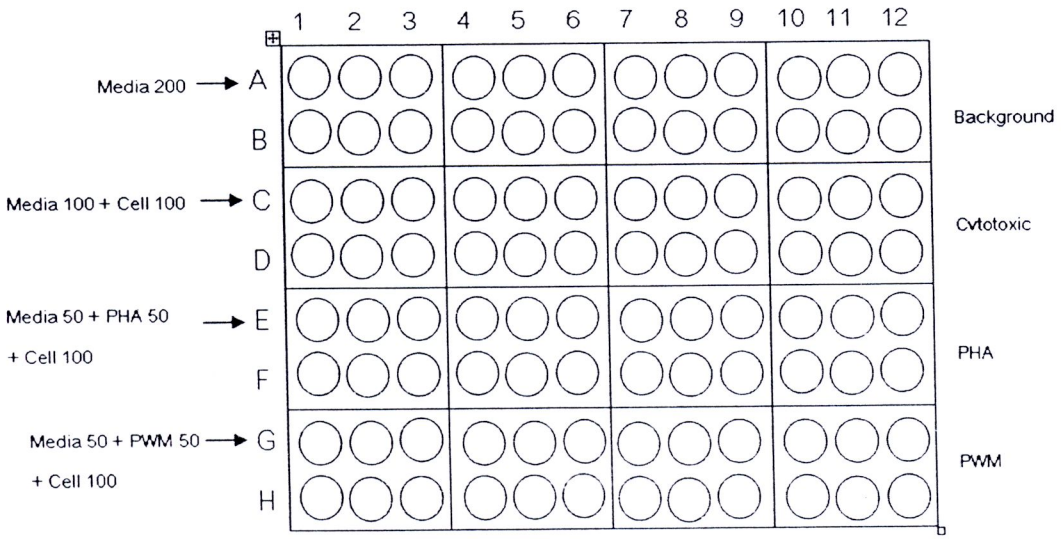
PHA 1 : 25 ⟶ PHA 120 µl + RPMI 2880 µl (2 plates)

การเตรียม PWM working Solution

PWM 1 µg/ml (4x)

PWM 4 µg/ml ⟶ PWM 12 µl + RPMI 2988 µl (2 plates)

การเติมสารลงใน 96 well plates



1.Background : extract 50 + media 50

2.Cytotoxic : extract 50 + media 50 + cell 100

3.PHA : extract 50 + PHA 50 + cell 100

4.PWM : extract 50 + PWM 50 + cell 10

3. **ตำรับแผ่นฟิล์มสมุนไพรเพื่ออนามัยในช่องปาก**

1.การสกัดสมุนไพรเม็ก (ธัญญาพร สุภักดีและคณะ, 2549)

ส่วนที่ใช้ : ใบและยอดอ่อน

วิธีการทดลอง

1. ชั่งผักเม็กที่สับละเอียดแล้ว 200 กรัม หมักใน 70%ethanol 300 ml ใส่ลงใน Erlenmeyer flask แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaking Water Bath เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ป้องกันแสง)
2. เทสารละลายใน flask ออก แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และเก็บสารละลายให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 °C (สารสกัดส่วนที่ 1)
3. หมักอีกครั้งด้วย 70%ethanol 300 ml แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaking Water Bath เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ป้องกันแสง)
4. เทสารละลายใน flask ออก แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และเก็บสารละลายให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 °C (สารสกัดส่วนที่ 2)
5. นำสารสกัดทั้ง 2 ส่วนมารวมกัน แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator โดยตั้งอุณหภูมิไม่เกิน 40 °C ซึ่งจะได้สารสกัดเป็น crude drug
6. เก็บสารสกัดที่ได้ให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 °C

ผลการทดลอง

การใช้ผักเม็ก 200 g จะได้ crude drug ประมาณ 6.38 g

2.ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพเบื้องต้นของสมุนไพรเม็ก (เกศริน เงินหมื่นและคณะ, 2549)

ตารางที่ 52 Inhibition zone ที่พบในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดเม็ก

เชื้อ	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.fecalis*	*E.coli*	*PS.aruginosa*	*S.thyphimurium*	*C.albican*	*A.niger*
เม็ก	++	++	++	-	-	-	-	-
Tetracycline	++	++	++	++	++	++	N	N
Ampicillin	++	++	++	N	N	N	N	N
Amphotercin B	N	N	N	N	N	N	++	++
ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่เกิด clear zone
+ หมายถึง เกิด clear zone แต่ไม่ถึง 7 mm
++ หมายถึง เกิด clear zone เกิน 7 mm
N หมายถึง ไม่ได้วาง disc

ตารางที่ 53 ผลการทดสอบ MIC (mg/ml) ของสมุนไพรเม็ก

เชื้อ	MIC (mg/ml)		
	S. aureus	*B. subtilis*	*S. fecalis*
สมุนไพรเม็ก	2.5	3.33	2.08

3.การคำนวณปริมาณสมุนไพรเม็กลงใน Base film

วิธีการคำนวณ

จาก Teflon plate ขนาด 5 x 8 cm = 40 cm^2 มี Base film น้ำหนักเฉลี่ย 6.5 g

แผ่นฟิล์มขนาด 2 x 3 cm = 6 cm^2 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ $\frac{6 \times 6.5}{40}$ = 0.975 ~ 1 g

ความเข้มข้นของสารละลายเม็กต่อแผ่นฟิล์ม 1 แผ่น = 5 mg/ml

แผ่นฟิล์มน้ำหนัก 1 g มีสารละลายเม็ก 5 mg

แผ่นฟิล์มน้ำหนัก 1 g มีสารละลายเม็ก 5 x 100 = 500 mg/1 แผ่น

4.การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 TSB : Tryptic Soy Broth

วิธีการเตรียม

1. ชั่งผง Tryptic Soy Broth 30 g ละลายในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70-80 °C ปริมาตร 1,000 ml โดยคนตลอดเวลาจนได้สารละลายสีเหลืองใส
2. นำไป Autoclave ที่ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

4.2 TSA : Tryptic Soy Agar

วิธีการเตรียม

1. ชั่งผง Tryptic Soy Broth 30 g และผง Agar 15 g ละลายในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 70-80 °C ปริมาตร 1,000 ml โดยคนตลอดเวลาจนได้สารละลายสีเหลืองใส
2. นำไป Autoclave ที่ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

5.การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อที่ใช้ทดสอบ คือ *S. aureus*, *S. faecalis* และ *B. subtilis*

วิธีการเตรียม

1. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบน Tryptic Soy Agar แล้วเขี่ยเชื้อจากหลาย Colony บน Agar plate ลงใน Tryptic Soy Broth 20 ml
2. นำไปเพาะบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. จากนั้นเจือจางด้วย Tryptic Soy Broth แล้ววัดให้มีความขุ่นเท่ากับ Mc Farland standard No. 0.5 หรือ OD = 0.117 ที่ความยาวคลื่น 580 nm

