

การพัฒนาเม็ดสารสกัดใบเตยเพื่อใช้ย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้น

กิตติโชติ วรโชติกำจร*, สิทธิศาสตร์ รัตนรัตน์, อนวัตร ลีลาสุธานนท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

*ผู้รับผิดชอบบทความ: kittichote.w@psu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาเม็ดกลมที่ใช้ย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นจากสารสกัดใบเตย โดยทำการสกัดใบเตยด้วยน้ำและไม่ใช้ความร้อน ทำให้แห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็งจะได้ผงแห้งสารสกัดใบเตยสีเขียวสด เม็ดสารสกัดใบเตยที่ประกอบด้วยสารสกัดใบเตยและสารก่อเม็ดกลมชนิดต่าง ๆ จะถูกเตรียมขึ้นโดยวิธี extrusion-spheronization สูตรเม็ดกลมที่เหมาะสมจะเลือกจากความกลมและความสามารถในการย้อมติดสีพื้น จากนั้นนำไปประเมินการแตกกระจายตัว ความกร่อน รวมทั้งศึกษาเคมีกายภาพของเม็ดกลมเมื่อเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ผลการศึกษาพบว่า ชนิดของสารก่อเม็ดกลมมีผลต่อค่าความกลมและความสามารถในการย้อมติดสีพื้น สารช่วยติดสีก็มีผลต่อความสามารถในการย้อมติดสีพื้นของเม็ดสารสกัดใบเตย เม็ดกลมที่ประกอบด้วยสารสกัดใบเตย 15% ส่วนผสมของ Avicel RC-591 และ Avicel PH 101 ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 และ อะลัม 10% เป็นเม็ดกลมที่ดีที่สุด เม็ดกลมที่ได้ แยกตัวได้ง่าย มีค่าความกร่อนน้อยกว่า 1% เมื่อเก็บไว้ 1 เดือน ลักษณะทางกายภาพของเม็ดกลมไม่มีการเปลี่ยนแปลงและยังมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่า 90% การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบเตยในรูปเม็ดกลมสามารถนำมาพัฒนาเป็นสีย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นจากธรรมชาติได้

คำสำคัญ: *Pandanus amaryllifolius*, ใบเตย, เม็ดกลม, ครามจุลินทรีย์, สีย้อมพื้น

Development of *Pandanus amaryllifolius* Extract Pellets for Dental Plaque Disclosing

Kittichote Worachotekamjorn^{*}, Sittasart Rattanasart, Anawat Leelasuthanont

Department of Pharmaceutic Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkhla University,
Kho Hong Sub-District, Hat Yai District, Songkhla 90110, Thailand

^{*}Corresponding author: kittichote.w@psu.ac.th

Abstract

This study aimed to develop natural plaque disclosing pellets containing extract of *Pandanus amaryllifolius* leaves. The green extract was obtained from water extraction without heating and then freeze-dried. Pandan pellets containing pandan extract and various fillers were then prepared by the extrusion-spheronization method. Suitable pellet formulations were chosen based on their sphericity as well as plaque-disclosing abilities, tested for disintegration and friability, and kept at ambient temperature for a 1-month stability study. The results showed that the type of fillers influenced the sphericity and plaque-disclosing abilities of pandan pellets. Mordant also influenced the plaque-disclosing ability. The formulation containing 15% pandan extract, a blend of Avicel RC-591 and Avicel PH101 (70:30) and 10% alum gave satisfactory pellets disintegrated readily; and the friability test result was less than 1%. The pandan pellets exhibited no physical changes, and their chlorophyll content remained higher than 90% after 1-month storage. This study showed promising results for the pandan pellets as a natural disclosing agent for dental plaque.

Key words: *Pandanus amaryllifolius*, pandan, pellet, dental plaque, disclosing

บทนำและวัตถุประสงค์

พลัดหรือแผ่นคราบจุลินทรีย์พัฒนามาจาก แอคไควร์เพลลิเคิลซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนจากน้ำลาย และปราศจากแบคทีเรีย โดยแอคไควร์เพลลิเคิลจะ สร้างขึ้นมาอย่างรวดเร็วจากการสะสมและดูดซึม โปรตีนน้ำลายที่เคลือบฟันเป็นชั้นบาง ๆ จะเกิดหลัง การทำความสะอาดฟันทุกครั้งเพื่อปกป้องเคลือบฟัน จากสิ่งแวดล้อมในช่องปาก แอคไควร์เพลลิเคิลไม่ สามารถกำจัดได้จากการแปรงฟันด้วยน้ำ แต่สามารถ ควบคุมการก่อตัวได้โดยการแปรงฟันด้วยยาสีฟันที่มี สารขัดฟัน^[1] คราบจุลินทรีย์จะก่อตัวขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังการเกิดแอคไควร์เพลลิเคิล โดยเป็นฟิล์มเหนียว

ที่มองไม่เห็นของแบคทีเรีย โปรตีนจากน้ำลาย และ เอ็กซ์ตร้าเซลล์ูลาร์โพลีแซคคาไรด์ จากซูโครสซึ่งเป็นชั้นหนาของฟิล์มที่สะสมอย่างรวดเร็วบนผิวฟัน โดยเอ็กซ์ตร้าเซลล์ูลาร์โพลีแซคคาไรด์จะเป็นแหล่ง คาร์โบไฮเดรตหลักสำหรับเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก คราบจุลินทรีย์ไม่สามารถล้างออกโดยน้ำลาย หากสุข อนามัยในช่องปากไม่ดี จะก่อตัวหนาและมีแบคทีเรีย ที่ก่อให้เกิดโรคมาอาศัยอยู่มากขึ้น คราบจุลินทรีย์ สะสมในช่องปากจะก่อให้เกิดโรคฟันผุ โรคเหงือก อักเสบ หรือ โรคปริทันต์ได้ รวมทั้งก่อให้เกิดหินปูน จากการสะสมของแคลเซียมและฟอสเฟต ดังนั้นจึง จำเป็นต้องกำจัดคราบจุลินทรีย์^[2] โดยทั่วไปคราบ