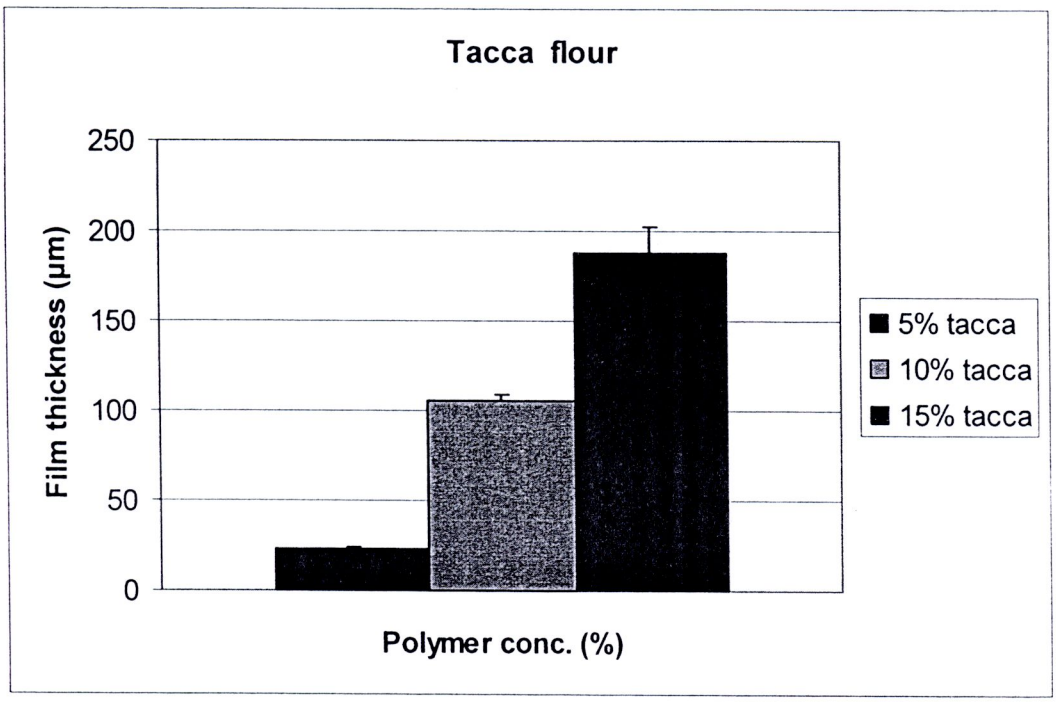
6.ผลการทดลองวัดปริมาตรน้ำลายในปากใน 1 นาที

น้ำหนักผ้าก๊อซก่อนอม = 0.48 g

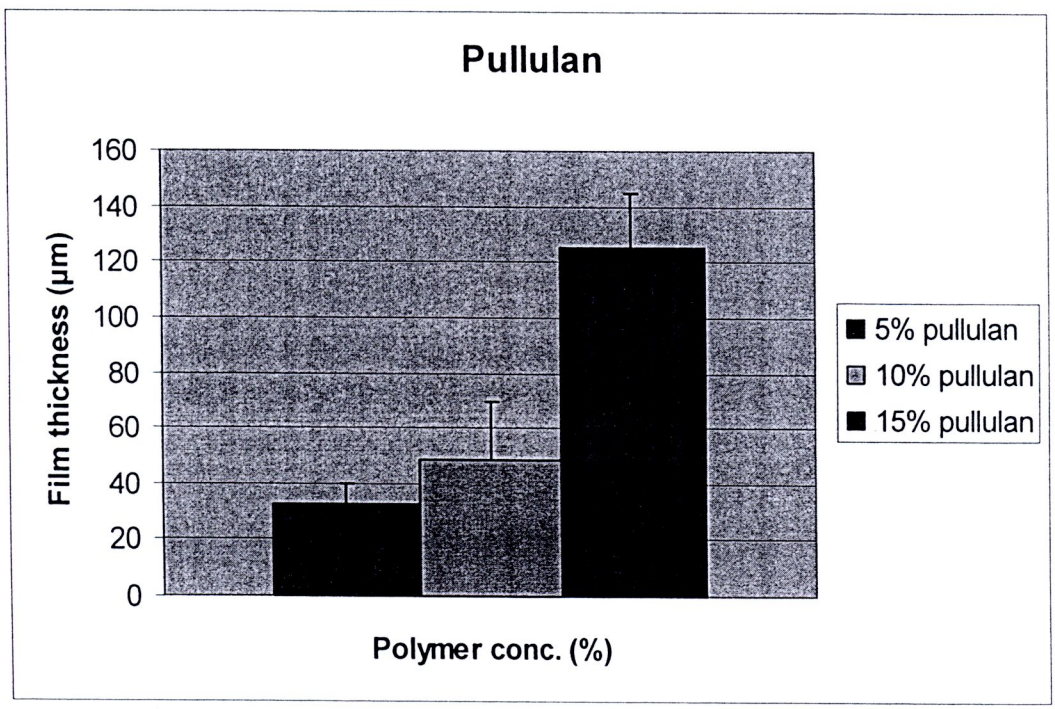
ตารางที่ 54 ผลการทดลองวัดปริมาตรน้ำลายในปาก

อาสาสมัคร	น้ำหนักผ้าก๊อซหลังอม(g)	น้ำหนักน้ำลายในปาก (g/min)
1	0.94	0.46
2	2.29	1.86
3	1.76	1.28
4	0.83	0.35
5	0.86	0.38
6	1.41	0.93
7	0.97	0.49
8	1.49	1.01
9	1.36	0.88
10	1.05	0.57
Mean	-	0.82

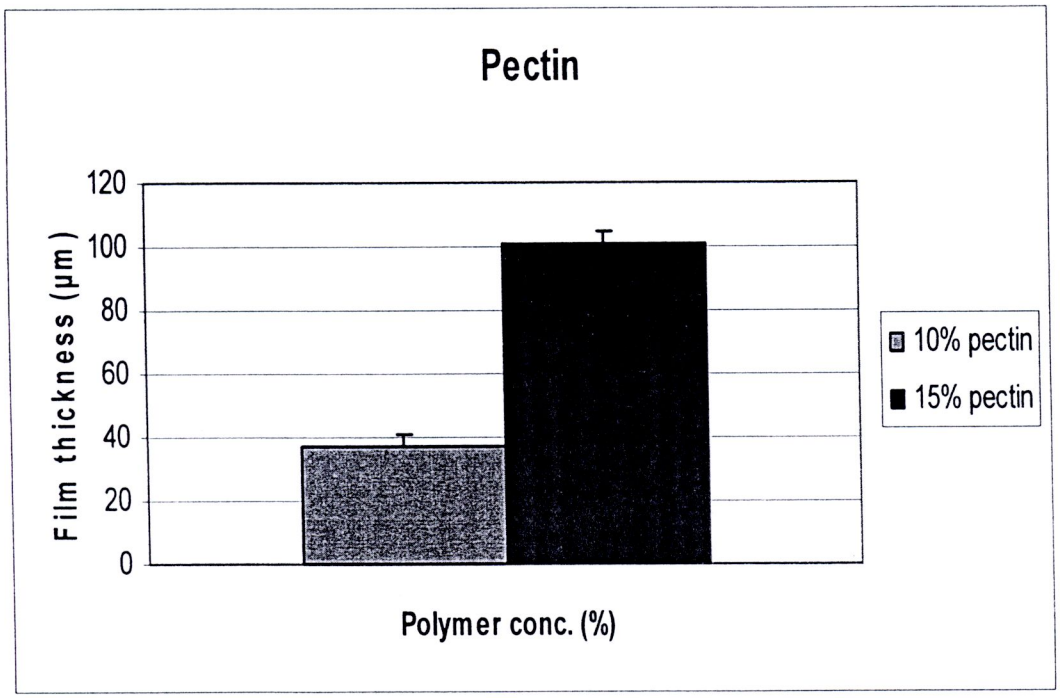
7. กราฟแสดงผลการทดลอง



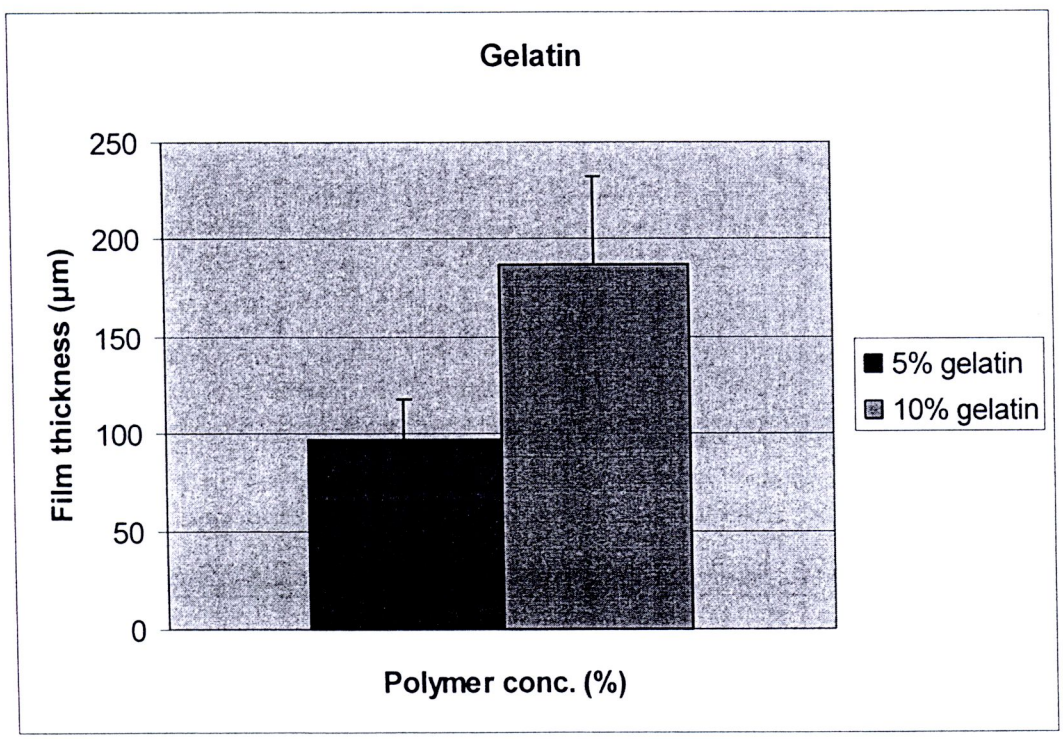
รูปที่ 42 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Tacca flour ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



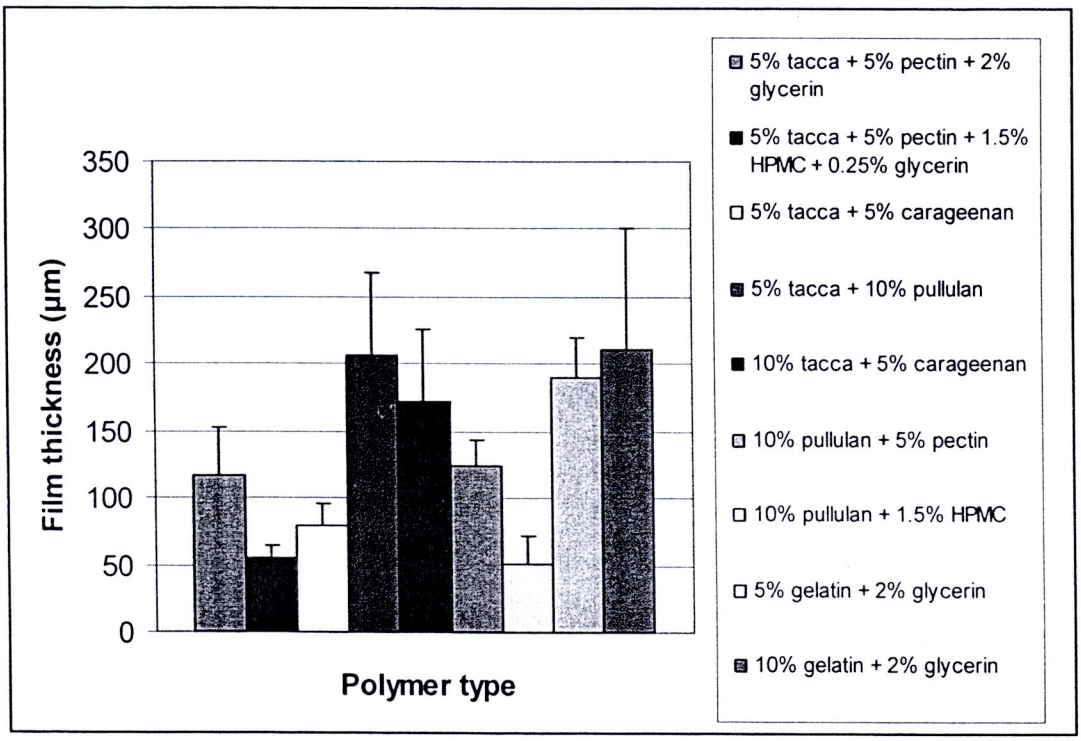
รูปที่ 43 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Pullulan ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



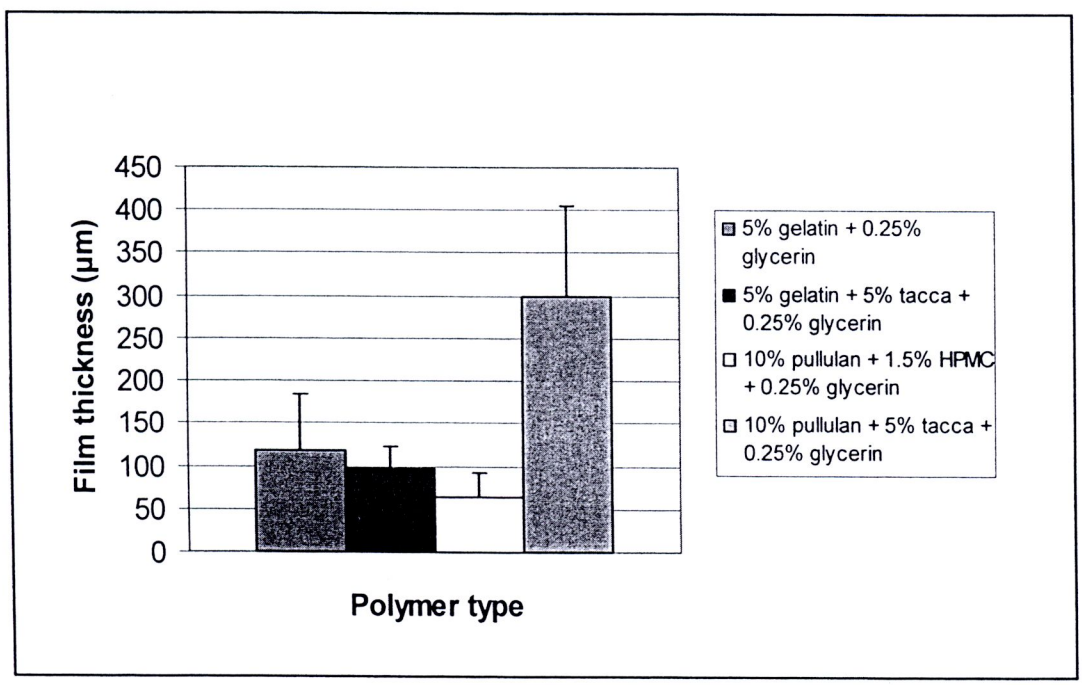
รูปที่ 44 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Pectin ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