จูลินทรีย์จะมีลักษณะโปร่งใสมองเห็นด้วยตาเปล่า ไม่ชัดเจน การกำจัดด้วยการแปรงฟันหรือใช้ไหมขัดฟันเป็นไปได้ยาก การย้อมสีคราบจูลินทรีย์จึงสามารถแสดงตำแหน่งและปริมาณของคราบจูลินทรีย์ที่ติดค้างบนผิวฟันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากคราบจูลินทรีย์เหล่านี้จะติดสีจากน้ำยาย้อมสีฟัน ทำให้สามารถทำความสะอาดคราบฟันได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น^[3]

ในปัจจุบันที่ใช้ย้อมคราบจูลินทรีย์มีหลากหลายชนิด ที่มีใช้ในปัจจุบันคือกลุ่มของสีผสมอาหาร เช่น เออร์โทรซิน, ฟาสต์กรีน, และบิลเลียนท์ บลู เป็นต้น สีเหล่านี้มีประสิทธิภาพดีในการย้อมคราบจูลินทรีย์แต่การย้อมไม่จำเพาะเฉพาะคราบฟัน สีอาจติดบริเวณอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ เช่น บริเวณเนื้อเยื่อในช่องปาก และแม้สารสีดังกล่าวจะเป็นสีสังเคราะห์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ แต่หากได้รับในปริมาณที่มากหรือบ่อยครั้ง จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น สีจะไปเคลือบเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้ ทำให้น้ำย่อยอาหารออกมาไม่สะดวก อาหารย่อยยาก เกิดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และขัดขวางการดูดซึมอาหาร ทำให้ท้องเดิน น้ำหนักลด อ่อนเพลีย เป็นต้น^[4]

การศึกษานี้จึงสนใจที่จะพัฒนาสีย้อมคราบจูลินทรีย์ที่มาจากธรรมชาติแทนเนื่องจากปลอดภัยกว่าการใช้สีสังเคราะห์ ซึ่งปัจจุบันในต่างประเทศมีสิทธิบัตรการใช้สีจากธรรมชาติเพื่อย้อมคราบจูลินทรีย์บนผิวฟัน เช่น การใช้สีมันชันของบริษัท Wako Pure Chemical Industries, Ltd^[5] หรือการใช้สีน้ำเงินจากสไปรูลินของบริษัท Kanto Chemical Co., Inc. นอกจากนี้ยังมีการใช้สีแดงที่ได้จากชูการ์บีทของบริษัท Colgate-Palmolive Company มาย้อมคราบจูลินทรีย์^[6] แต่ในประเทศไทยการใช้สีย้อมคราบจูลินทรีย์ยังเป็นการใช้สีสังเคราะห์ ตัวอย่าง เช่น สตูร์ที่แนะนำในการย้อมฟันโดยสำนัก

ทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข เป็นการใช้ออร์โทซิน 1 ซอง (1 กรัม) ผสมน้ำ 25 ซีซี (สารละลายเออร์โทซิน 4%)^[7] ในการศึกษานี้ได้เลือกใช้สีเขียวจากสารสกัดใบเตยเนื่องจากเป็นพืชที่หาได้ง่าย มีในพื้นที่เป็นจำนวนมาก มีความปลอดภัยสูง เนื่องจากเป็นพืชที่ใช้สีในการทำอาหารเพื่อรับประทานในชีวิตประจำวันอยู่แล้ว และยังไม่พบการนำสีจากใบเตยมาพัฒนาเป็นสีย้อมคราบจูลินทรีย์บนผิวฟันแต่อย่างใด

ใบเตยหรือเตยหอม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pandanus odoratus* Ridi. และมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Pandanus amaryllifolius* Roxb. อยู่ในตระกูล Pandanaceae เป็นพรรณไม้จำพวกหญ้า ชอบขึ้นริมน้ำหรือในที่ชื้นแฉะ เตยหอมมีใบยาวเรียวยาว ปลายใบแหลม ลักษณะคล้ายใบสับปะรด มีสีเขียวเป็นมัน พบทั่วไปในประเทศเขตร้อนชื้น มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปแอฟริกา ทวีปเอเชีย (ไทย มาเลเซีย) บริเวณชายฝั่ง และหมู่เกาะแถบทวีปออสเตรเลีย^[8] ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนของต้นเตยหอมที่นำมาใช้ประโยชน์อย่างมากคือ ส่วนของใบ ลักษณะเด่นของใบเตยคือ มีกลิ่นหอมจากน้ำมันหอมระเหย อีกทั้งใบมีสีเขียว มักใช้เป็นสีผสมอาหาร หรือขนม จึงมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ผู้บริโภค ซึ่งสารสีเขียวที่ได้จากใบเตยหอมเป็นรงควัตถุประเภทคลอโรฟิลล์ (สีเขียวอ่อน) โดย คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสำคัญอยู่ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งอยู่ใกล้กับผนังเซลล์ พบในทุกส่วนของพืชที่มีสีเขียว เช่น ใบ ก้าน และในผลไม้ดิบ ปฏิกริยา pheophytinization เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการที่คลอโรฟิลล์เปลี่ยนไปเป็น pheophytin ทำให้สารมีสีน้ำตาล^[9] เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียความคงตัวของสีเขียวในระหว่างกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน จึงได้มีการพยายามหาวิธีในการรักษา

ความคงตัวของสีเขียวโดยวิธีต่าง ๆ ดังนั้นขั้นตอนการสกัดและการเก็บรักษาจึงมีความสำคัญโดยจะต้องควบคุมอุณหภูมิหน้าที่ใช้ในการสกัด และเก็บรักษาให้ดี ป้องกันจากแสงแดดและความชื้น การศึกษาที่ใช้ น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นสารละลายในการสกัด การทำสารสกัดให้อยู่ในรูปผงแห้งจะใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งหรือ freeze drying^[10] ซึ่งเป็นการลดปัญหาการเสถียรภาพของสีจากใบเตยเนื่องจากความร้อน