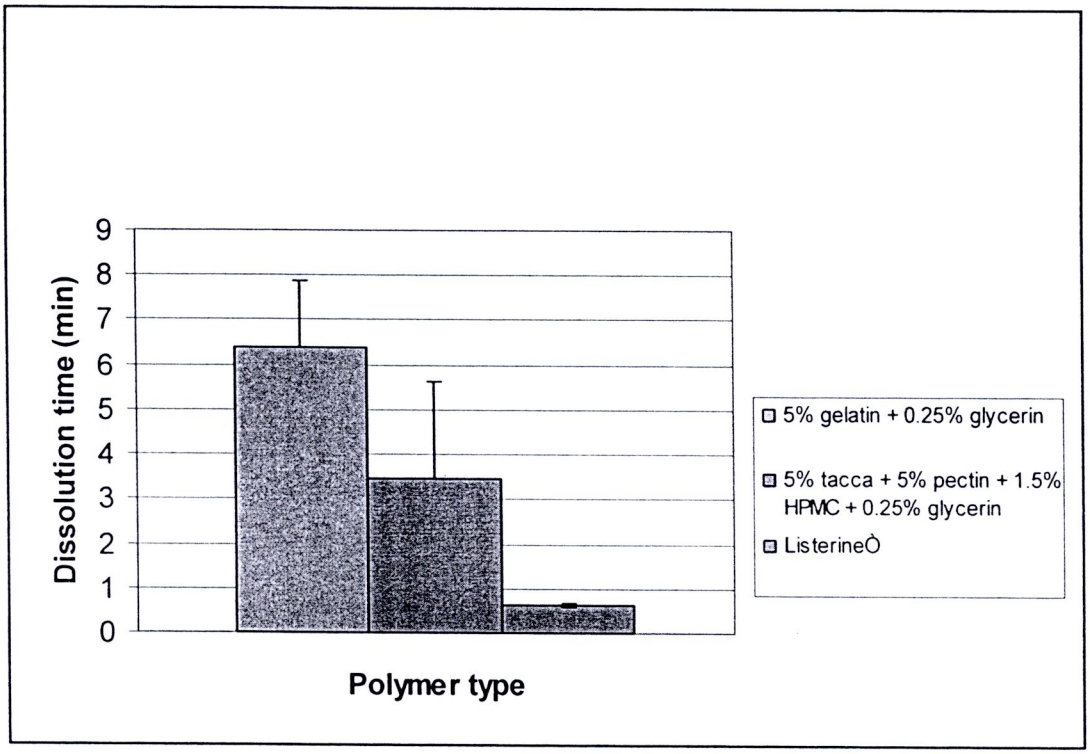
รูปที่ 45 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจาก Gelatin ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



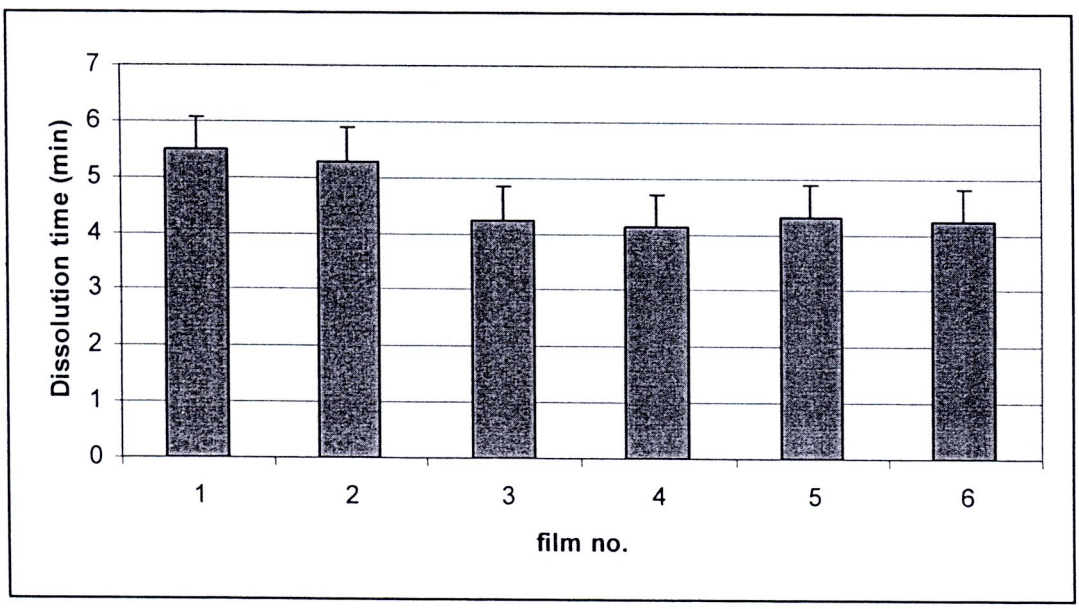
รูปที่ 46 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากพอลิเมอร์ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



รูปที่ 47 กราฟแสดงความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากพอลิเมอร์ความเข้มข้นต่างๆ (n = 5)



รูปที่ 48 กราฟแสดงระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการละลาย Base film (n=4)



รูปที่ 49 กราฟแสดงระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการละลายแผ่นฟิล์ม (n=6)

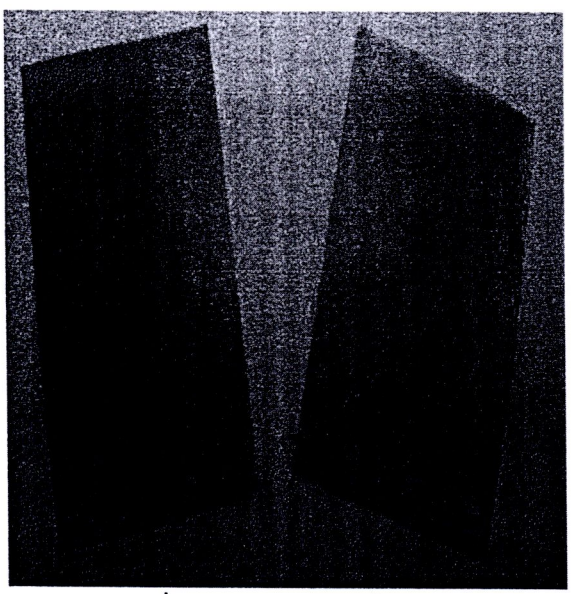
8.ฉลากแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

ส่วนประกอบ : สารสกัดเม็ก, Tacca flour, Pectin, HPMC, Glycerin, Equal®, สารแต่งสีเขียว (50% Green Pea color) และสารแต่งกลิ่นชาเขียว

วิธีใช้ : ดึงแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กออกจากตลับ จากนั้นวางแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กลงบนลิ้นและปล่อยให้ละลาย สามารถใช้แผ่นฟิล์มมากกว่าหนึ่งแผ่นติดต่อกันได้ทันทีเพื่ออนามัยในช่องปาก

คำเตือน : ไม่เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคฟีนิลคีโตนูเรีย (Phenylketonuria)

การเก็บรักษา : เก็บในที่แห้ง อุณหภูมิ 15 – 25 °C และหลีกเหลี่ยงการเก็บในที่ชื้นหรือร้อนจัด



รูปที่ 50 แผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

Original Article

การพัฒนาแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กเพื่ออนามัยในช่องปาก

Development of *Eugenia grata* Extract Film Strip for Oral Hygiene

วันดี รังสีวิจิตรประภา[1*], ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา[2]
Wandee Rungseevijitprapa[1*], Chutinun Prasitpuriprecha[2]

[1]กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190
[2]กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

Received: 8 May, 2007 *Accepted: 20 June, 2007*

Abstract

The purposes of this study were to develop polymeric film strips containing *Eugenia grata* extract with good physical characteristics (optimal thickness, easily peel from teflon plate and optimal fragility, strength, clarity and fast dissolution) and to test the activity of film strip containing *E. grata* against pathogenic bacteria in oral cavity using Disc-diffusion assay. The selected oral film strip consisted of 5% tacca : 5% pectin : 1.5% HPMC : 0.25% glycerin in the proportion of 1:1:1:0.25. The 5 mg/ml (double concentration of Minimum inhibitory concentration, MIC) *E. grata* extracts film strip inhibited *Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis and Bacillus subtilis* with Inhibition zone of 9, 12 and 11 mm, respectively while the commercial film strip inhibited only *B. subtilis*. In conclusion, the film strip with *E. grata* extracts could effectively inhibit microbial growth in oral cavity and should be developed for commercial oral hygienic product.

Key words: Film strip, *Eugenia grata*, oral hygiene, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Bacillus subtilis*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยสารสกัดสมุนไพรเม็กให้มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม คือ มีความหนา ความร่อน ความกรอบ ความแข็ง ความใส และสามารถละลายได้เร็วในช่องปาก เพื่อประเมินประสิทธิภาพแผ่นฟิล์มบรรจุสมุนไพรเม็กในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก ด้วยวิธี Disc-diffusion assay จากผลการทดลองพบว่าแผ่นฟิล์มที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม ประกอบด้วย 5% tacca : 5% pectin : 1.5% HPMC : 0.25% glycerin ในอัตราส่วน 1:1:1:0.25 และเมื่อบรรจุสารสกัดเม็ก 5 mg/ml (2 เท่าของ Minimum inhibitory concentration, MIC) ลงในแผ่นฟิล์ม พบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบได้ 3 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis* และ *Bacillus subtilis* โดยเกิด Inhibition zone เฉลี่ยเท่ากับ 9, 12 และ 11 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่แผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้เพียงชนิดเดียว จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าแผ่นฟิล์มบรรจุสมุนไพรเม็ก มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อในช่องปาก และมีศักยภาพในการพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อรักษาความสะอาดในช่องปากในเชิงพาณิชย์ต่อไป

คำสำคัญ: แผ่นฟิล์ม สมุนไพร เม็ก อนามัยในช่องปาก ฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Staphylococcus aureus Streptococcus faecalis Bacillus subtilis*

[*]ผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้: วันดี รังสีวิจิตรประภา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โทรศัพท์ 045-353625, โทรสาร 045-288384, email: wandeeim@yahoo.com

บทนำ

ปัจจุบัน มีน้ำยาบ้วนปากออกวางจำหน่ายในท้องตลาดหลายชนิด โดยมีการอ้างสรรพคุณต่างๆ โดยเฉพาะการฆ่าเชื้อโรคในช่องปากและลำคอ ขจัดกลิ่นปาก ลดการอักเสบของเหงือก ทำให้ปากหอมสดชื่น และลดฟันผุ น้ำยาบ้วนปากเหล่านี้มักมีส่วนประกอบเป็นแอลกอฮอล์ หรือสารที่มีฤทธิ์กำจัดกลิ่นปาก ยับยั้งการเกิดคราบจุลินทรีย์และหินน้ำลาย ได้แก่ Chorhexidine, Phenolic compound, Alkaloid sanguinarine ซึ่งสารเหล่านี้มีผลข้างเคียงคือ ทำให้เกิดคราบสีน้ำตาลบนเคลือบฟันได้ และอาจจะทำให้ต่อมรับรสของลิ้นเสียไป หรือทำให้มีการหลุดลอกของเนื้อเยื่อในช่องปากได้ทั้งนี้พบว่าผู้ใช้น้ำยาบ้วนปากจะเกิดการอักเสบและมีรอยแผลเฉียบพลันได้ ประมาณร้อยละ 30 (พิทักษ์ ไชยเจริญ, 2550) นอกจากนี้การใช้น้ำยาบ้วนปากยังไม่สะดวกในการพกพา และเมื่อเปิดใช้จำเป็นต้องมีสถานที่ที่เหมาะสม หรือบางครั้งอาจใช้ในสถานการณ์เร่งด่วนได้ลำบาก ปัจจุบันนี้มีผลิตภัณฑ์เพื่อรักษาอนามัยในช่องปากในรูปแบบของแผ่นฟิล์มจำหน่าย สามารถใช้ได้ง่าย ละลายเร็ว และพกพาได้สะดวก แต่ยังมีข้อด้อย คือ ใช้ส่วนประกอบสำคัญเป็นสารเคมี ราคาแพงและมีรสเผ็ด

ในการผลิตแผ่นฟิล์มสำหรับรักษาอนามัยในช่องปากนี้ คุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่เลือกมาทดสอบต้องเป็นชนิดที่ละลายน้ำและสามารถนำมารับประทานได้อย่างปลอดภัย ได้แก่ Tacca flour, Xanthan gum, Gelatin, Pectin, Pullulan, Carrageenan, Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) และ Hydroxyethylcellulose (HEC)

Tacca flour (มัทธนี และคณะ, 2544) มีส่วนประกอบหลักเป็นพอลิแซคคาไรด์ ได้จากแป้งข้าวโพดและแป้งสาลี มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นผลึกที่ประกอบขึ้นด้วย Mannose 27% และ Amylopectin 73% ซึ่งจะไม่ละลายในน้ำเย็น แต่ละลายในน้ำต้มเดือด ซึ่งเมื่อทำให้เย็นลงจะได้เป็นเจลสีขาวขุ่นที่เรียกว่าแป้งเปียก นิยมใช้เป็นสารยึดเกาะในการผลิตยาเม็ด สารช่วยแตกตัวในยาเม็ด หรือเป็นสารก่อฟิล์ม ในอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำมาทำซ่าหริ่ม คุณสมบัติของแป้งนี้จะทำให้เนื้อขนมเนียน เหนียว แข็ง แต่จะใสน้อยกว่าแป้งมัน

Xanthan gum (Raymond et al., 2003) เป็น High molecular weight polysaccharide gum ซึ่งประกอบด้วย D-glucose และ D-mannose เป็น Hexose unit และมี D-glucoronic acid นิยมใช้ในการเตรียมเครื่องสำอาง และอาหาร เป็นสารที่ไม่มีพิษและเข้าได้กับส่วนประกอบในตำรับได้มากมายหลายชนิด มีความคงตัวดี มีความหนืดในช่วง pH และอุณหภูมิที่กว้าง โดยสารละลายของ Xanthan ในน้ำจะคงตัวได้ในช่วง pH 3-12 ที่อุณหภูมิ 10-60 °C

Pullulan (Hayashibara, 2007) เป็น Neutral glucan (คล้ายคลึงกับ Amylase, Dextran, Cellulose) โครงสร้างส่วนใหญ่เป็นคาร์บอน ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ *Aureobasidium pullulans* ภายใน Fermentation conditions โครงสร้าง 10% จะเป็น Maltotetrose และมี a-1,3 Branch linkages เมื่อผ่านกระบวนการ Biosynthesis และ Purification แล้ว Pullulan product จะประกอบด้วย Heteropolysaccharide หรือ Acid polysaccharides ลักษณะเป็นผงสีครีมหรือสีขาว ละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 25 °C ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ สารละลายจะมีความคงตัวและความหนืดต่ำเมื่อเทียบกับ Polysaccharide ตัวอื่นๆ สารละลาย 1% Pullulan มี pH 5-7 ไม่มีพิษ ใช้เป็น Film former ในการเตรียมยาเม็ด และแคปซูล นอกจากนี้ยังใช้กันอย่างแพร่หลายในการเตรียมเครื่องสำอาง โดยจะใช้มากในการเตรียม Hydrating cream และ Gel

สำหรับพอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เช่น Gelatin USP, BP, Pectin, Carrageenan, HPMC และ HEC เป็นพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในทางเภสัชกรรม และมีข้อมูลที่เกี่ยวข้องที่สามารถค้นคว้าจากหลายแหล่ง (มัทธนี และ คณะ 2544, Raymond et al., 2003).