การพัฒนาสูตรตำรับสารย้อมติดสีครามจุลินทรีย์มีหลายรูปแบบ เช่น รูปแบบเม็ด เจล สารละลาย หรือ เม็ดกลม^[11] การศึกษาครั้งนี้จึงมีแนวคิดในการพัฒนาในรูปเม็ดกลม ซึ่งหลักการในการย้อมคล้ายกับการใช้สารละลายสีย้อม เพียงนำเม็ดกลมปริมาณเล็กน้อยมาละลายน้ำก็จะกลายเป็นสารละลายแล้วนำไปป้ายพื้นให้ทั่ว บ้วนปาก ทำให้สามารถมองเห็นครามจุลินทรีย์ที่ติดอยู่บนผิวฟันในรูปของสีของสารสกัดใบเตย เหตุผลในการพัฒนาสารสกัดใบเตยในรูปเม็ดกลม เพื่อมุ่งเน้นไปที่การเพิ่มความคงตัวของสารสกัดใบเตยโดยพัฒนาในรูปแบบแห้ง ทำให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้และยังคงมีประสิทธิภาพในการย้อมครามจุลินทรีย์ อีกทั้งเป็นรูปแบบที่เตรียมได้ง่าย โดยการศึกษาเป็นการศึกษาที่ต่อยอดจากการศึกษาของศิริดา^[12] ซึ่งเป็นการพัฒนาสูตรตำรับยาสีฟันที่ใช้ย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวฟันจากสารสกัดใบเตย มีวิธีการสกัดเพื่อให้ได้สารสกัดใบเตยสีเขียวสด โดยสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ไม่ใช้ความร้อน เนื่องจากผลการสกัดใบเตยหอมด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิ 75 °ซ. ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้น้ำที่คั้นออกมาจากการสกัดมีสีเขียวแกมน้ำตาลซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา pheophytinization ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการที่คลอโรฟิลล์เปลี่ยนไปเป็น pheophytin ทำให้สารมีสีเขียวน้ำตาล เป็น

สาเหตุสำคัญทำให้เกิดการสูญเสียความคงตัวของสีเขียวสดของใบเตย การสกัดใบเตยจะใช้อัตราส่วนใบเตยสดต่อน้ำในอัตราส่วน 1:1 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (3.3%) เมื่อเทียบกับสัดส่วน 2:1 (2.7%) หรือ 1:2 (2.4%) และใช้วิธีทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากผลการสกัดด้วยสภาวะดังกล่าวจึงได้สารสกัดใบเตยสีเขียวสดตามต้องการ แต่รูปแบบยาสีฟันยังเป็นรูปแบบที่มีเสถียรภาพทางเคมีของคลอโรฟิลล์ที่ไม่ดีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรตำรับเม็ดกลมของสารย้อมครามจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ศึกษาความเสถียรภาพทางกายภาพและเคมีของสารสกัดใบเตยในรูปเม็ดกลมและประเมินประสิทธิภาพในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวฟันของสูตรตำรับที่พัฒนาขึ้น หากได้สูตรตำรับที่ดีก็จะเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของพืชใบเตยจากการใช้ในการบริโภคสู่ผลิตภัณฑ์ทางการค้า

ระเบียบวิธีศึกษา

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาสูตรตำรับเม็ดกลมที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบเตยเพื่อย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวฟัน โดยทำการสกัดสีจากใบเตยด้วยน้ำและทำให้แห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง เพื่อให้ได้สีเขียวสด ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดใบเตยเพื่อนำไปเตรียมเป็นตำรับเม็ดกลม ศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับเม็ดกลมที่เหมาะสม และประเมินประสิทธิภาพในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวฟันของสารสกัดใบเตยโดยทำการทดสอบโมเดลฟัน การศึกษานี้ผ่านการรับรองจริยธรรมในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่โครงการ REC.63-025-19-2 ประเภทโครงการเข้า

ช่วยยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ เมื่อวันที่ 25 มกราคม 2563 สำหรับการใช้ฟันที่ถอนแล้วในการศึกษา

1. วัสดุ

1.1 พืชและสารเคมีที่ใช้ในการศึกษา

สารสกัดใบเตยสด ได้จากใบเตยที่มีขายในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จากแหล่งผลิตอาหารปลอดภัย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ pharma grade จาก PanReacAppliChem ITW Reagent, Germany อะลัมจากบริษัทเคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด microcrystalline cellulose (Avicel PH101TM) และ microcrystalline cellulose and sodium carboxymethylcellulose (Avicel RC591TM) จาก FMC Health Nutrition, USA sodium starch glycolate (ExplotabTM) จาก JRS Pharma LP, USA

1.2 ฟันที่ใช้ในการศึกษา

ฟันที่นำมาทดลองจะขอรับบริจาคจากแผนกทันตกรรม โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โดยเป็นฟันที่ถอนออกมาใหม่ ๆ แล้วเก็บฟันไว้ในน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อจนกว่าจะใช้งานโดยจะเก็บไว้ไม่เกิน 48 ชั่วโมง โดยปกติจะใช้เตรียมโมเดลฟันในวันเดียวกันวันที่ไปรับฟันมาจากแผนกทันตกรรม นำมาฆ่าเชื้อโดยแช่ใน 70% เอทิลแอลกอฮอล์ ประมาณ 30 วินาที เพื่อกำจัดเชื้อโควิด-19^[13] แล้วล้างน้ำให้สะอาดก่อนนำมาทำโมเดลฟันด้วยปูนยิปซัมทันตกรรม (dental stone powder premium quality, The Gypsun จากประเทศไทย) แม่พิมพ์ขึ้นรูปโดยใช้อัตราส่วนปูน 5 ส่วน น้ำ 3 ส่วน ประมาณ 2-3 นาที (วิธีแนะนำที่ฉลาด) สำหรับการทดสอบต่อไปโดยโมเดล 1 ชุดจะมีฟัน 3 ซี่ เลือกเฉพาะโมเดลฟันที่มีคราบจุลินทรีย์โดยธรรมชาติที่อยู่บนผิวฟันของตัวอย่างฟันมาใช้ในการศึกษา จะ