เม็ก *(Eugenia grata)* เป็นผักพื้นบ้านทางภาคอีสานที่น่าสนใจชนิดหนึ่ง ยอดอ่อนของเม็กมีรสเปรี้ยวอมฝาด นิยมใช้รับประทานสดกับอาหารพื้นบ้าน จากการทดลองศึกษาเบื้องต้น (เกศริน และคณะ, 2549) พบว่า สารสกัดจากใบของเม็ก 70% ในเอทธานอล มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ Minimum inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 2.5 mg/ml และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Streptococcus faecalis* ที่ MIC เท่ากับ 2.08 mg/ml นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ MIC เท่ากับ

3.33 mg/ml โดยเชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดแผลในช่องปาก (มาลิน และคณะ, 2538, นงลักษณ์, 2544) ส่วนเชื้อ *S. faecalis* ทำให้เกิดฟันผุ และ *B. subtilis* มักเกิดการติดเชื้อได้ง่ายในผู้ที่อ่อนแอหรือภูมิคุ้มกันบกพร่อง (นงลักษณ์, 2544, Duerden et al., 1993) ในปัจจุบันมีการนำสมุนไพรมาใช้เพื่อทดแทนสารเคมีกันมากขึ้น ดังนั้น ในการวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาแผ่นฟิล์มบรรจุสารสกัดสมุนไพรเม็กที่สามารถละลายได้ในปาก ใช้ง่าย พกพาได้สะดวก และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในช่องปาก ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรในประเทศ ทั้งยังลดการนำเข้าของสารเคมีราคาแพงจากต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาตำรับแผ่นฟิล์มบรรจุสารสกัดสมุนไพรเม็กที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม และประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก

เครื่องมือและอุปกรณ์ :

Teflon plate, ตู้อบ (Termaks® Model TS 8000), Disintegration tester (Erweka® รุ่น ZT52, Germany), เครื่องวัดความหนาแผ่นฟิล์ม (Minitest® 600, Germany)

วัสดุและสารเคมี :

Tacca flour (ตราหอนาฬิกา, เจริญชัย, ไทย), Xanthan gum (Keltrol®,ฟาร์ม่า, ไทย), Gelatin160 Bloom BP (วิทยาศรม, ไทย), Pectin (Pectin Powder 150®, ศรีจันทร์สหโอสถ, ไทย), Pullulan (Hayashibara, ญี่ปุ่น), Carrageenan (วิทยาศรม, ไทย), Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC 4000 BP, เอกตรงเคมีภัณฑ์, ไทย), Hydroxyethylcellulose (HEC) (ฟาร์ม่า,ไทย), Glycerin (Italmar, ไทย), แผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ยี่ห้อ A, สารแต่งสีเขียว (50% Green Pea color), สารแต่งกลิ่นชาเขียว, สารแต่งรสหวาน (Equal®, เมอร์ริชันท์, ไทย), ผักเม็กซื้อจากตลาดสดวารินชำราบ จ.อุบลราชธานี ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2549, Tryptic soy broth (TSB) (MERCK, เยอรมัน), Mueller-hinton agar (MHA) (MERCK, เยอรมัน), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมแผ่นฟิล์มสมุนไพร

1. การเตรียม Base film

การเตรียม Base film โดยทำการเปลี่ยนแปลงชนิดและความเข้มข้นของ พอลิเมอร์ ได้แก่ Tacca flour, Pectin, Pullulan, Gelatin, HPMC และ Xanthan gum ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียม Base film โดยนำสารละลายพอลิเมอร์แต่ละชนิดเทลงใน Teflon plate ขนาด 5x8 cm^2 และโดยเกลี่ยสารละลายให้มีความหนาสม่ำเสมอกัน และอบที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วลอกแผ่นฟิล์มออกจาก Teflon plate บันทึกคุณสมบัติทางกายภาพและความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้ และเก็บแผ่นฟิล์มที่ได้ไว้ภายในตู้ดูดความชื้น

2. การประเมินประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์ม

ทำการประเมินโดย

2.1 วัดความหนาของแผ่นฟิล์มด้วยเครื่องวัดความหนาผิวเคลือบ (MINITEST® 600) เป็นจำนวน 5 ครั้ง ตามตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นฟิล์มในแต่ละแผ่น เนื่องจากแผ่นฟิล์มอาจมีความหนาไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งแผ่น จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

2.2 วัดความร่อน โดยดูจากความสามารถในการลอกออกจาก Teflon plate ได้ง่าย

2.3 วัดอัตราเร็วในการละลายของแผ่นฟิล์มในน้ำ เนื่องจากยังไม่มีวิธีทดสอบที่เป็นมาตรฐาน สำหรับอัตราเร็วในการละลายของแผ่นฟิล์ม การทดลองนี้จึงประยุกต์ใช้เครื่อง Disintegration tester (Erweka® รุ่น ZT52, Germany) ปริมาตร 600 ml ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 37 ± 0.5 °C จากนั้นนำแผ่นฟิล์มที่ต้องการทดสอบ (ขนาด 2x3 cm^2 เท่ากับแผ่นฟิล์มจากท้องตลาด) และแผ่นฟิล์มจากท้องตลาด ใส่ลงใน Basket rack ช่องละ 1 แผ่น และใส่ Disk ลงไปด้วย เพื่อป้องกันการลอยตัวของแผ่นฟิล์ม เริ่มการทำงานของเครื่อง และสังเกตการละลายของแผ่นฟิล์ม บันทึกเวลาที่แผ่นฟิล์มแต่ละแผ่นละลายหมด จากนั้น คำนวณหาค่าเฉลี่ยอัตราเร็วการละลาย (n=5)

3. การเตรียมสารสกัดสมุนไพรเม็ก

ล้างสมุนไพรเม็กจนสะอาด ทำแห้งแล้วบดเป็นผง ชั่งผงพืช 100 กรัม ใส่ลงใน soxhlet apparatus แล้วสกัดด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ที่ 50 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมากรอง และระเหยแห้งด้วย lyophilizer เก็บสารสกัดที่ -20 °C

4. การบรรจุสมุนไพรลงในแผ่นฟิล์ม

บรรจุสารสกัดสมุนไพรเม็กที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายลง Base film ของพอลิเมอร์ โดยใช้ความเข้มข้นของสมุนไพรเม็กเท่ากับ 2 เท่าของ MIC คือ 5 mg/ml (0.025% w/w ของสูตรตำรับ) แต่งกลิ่น และรสจากนั้นเทส่วนผสมที่ได้ลงใน Teflon plate ขนาด 5x8 cm^2 โดยเกลี่ยให้มีความหนาสม่ำเสมอกัน นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลอกแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กออกจาก Teflon plate บันทึกคุณสมบัติทางกายภาพและความหนาของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กที่ได้ เก็บแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กที่ได้ไว้ภายในตู้ดูดความชื้น

ตอนที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

ประเมินประสิทธิภาพของแผ่นฟิล์มสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 3 ชนิด คือ *S. aureus*, *S. faecalis* และ *B. subtilis* โดยวิธี Disc-diffusion assay เทียบกับ Base film, สารสกัดเม็ก และแผ่นฟิล์มระงับกลิ่นปากที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

วิธี Disc-diffusion assay

ใช้สำลีพันก้านไม้ปราศจากเชื้อจุ่มในจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งเพาะเลี้ยงบน TSB นำไปป้ายให้ทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA วาง disc ของสารทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ บ่มที่ 37 °C 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้น ซึ่งต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 7 mm จึงถือว่ามีฤทธิ์ต้านจุลชีพ

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมแผ่นฟิล์มสมุนไพร

1. การเตรียม Base film

ทำการเปลี่ยนแปลงชนิดและความเข้มข้นของ พอลิเมอร์ ได้แก่ Tacca flour, Pectin, Pullulan, Gelatin, HPMC และ Xanthan gum ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียม Base film ซึ่งมีความหนาของแผ่นฟิล์มและคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากพอลิเมอร์ความเข้มข้นต่างๆ (n=5)

ชนิดของพอลิเมอร์	ความเข้มข้น (% w/w)	ลักษณะแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้			
		ความหนาเฉลี่ย (μm)	ความกรอบ	ความแข็ง	ความใส
Tacca flour	5	22.8 ± 2.17	++	+++	ขุ่น
	10	105.8 ± 3.35	++++	++++	ขุ่น
	15	187.6 ± 10.99	+++++	+++++	ขุ่น
Pectin	10	37.2 ± 3.42	+	+	ใส
	15	101.4 ± 3.21	+	++	ใส
Pullulan	5	32.4 ± 7.44	+++	+++	ใส
	10	48.6 ± 1.17	++++	+++++	ใส
	15	125.4 ± 9.23	+++++	+++++	ใส
Gelatin	5	96.6 ± 2.47	++	+++	ใส
	10	187.0 ± 5.88	+	++++	ใส
HPMC	2	12.0 ± 1.22	0	0	ใส
Xanthan gum	1.67	49.2 ± 1.17	+++	++++	ใส

หมายเหตุ: +++++ มากที่สุด, ++++ มาก, +++ ปานกลาง, ++ น้อย, + น้อยมาก, 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

จากตารางที่ 1 พบว่า ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้แผ่นฟิล์มมีความหนาเพิ่มมากขึ้น และพอลิเมอร์แต่ละชนิดยังให้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะทางกายภาพที่ต่างกัน โดยพบว่า Tacca flour เป็นพอลิเมอร์เพียงชนิดเดียวที่ให้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะค่อนข้างขุ่นและมีความกรอบมาก Pullulan จะให้แผ่นฟิล์มใสมีความกรอบและมีความแข็งมาก ส่วน Gelatin, Pectin และ HPMC จะให้แผ่นฟิล์มที่มีความยืดหยุ่น และมีความกรอบน้อยหรือไม่มีเลย Xanthan gum จะทำให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะใส มีความกรอบมากและแตกง่าย ส่วน Carrageenan พบว่า หากใช้เดี่ยวๆ ในความเข้มข้น 2-5% จะเป็นเจลหนืด ไม่สามารถแผ่กระจายเป็นฟิล์มได้ ในการพัฒนา Base film จึงนำพอลิเมอร์ที่ทำให้แผ่นฟิล์มกรอบมาผสมกับพอลิเมอร์ที่ทำให้แผ่นฟิล์มที่มีความยืดหยุ่นที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อให้ได้สูตรตำรับ Base film ที่เหมาะสม

2. การพัฒนา Base film

เลือกความเข้มข้นพอลิเมอร์เดี่ยวๆ ที่เหมาะสมตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปมาผสมกัน โดยทำการเปลี่ยนแปลงทั้งชนิดและความเข้มข้น เพื่อพัฒนาสูตรตำรับได้ Base film ที่เหมาะสม พบว่า Base film มีความหนาและคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความหนาและลักษณะของแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากพอลิเมอร์ผสม (n=5)

สูตรตำรับ	พอลิเมอร์ผสมที่ใช้	ลักษณะของแผ่นฟิล์ม			
		ความหนาเฉลี่ย (μm)	ความกรอบ	ความแข็ง	ความใส
1	5% Tacca flour + 5% Pectin	93.8 ± 4.29	++	++	ใส
2	5% Tacca flour + 1.67% Xanthan gum	94.4 ± 5.36	+++	+++	ใส
3	5% Tacca flour + 5% Gelatin	98.4 ± 5.85	+++	+++	ใส
4	5% Tacca flour + 10% Gelatin	145.6 ± 10.47	++	++++	ใส
5	10% Tacca flour + 1.67% Xanthan gum	73.4 ± 6.56	+++++	+++	ใส
6	10% Tacca flour + 5% Pectin	102.2 ± 4.82	+++	+++	ใส
7	5% Tacca flour + 5% Pectin + 2% Glycerin	117.2 ± 5.39	++	++	ใส
8	5% Tacca flour + 5% Pectin + 1.5% HPMC + 0.25% Glycerin	55.0 ± 5.67	+++	++	ใส
9	5% Tacca flour + 5% Carrageenan	79.2 ± 5.79	++++	++++	ขุ่น
10	5% Tacca flour + 10% Pullulan	205.8 ± 11.52	+++	++++	ใส
11	5% Gelatin + 2% Glycerin	189.6 ± 20.64	++	+	ใส
12	10% Gelatin + 2% Glycerin	210.6 ± 20.49	++	+++	ใส
13	10% Tacca flour + 5% Carrageenan	172.0 ± 4.37	+++++	+++++	ขุ่น
14	10% Pullulan + 5% Pectin	124 ± 9.51	+++	++++	ใส
15	10% Pullulan + 1.5% HPMC	50.6 ± 11.87	++++	++++	ใส
16	5% Gelatin + 0.25% Glycerin	118.8 ± 15.81	+++	+++	ใส
17	5% Gelatin + 5% Tacca flour + 0.25% Glycerin	96.8 ± 15.17	++++	++	ขุ่น
18	10% Pullulan + 1.5% HPMC + 0.25% Glycerin	64 ± 8.50	++++	+++	ใส
19	10% Pullulan + 5% Tacca flour + 0.25% Glycerin	298.8 ± 10.21	+++++	+++++	ขุ่น

หมายเหตุ: +++++ มากที่สุด, ++++ มาก, +++ ปานกลาง, ++ น้อย, + น้อยมาก, 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

จากตารางที่ 2 พบว่า แผ่นฟิล์มที่เตรียมจากสูตรที่ 1-6 ยังมีลักษณะทางกายภาพไม่เหมาะสม จึงมีการพัฒนาสูตรแผ่นฟิล์ม โดยเติม Glycerin, HPMC, Pullulan และ Carrageenan ลงในตำรับ Base film สูตรที่ 7-15 พบว่า คุณสมบัติทางกายภาพของแผ่นฟิล์มจากพอลิเมอร์ทุกสูตรมีความร่อนดี โดยสูตรที่ 8 ให้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะดีที่สุด คือ มีลักษณะทางกายภาพที่ร่อนออกได้ง่าย มีความกรอบปานกลาง และมีความแข็งน้อย เนื่องจากการเติม Glycerin ที่มีคุณสมบัติเป็น plasticizer ลงไป ซึ่งช่วยให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะที่ยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงทดลองเติม Glycerin ลงในตำรับที่ 16-19 จึงพบว่า สูตรที่ 16 ให้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดีคือ ร่อนออกได้ง่าย มีความกรอบและความแข็งปานกลาง และแผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะใส

3. การประเมินอัตราเร็วการละลายของแผ่นฟิล์มในน้ำ

เลือก Base film สูตรที่ 8 และ 16 มาทดสอบการละลาย โดยใช้เครื่อง Disintegration tester เพื่อเลือก Base film ที่ละลายได้เร็ว ซึ่งแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ตำรับใช้เวลาในการละลายดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความหนาของแผ่นฟิล์มและระยะเวลาที่ใช้ในการละลายแผ่นฟิล์ม (n=5)

สูตรที่	ความหนาของแผ่นฟิล์ม (μm)	เวลาในการละลาย (min)
8	2.4 ± 0.67	1.45
16	33.2 ± 3.11	4.50
แผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาด	29.4 ± 0.55	0.58