เลือกโมเดลฟันที่ย้อมด้วย 4% สารละลายเออร์โทรซิน (สีย้อมอ้าอิง) แล้วติดสีกาบริบจุลินทรีย์บนผิวฟันคิดเป็นพื้นที่อย่างน้อย 25% โดยดัดแปลงจากเกณฑ์การประเมินดัชนีคราบจุลินทรีย์ของ Turesky และคณะ^[14]

2. วิธีการศึกษา

2.1 การเตรียมสารสกัดจากใบเตย (pandan extract) โดยการสกัดด้วยน้ำ

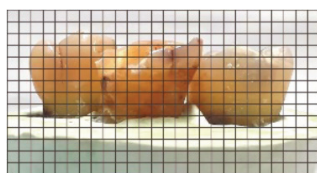
เตรียมสารสกัดจากใบเตยโดยนำใบเตยหอมสดหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.2 ซม. นำมาบดลดขนาดโดยใช้เครื่องปั่นไฟฟ้า ใส่โถงเติมน้ำกลั่นลงไป ในอัตราส่วน 1:1 บดด้วยลูกโถงเป็นระยะ และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที กรองด้วยผ้าขาวบางลงในภาชนะที่สะอาด จนได้สารละลายสีเขียวจากใบเตยหอม นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้ได้สารสีเขียวเข้มข้นจากใบเตยหอม ทั้งส่วนใสไป และบรรจุลงในภาชนะที่เตรียมไว้จะได้สารสกัดใบเตยเข้มข้น จากนั้นนำไปสกัดแห้งโดยใช้วิธีทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dried) เป็นเวลา 2 วัน นำสารสกัดใบเตยในรูปผงแห้งที่ได้มาบรรจุในภาชนะป้องกันแสงและปิดสนิท เก็บในตู้เย็น โดยไม่ต้องแช่แข็งเพื่อป้องกันความชื้น^[9,12] เพื่อนำไปศึกษาและเตรียมตำรับเม็ดกลมต่อไป

2.2 การศึกษาหาความเข้มข้นของสารสกัดใบเตยที่เหมาะสมในการเตรียมตำรับเม็ดกลมโดยประเมินจากความสามารถในการติดสีบนโมเดลฟัน

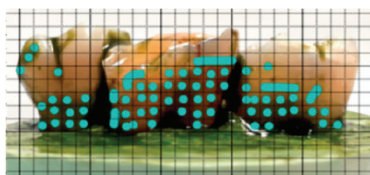
นำสารสกัดใบเตยในรูปผงแห้งมาละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20% นำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ จุ่มด้วยสำลีก้านป้ายจนทั่วโมเดลฟัน และตรวจสอบผลการย้อมสีที่ได้ด้วยสายตา ทำการย้อมคราบจุลินทรีย์บนโมเดลฟันเดิมด้วยสารละลายเออร์โทรซินความเข้มข้น 4% นำหนัก

ต่อปริมาตร (สี่ย้อมอ้างอิง) เพื่อตรวจสอบตำแหน่งคราบจุลินทรีย์ นำค่าที่ได้มาคำนวณโดยเปรียบเทียบพื้นที่ย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันของตัวอย่างที่ต้องการศึกษากับสารละลายเออร์โทรซิน โดยทำซ้ำจำนวน 3 โมเดลฟัน (ภาพที่ 1 ก, 1 ข, 1 ค) นำค่าที่

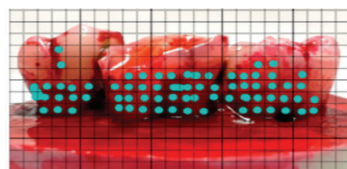
ได้มาประเมินทางสถิติทดสอบค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มอิสระต่อกัน (t -test for independent sample) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หากไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จะแสดงว่าติดสีได้ดีและมีประสิทธิภาพ



ก



ข



ค

ภาพที่ 1 ตัวอย่างช่องตารางในการตรวจนับพื้นที่ติดสี ก. ไม่ได้ย้อมสี ข. ย้อมสารสกัดใบเตย ค. ย้อมสารละลายเออร์โทรซิน 4%

2.3 ศึกษาการเตรียมตำรับเม็ดกลมที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบเตย

เตรียมตำรับเม็ดกลมโดยวิธี extrusion-spheronization^[15] โดยใช้ microcrystalline cellulose ผสมกับน้ำที่ปราศจากอ็อกสนในสัดส่วนที่เหมาะสม โดยใช้สัดส่วนของสารก่อเม็ดกลมต่อน้ำในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งเป็นสัดส่วนจากการศึกษานำร่องด้วย Avicel PH 101 แล้วพบว่าเกิดเม็ดกลมได้ดีผสมกับสารสกัดใบเตย ศึกษาความเหมาะสมของ microcrystalline cellulose แต่ละเกรดต่อการเกิดเม็ดกลมและความสามารถในการย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์บนโมเดลฟันรวมทั้งการใช้สารร่วมในสูตรตำรับเพื่อช่วยในการย้อมติดสีที่ดีขึ้น^[16] เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ อะลัม วิธีการคือ ชั่งส่วนประกอบในตำรับทั้งหมดใส่ในเครื่องปั่นผสม (Kenwood mixer, UK) จนเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็น damp mass จากนั้นใส่ลงในเครื่อง Extruder (Pharmaceutical and Medical

Supply, Thailand) ที่ความเร็ว 30 รอบต่อนาที (rpm) จน damp mass เปลี่ยนเป็น extrudate ทั้งหมด นำ extrudate ใส่ในเครื่อง spheronizer ออกแบบโดยภาคเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยตั้งความเร็วที่ 500 rpm เป็นเวลา 2 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษานำร่องในการทำเม็ดกลมพื้นโดยใช้ Avicel PH101 ต่อน้ำในอัตราส่วน 1:1 ว่าได้เม็ดกลมขนาดเล็กจากการมองด้วยตาเปล่า นำเม็ดกลมที่ได้เข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 °ซ. เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้เม็ดกลมตามต้องการ สูตรเม็ดกลมที่ศึกษา (ตารางที่ 1)

2.4 ศึกษาการแสดงลักษณะเฉพาะของเม็ดสารสกัดใบเตย

2.4.1 ประเมินความกลม (sphericity)

โดยวัดขนาดเม็ดกลมที่เตรียมขึ้นด้วยเครื่องมือ vernier caliper คำนวณความกลมจากอัตราส่วนระหว่างด้านที่สั้นที่สุดของเม็ดกลมกับด้าน

ที่ยาวที่สุดของเม็ดกลมเพื่อเลือกสูตรที่มีความกลมที่เหมาะสม เป็นเกณฑ์เบื้องต้น โดยค่าที่เหมาะสมควรมีค่าเข้าใกล้ 1.0 (0.8-1.0)^[17] มาประเมินการย้อมติดสีกันไป ในกรณีเปรียบเทียบสูตรตำรับที่ให้ค่าความกลมดีที่สุด นำค่าที่ได้มาประเมินทางสถิติทดสอบค่าเฉลี่ยของประชากรมากกว่าสองกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance) หากสูตรตำรับใดมีค่าใกล้เคียง 0.8-1.0 และแตกต่างจากสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญเมื่อทำการเปรียบเทียบรายคู่ด้วยวิธีของเชฟเฟ (Scheffé Post Hoc Comparison) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าสูตรนั้นมีค่าความกลมดีที่สุด

2.4.2 ประเมินความกร่อน (friability)

เม็ดกลมที่ดีจะเป็นเม็ดกลมที่แน่น ทนต่อการขนส่ง และแรงกระแทก โดยยังคงสภาพเม็ดกลมไม่กร่อนและไม่แตก มีวิธีทดสอบดังนี้ ซึ่งตัวอย่างเม็ดกลมอย่างถูกต้องแม่นยำ ปริมาณ 50 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างเม็ดกลมที่ซั่งได้ใส่ในเครื่อง tablet friability apparatus (Electrolab, India) ทดสอบโดยการหมุนเครื่องจำนวน 100 รอบ^[18] เมื่อครบเวลาให้นำเม็ดกลมออกจากเครื่อง จากนั้นชั่งน้ำหนักหลังการทดสอบของเม็ดกลมที่เหลืออย่างถูกต้องแม่นยำ วิธีการประเมินผลคือ หลังการทดสอบ เม็ดกลมจะต้องมีน้ำหนักที่หายไปคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักของเม็ดกลมก่อนการทดสอบไม่เกิน 1%^[18]

2.4.3 การทดสอบการแตกกระจายตัวของเม็ดกลม (disintegration)

วิธีการทดสอบประยุกต์จากการใช้เม็ดกลมจริงในการย้อมสีฟัน^[11] วิธีการคือ ใส่เม็ดกลม 0.3 กรัม (ปริมาณที่มากพอในการย้อมฟัน) ในภาชนะ ละลายด้วยน้ำ 1 กรัม คนให้ละลาย ในเวลา 1 นาที หากเม็ดกลมแตกตัวจะมีสีเขียวของสารสกัดใบเตยละลาย

ออกมา

2.5 การทดสอบความสามารถของเม็ดสารสกัดใบเตยในการติดสีบนโมเดลฟัน

เตรียมเม็ดกลมเหมือนข้อ 2.4.3 จุ่มด้วยสีล้างานจนเปียก บ้ายจนทั่วโมเดลฟันเปรียบเทียบกับกรวยย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์ด้วยสารละลายเออร์โทรซิน 4% ประเมินผลเช่นเดียวกับ หัวข้อ 2.2

2.6 การศึกษาเสถียรภาพของเม็ดสารสกัดใบเตย

ศึกษาเสถียรภาพของเม็ดสารสกัดใบเตย ก่อนและภายหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือนในภาชนะกันแสง เม็ดจะต้องไม่มีลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไป เช่น การเปลี่ยนสี การกร่อน และยังคงมีเสถียรภาพทางเคมีโดยวัดจากปริมาณสารสีของใบเตยหรือ chlorophyll ด้วยเครื่อง UV-VIS (Shimadzu UV-180, Japan) วิธีการคือละลายเม็ดสารสกัดใบเตย 100 มก. ในเอทานอล ความเข้มข้น 95% v/v ปริมาตร 20 มล. จนหมด และ ปรับปริมาตรให้ครบ 30 ml โดยวัดปริมาณสารสีของใบเตยที่ความยาวคลื่น 652 nm และคำนวณปริมาณในรูป total chlorophyll โดยใช้สูตร chlorophyll content, mg L⁻¹ = 28.96A₆₅₂ (A คือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 nm) ดัดแปลงจากวิธีของ Putra^[19] เนื่องจากการศึกษาของศิริดา^[12] พบว่า วิธีดังกล่าวได้ค่าใกล้เคียงกับการหาปริมาณ total chlorophyll จากผลรวมของ chlorophyll A และ B^[20] ซึ่งต้องวัดค่าการดูดกลืนแสงสองความยาวคลื่น

ผลการศึกษา

1. ลักษณะของสารสกัดใบเตยที่ได้

สารสกัดใบเตยที่ได้จากการสกัดใบเตยหอม

ด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องในอัตราส่วน 1:1 และทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง จะทำให้ได้สารสกัดใบเตยที่มีสีเขียวสด โดยมี % ผลผลิตประมาณ 1-3%

2. การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดใบเตยที่เหมาะสมในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นเพื่อนำไปเตรียมนำมารับเม็ดกลม

ผลการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นพบว่าสารสกัดใบเตยด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 15% มีประสิทธิภาพในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นได้ดีกว่าสารสกัดใบเตยที่ความเข้มข้น 10% เมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นที่ติดสีของตัวอย่างที่ต้องการศึกษากับสารละลายเอริโทรซิน 4% เนื่องจากที่ความเข้มข้น 10% ย้อมติดครามจุลินทรีย์ต่างจากสารละลายเอริ-

โทรซินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยย้อมได้คิดเป็นพื้นที่ $25.65 \pm 3.17\%$ และ $34.99 \pm 2.69\%$ ตามลำดับ สารสกัดใบเตยที่ความเข้มข้น 15% มีประสิทธิภาพในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นใกล้เคียงกับสารสกัดใบเตยที่ความเข้มข้น 20% เนื่องจากความเข้มข้นของการติดสีใกล้เคียงกัน และบริเวณที่ย้อมติดครามจุลินทรีย์ของทั้งสองความเข้มข้นย้อมได้ใกล้เคียงกับบริเวณที่ย้อมติดครามจุลินทรีย์ด้วยสารละลายเอริโทรซิน 4% ($p > 0.05$) โดยย้อมคิดเป็นพื้นที่ $40.32 \pm 7.09\%$ (15% สารสกัด) เทียบกับ $40.85 \pm 6.11\%$ (เอริโทรซิน) และ $24.49 \pm 5.94\%$ (20% สารสกัด) และ $24.43 \pm 6.02\%$ (เอริโทรซิน) ดังนั้นจึงใช้สารสกัดใบเตยที่ความเข้มข้น 15% ในการพัฒนาเป็นรูปแบบเม็ดกลมต่อไป



ก



ข

ภาพที่ 2 ผลการย้อมครามจุลินทรีย์บนโมเดลพื้นของ ก. สารสกัดใบเตยในน้ำที่ความเข้มข้น 15% ข. สารละลายเอริโทรซิน 4%

3. ผลการศึกษาตำรับเม็ดกลมที่มีส่วนผสมของสารสกัดใบเตย 15% จำนวน 50 กรัม

3.1 การเตรียมเม็ดกลมในการศึกษานี้

สูตรที่ 1-3 เตรียมเม็ดสารสกัดใบเตยโดยใช้ Avicel PH101 เป็นสารก่อเม็ดกลม โดยมีอัตราส่วน สารสกัดใบเตย+sodium starch glycolate+สารช่วยติดสี+Avicel PH101:น้ำ เป็น 1:1 สูตรที่ 4 เตรียมเม็ดสารสกัดใบเตยโดยแทนที่

Avicel PH 101 ในสูตรที่ 1 ด้วย Avicel RC-591 สูตรที่ 5-7 เป็นสูตรเม็ดกลมพื้นที่มี Avicel RC-591 ผสมกับ Avicel PH101 ในสัดส่วน 90:10, 80:20 และ 70:30 ตามลำดับ และสูตรที่ 8-10 เป็นสูตรเม็ดสารสกัดใบเตยที่ใช้สูตร 7 เป็นเม็ดกลมพื้น โดยมีอัตราส่วนสารสกัดใบเตย+sodium starch glycolate+สารช่วยติดสี+Avicel RC-591+Avicel PH101:น้ำ เป็น 1:1 โดยสูตรที่ 1-10 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สูตรตำรับเม็ดกลมที่เตรียมในการศึกษา

	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8	สูตร 9	สูตร 10	ประโยชน์
สารสกัดใบเตย	7.5	7.5	7.5	7.5	-	-	-	7.5	7.5	7.5	สีย้อม
Avicel PH 101	40.5	39.5	35.5	-	5	10	15	12.15	11.85	10.65	สารก่อเม็ดกลม
Avicel RC 591	-	-	-	40.5	45	40	35	28.35	27.65	24.85	สารก่อเม็ดกลม
Explotab	2	2	-	2	-	-	-	2	2	2	สารแตกกระจายตัว
CaOH2	-	1	-	1	-	-	-	-	1	-	สารช่วยติดสี
Alum	-	-	5	-	-	-	-	-	-	5	สารช่วยติดสี
น้ำ	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	granulating fluid
รวม (กรัม)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

3.2 ผลการศึกษาการแสดงลักษณะเฉพาะของเม็ดสารสกัดใบเตย

ผลการศึกษาค่าความกลมและความสามารถในการย้อมครามจุลินทรีย์บนผิวพื้นของเม็ดกลมสูตรต่าง ๆ (ตารางที่ 2) เม็ดกลมสารสกัดใบเตยสูตรที่ 1 ทำให้เกิดเม็ดกลมขนาดเล็กเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า จึงทำการสุ่มตรวจเม็ดกลมขนาดเล็ก พบว่าค่าความกลมใกล้เคียง 1 โดยเม็ดกลมสูตรที่ 1 มีค่าความกลมเท่ากับ 0.83 ± 0.05 ($n = 30$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า Avicel PH101 สามารถใช้เตรียมตำรับเม็ดกลมของสารสกัดใบเตยได้ โดยให้ค่าความกลมที่ดี เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการย้อมครามจุลินทรีย์พบว่าโมเดลพื้นที่ย้อมด้วยสูตรที่ 1 สังเกตเห็นการติดสีครามจุลินทรีย์ไม่ชัดเจนคือ มองไม่เห็นครามด้วยตาเปล่า จึงพัฒนาสูตรเม็ดกลมจากสารสกัดใบเตยที่ผสมสารช่วยติดสี ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ 2% (สูตรที่ 2) หรือ อะลัม 10% (สูตรที่ 3) ความสามารถในการติดสีครามจุลินทรีย์ของเม็ดกลมทั้งสองสูตร ภายหลังจากการล้างน้ำเพื่อกำจัดเม็ดกลมส่วนเกินออกไปจากพื้น พบว่าทุกสูตรสังเกตเห็นการ