จากตารางที่ 3 พบว่า สูตรตำรับที่ 8 มีอัตราเร็วในการละลายดีและใกล้เคียงกับแผ่นฟิล์มจากท้องตลาดมากที่สุด ดังนั้น จึงเลือกสูตรนี้มาพัฒนาต่อ เนื่องจากให้ Base film ที่มีลักษณะเหมาะสม คือ สารละลายพอลิเมอร์สามารถเกลี่ยให้แผ่กระจายบนกระดาษ Teflon ได้ง่าย ให้ฟิล์มใส ที่มีลักษณะบาง สามารถแต่งสีได้ง่าย ทำให้น่ารับประทาน ร่อนง่าย สามารถลอกออกจากกระดาษ Teflon ได้ง่าย มีความกรอบปานกลาง และความแข็งมีน้อย ทำให้ไม่แตกหักในระหว่างการบรรจุและการเก็บ นอกจากนี้ยังสามารถละลายในน้ำได้เร็วกว่าสูตรอื่นๆ และมีความใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาดมากที่สุด จึงนำสูตรพอลิเมอร์ที่ 8 มาบรรจุสารสกัดสมุนไพรเม็ก พบว่าได้แผ่นฟิล์มที่มีรสชาติอมเปรี้ยวจากสมุนไพรเม็ก และมีสีเขียวโปร่งแสง จากนั้นใช้สารแต่งสีและกลิ่นเพื่อทำให้น่ารับประทาน

ตอนที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก โดยใช้วิธี Disc-diffusion assay เพื่อประเมินฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. faecalis* และ *B. subtilis* ได้เช่นเดียวกับสมุนไพรเม็ก โดยใช้สารสกัดเม็กเป็น Positive control และใช้ Base film ที่ยังไม่เติมสมุนไพรเป็น Negative control นอกจากนี้ยังนำแผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบด้วย ซึ่งให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความกว้างของบริเวณใส (mm) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก (n=3)

สาร	ความกว้างของบริเวณใส (mm)		
	S. aureus	*S. faecalis*	*B. subtilis*
แผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาด	-	-	9.0±1.0
Base film	-	-	-
สารสกัดเม็ก	8.0±0.0	9.0±1.5	9.0±0.0
แผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก	9.0±1.6	11.0±1.6	10.0±0.6

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่มีบริเวณใสเกิดขึ้น

จากตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดเม็กและแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. faecalis* และ *B. subtilis* ได้ไม่แตกต่างกัน ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* เพียงชนิดเดียว และ Base film ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเตรียมแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

จากการทดลองเปลี่ยนแปลงชนิดและความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันมาเตรียมเป็น Base film พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ทำให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีความหนามากขึ้น และพอลิเมอร์แต่ละชนิดจะให้ฟิล์มที่มีลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน โดย Tacca flour จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะค่อนข้างขุ่น Pectin และ Gelatin ให้แผ่นฟิล์มใสสีเหลืองอ่อน ส่วนพอลิเมอร์ Pullulan, HPMC และ Xanthan gum ให้แผ่นฟิล์มใสไม่มีสี นอกจากนี้ ยังสามารถจัดชนิดของพอลิเมอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก คือ Tacca flour, Pullulan, และ Xanthan gum เป็นพอลิเมอร์ที่ให้ฟิล์มกรอบและแข็ง และพอลิเมอร์กลุ่มที่ 2 คือ Gelatin, Pectin, HPMC และ HEC จะให้พอลิเมอร์ที่มีความยืดหยุ่นสูง ทั้งนี้ สามารถพัฒนาลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มได้ โดยการนำพอลิเมอร์ต่างชนิดกันมาผสมกัน นอกจากนี้ การเติม Plasticizer เช่น Glycerin ยังช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับพอลิเมอร์ในกลุ่มที่มีความกรอบและความแข็งมากได้

Base film ที่มีลักษณะดีที่สุด คือ 5% Tacca flour + 5% Pectin + 1.5% HPMC + 0.25% Glycerin ที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1:0.25 โดยน้ำหนัก จากนั้นจึงนำสารสกัดเม็กที่ความเข้มข้น 5 mg/ml (0.025% w/w ของสูตร) มาบรรจุลงใน Base film ที่คัดเลือกซึ่งพบว่า แผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กมีลักษณะทางกายภาพที่ค่อนข้างดี คือ มีความร่อนง่าย กรอบปานกลาง แข็งน้อย ความหนาที่ค่อนข้างเหมาะสม มีสีเขียวโปร่งใส สามารถละลายน้ำได้ดี

2. ผลการประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็ก

จากการทดลองนำแผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. faecalis* และ *B. subtilis* ด้วยวิธี Disc-diffusion assay โดยใช้สารสกัดเม็กเป็น Positive control และใช้ Base film ที่ยังไม่เติมสมุนไพรเป็น Negative control และใช้แผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่า แผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. faecalis* และ *B. subtilis* ได้เช่นเดียวกับสารสกัดเม็ก ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* เพียงชนิดเดียว และ Base film ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ

สรุปผลการทดลอง

Base film ที่มีลักษณะดีที่สุด คือ สูตรที่ 8 (5% Tacca flour + 5% Pectin + 1.5% HPMC + 0.25% Glycerin) ที่ผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1:0.25 โดยน้ำหนักซึ่งเมื่อนำไปผสมกับสารสกัดเม็ก (0.025% w/w ของสูตรตำรับ) พบว่า แผ่นฟิล์มสมุนไพรเม็กมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคในช่องปากได้ แสดงให้เห็นว่า แผ่นฟิล์มผสมสารสกัดสมุนไพรเม็กมีศักยภาพเป็นผลิตภัณฑ์เพื่ออนามัยในช่องปาก ในเชิงพาณิชย์ต่อไป ทั้งนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของความคงตัวของแผ่นฟิล์มและสมุนไพร เมื่อเก็บในระยะยาว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยวิจัย จิรัฐติกาล ทองเลิศ จิราภา สถิระพจน์ และชมพูนุช มีศิริ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เกศริน เงินหมื่น, ธัญลักษณ์ พินิจเชื้อ, พรพิมล พรมทอง. 2549. การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของผักพื้นบ้านและ สมุนไพรบางชนิด. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 52 หน้า

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร, Nobel Print. 400 หน้า

พิทักษ์ ไชยเจริญ มหาวิทยาลัยมหิดล. น้ำยาบ้วนปาก. http://www.clinicneo.co.th/detailcolumn.php?grp=6&&col_id=232. Accessed April 18, 2007.

มัทธนี อนันตพงษ์, อัญชลี ชุติไพจิตร. 2544 แผ่นฟิล์มระงับกลิ่นปากชนิดละลายเร็ว. กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 35 หน้า

มาลิน จุลศิริ, รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, อรุณี สาระยา และคณะ. 2538. สารสกัดละลายน้ำต้านจุลชีพจากเปลือกผลทับทิม: องค์ประกอบในน้ำยาบ้วนปากฆ่าเชื้อ. *วารสารเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล*; 22(4):150-9.

Duerden BI, Reid TMS, Jewsbury JM. 1993. Microbial and parasitic infection. London, British Library Cataloguing in Publication Data. pp 197.

Hayashibara. A natural innovative polysaccharide from Hayashibara. http://www.hayashibara-intl.com/pdfs/Pullulan%20Food%20Web.pdf. Accessed June 26, 2007.

Raymond CR, Paul JS, Paul JW. 2003 Handbook of pharmaceutical excipients. 4th ed, 2003. 776pp.