ติดสีครามจุลินทรีย์ไม่ชัด คิดเป็นพื้นที่ที่ย้อมติดสี 0% ในขณะที่การใช้สารละลายเออร์โทรซิน 4% บนโมเดลพื้นเดียวกัน หลังล้างน้ำ เห็นครามชัดเจนคิดเป็นพื้นที่ $25.04 \pm 3.56\%$ (สูตรที่ 1) $80.10 \pm 8.25\%$ (สูตรที่ 2) $50.15 \pm 6.25\%$ (สูตรที่ 3) จึงพัฒนาโดยเลือกใช้สารก่อเม็ดกลม Avicel RC-591 (สูตรที่ 4) พบว่าไม่เกิดเม็ดกลมขนาดเล็กแต่เป็นผงละเอียดเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า ผลการทดสอบความสามารถในการย้อมครามจุลินทรีย์ ความสามารถในการย้อมคิดเป็นพื้นที่ $72.66 \pm 8.74\%$ ส่วนการย้อมด้วยเออร์โทรซินคิดเป็นพื้นที่ $74.03 \pm 9.05\%$ แต่ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเม็ดกลม ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า Avicel PH 101 ก่อเม็ดกลมได้ดีแต่ไม่มีคุณสมบัติในการย้อมพื้น ส่วน Avicel RC-591 เดี่ยว ไม่สามารถใช้เตรียมตำรับเม็ดกลมของสารสกัดใบเตยได้ เนื่องจากให้ค่าความกลมที่ไม่ดี แต่มีคุณสมบัติที่ทำให้สารสกัดย้อมติดครามพื้นได้ดีไม่แตกต่างจากสีย้อมอ้างอิง ($p > 0.05$) จึงพัฒนาต่อไป โดยนำไปผสมกับ Avicel PH101 ในสัดส่วนต่าง ๆ แล้วเตรียมเป็นเม็ดกลมพื้น (สูตรที่ 5-7) ประเมินค่าความกลมและนำสัดส่วนที่กลมที่สุดมา

ตารางที่ 2 การแสดงลักษณะเฉพาะของเม็ดสารสกัดใบเตย

	ค่าความกลม (n = 30)	% พื้นที่ที่ย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์ บนโมเดลฟัน (n = 3)		ความกร่อน (%)	การแตก กระจายตัว	ปริมาณของคลอโรฟิลล์ (%)	
		สูตรที่เตรียม	4% เออร์โทรซิน			เวลาเริ่มต้น	1 เดือน
สูตร 1	0.83 ± 0.05	0 ± 0*	25.04 ± 3.56	-	แตกตัวดี	-	-
สูตร 2	0.82 ± 0.05	0 ± 0	80.10 ± 8.25	-	แตกตัวดี	-	-
สูตร 3	0.82 ± 0.04	0 ± 0	50.15 ± 6.25	-	แตกตัวดี	-	-
สูตร 4	-	72.66 ± 8.74	74.03 ± 9.05	-	-	-	-
สูตร 5	0.64 ± 0.04	-	-	-	-	-	-
สูตร 6	0.71 ± 0.04	-	-	-	-	-	-
สูตร 7	0.79 ± 0.05	-	-	-	-	-	-
สูตร 8	0.80 ± 0.04	6.85 ± 0.31	52.96 ± 7.65	-	แตกตัวดี	-	-
สูตร 9	0.79 ± 0.05	18.93 ± 2.76	38.98 ± 6.85	-	แตกตัวดี	-	-
สูตร 10	0.79 ± 0.04	30.79 ± 4.54	33.11 ± 4.83	0.56	แตกตัวดี	100.46 ± 4.86	97.43 ± 4.45

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ยกเว้น ความกร่อนและการแตกกระจายตัว

*คราบหลังการย้อมที่มองเห็นไม่ชัดเจนด้วยตาเปล่าจะคิดเป็นพื้นที่ติดสีเท่ากับศูนย์

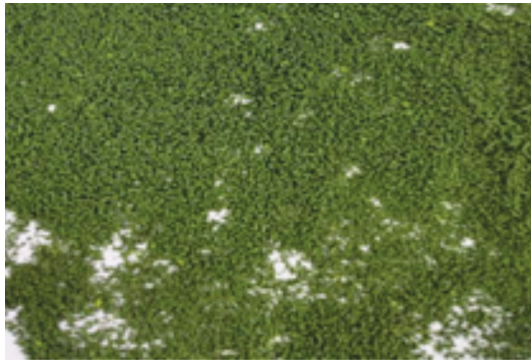
เตรียมเม็ดสารสกัดใบเตย (สูตรที่ 8-10) เพื่อประเมินการย้อมคราบฟัน ผลการเตรียมเม็ดกลมพื้น สูตรที่ 5-7 พบว่า สูตรที่มีสัดส่วนของ Avicel PH101 ในสูตรเพิ่มขึ้น ค่าความกลมจะเพิ่มขึ้น โดยมีค่าความกลมของสูตรที่ 5-7 เท่ากับ 0.64 ± 0.04 , 0.71 ± 0.04 และ 0.79 ± 0.05 ตามลำดับ (n = 30) โดยค่าความกลมของสูตรที่ 7 แตกต่างจากสัดส่วนอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการทดสอบความสามารถย้อมติดสีคราบบนผิวฟันของเม็ดกลมสูตรที่ 10 ที่ผสมอะลัม 10% ภายหลังการล้างน้ำพบว่าเมื่อทำการย้อมเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายเออร์โทรซิน 4% พบว่าเม็ดกลมสูตรดังกล่าวติดสีบนผิวฟันในบริเวณเดียวกับที่สารละลายเออร์โทรซินย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์ โดยย้อมได้พื้นที่ใกล้เคียงกัน คิดเป็นพื้นที่ $30.79 \pm 4.54\%$ เมื่อเทียบกับการย้อมโดยเออร์โทรซินได้เป็น

พื้นที่ $33.11 \pm 4.83\%$ ($p > 0.05$) ตามลำดับ ในขณะที่สูตรที่ 8 และสูตรที่ 9 ย้อมได้คิดเป็นพื้นที่ $6.85 \pm 0.31\%$ และ $18.93 \pm 2.76\%$ เมื่อเทียบกับการย้อมโดยเออร์โทรซินได้เป็นพื้นที่ $52.96 \pm 7.65\%$ และ $38.98 \pm 6.85\%$ ตามลำดับ ($p < 0.05$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เม็ดกลมสูตรที่ 10 สามารถย้อมคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันได้ดี โดยยังคงเห็นคราบหลังการล้างน้ำได้ชัดเจน และการใช้สารช่วยติดสีช่วยการย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์ได้ดีกว่าไม่ใช้สารช่วยติดสี และอะลัมเป็นสารช่วยติดสีที่เหมาะสมสำหรับเม็ดสารสกัดใบเตย จึงเลือกสูตรที่ 10 มาประเมินและศึกษาเสถียรภาพต่อไป

3.3 การประเมินและการศึกษาเสถียรภาพของเม็ดสารสกัดใบเตย

ผลการศึกษาเม็ดกลมสูตรที่ 10 (ภาพที่ 3 และตารางที่ 2) เม็ดกลมมีขนาดเฉลี่ย 1.01 ± 0.10 mm (n = 30) ความกร่อนของเม็ดกลมเท่ากับ 0.56% ซึ่งไม่



ภาพที่ 3 ตัวอย่างเม็ดสารสกัดใบเตยสูตรที่ 10

เกิน 1.0% แสดงว่าเม็ดกลมมีความแข็งเพียงพอและเม็ดกลมสามารถแตกตัวได้ดีในน้ำ โดยมีสีของสารสกัดใบเตยละลายออกมา ผลการศึกษาเสถียรภาพของเม็ดกลมสูตรที่ 10 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องที่เวลาเริ่มต้น มีปริมาณคลอโรฟิลล์ $100.46 \pm 4.86\%$ ($n = 3$) หลังเก็บไว้ 1 เดือน ปริมาณคลอโรฟิลล์เป็น $97.43 \pm 4.45\%$ ($n = 3$) คิดเป็น 97% ของปริมาณเริ่มต้น แสดงถึงการมีปริมาณสารสีคลอโรฟิลล์ที่ดี คือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่า 90% แสดงว่าตำรับที่พัฒนาขึ้นมีเสถียรภาพทางเคมีที่อุณหภูมิห้อง ส่วนลักษณะทางกายภาพของเม็ดกลม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี การเกาะตัว การแตกหัก หรือการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ของเม็ดกลม

อภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาต่อยอดของศิริดา^[12] โดยใช้วิธีการสกัดจากการศึกษาดังกล่าวให้ได้สารใบเตยสีเขียวสด สำหรับการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดใบเตยเพื่อใช้ย้อมปราบฟันของเม็ดกลม วิธีที่ถูกต้องคือ นำมาเตรียมเป็นตำรับเม็ดสารสกัดใบเตยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วไปย้อมบนโมเดล

ฟัน ดูความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการศึกษาของศิริดา^[12] ได้เตรียมยาสีฟันสารสกัดใบเตย 3 ความเข้มข้น คือ 9% 13% และ 16% โดยพบว่าความเข้มข้น 16% ย้อมปราบได้ดีที่สุดใน การศึกษานี้จึงเลือกศึกษาในช่วงความเข้มข้นของสารสกัดระหว่าง 10-20% แต่เนื่องจากข้อจำกัดของการเตรียมเม็ดกลมที่ต้องเตรียมในปริมาณอย่างน้อยที่สุด คือ 50 กรัม ทำให้ต้องใช้สารสกัดในการศึกษา ตั้งแต่ 5 กรัม จนถึง 10 กรัม ต่อสูตร และสารสกัดในการทดสอบมาจากการสกัดเองซึ่งจากการทดลองสารสกัดประมาณ 50 กรัม ได้จากการสกัดใบเตยสด 5 กิโลกรัม อีกทั้งยังไม่รู้รูปร่างแบบเม็ดกลมมีผลต่อการย้อมปราบหรือไม่ จึงเลือกความเข้มข้นที่จะมาผสมในเม็ดกลมจากการศึกษาการย้อมโดยใช้สารสกัดใบเตยด้วยน้ำ สารสกัดใบเตยด้วยน้ำย้อมปราบได้ใกล้เคียงกับยาสีฟันสารสกัดใบเตยเพราะที่ความเข้มข้น 15% ย้อมติดคราบได้ดีเมื่อเทียบกับสารละลายเออร์โทรีน แต่ไม่ใช้ในรูปแบบสารสกัดเนื่องจากสารสกัดจะขึ้นง่าย มีผลต่อความคงตัวของสารสี และการใช้ควบคุมปริมาณได้ยาก ปัญหาอีกประการในการย้อมปราบด้วยสารสกัดคือการแยกไม่ออกระหว่างคราบหรือไม่ใช่คราบจึงจำเป็นต้องใช้สารละลายเออร์โทรีนมาเทียบบนโมเดลฟันเดียวกัน เพราะสีสังเคราะห์ย้อมเห็นคราบชัดเจน แล้วถ่ายภาพเทียบกัน ในบางครั้งจะย้อมสีบนโมเดลฟันก่อนแล้วย้อมทับด้วยสารสกัดเพื่อยืนยันตำแหน่งคราบ และวิธีการดูผลหลังย้อมจะต้องล้างน้ำออกเพื่อกำจัดสีส่วนเกินออก และดูเฉพาะคราบที่ติดสี ปัญหาอีกประการคือ ฟันที่ได้มาบางครั้งมีคราบน้อยจนใช้ไม่ได้

การเตรียมเม็ดกลมเลือกวิธี extrusion-spheronization เนื่องจากวิธีนี้จะเกิดความร้อนใน

กระบวนการเตรียมไม่สูงและเตรียมได้ง่าย อีกทั้งใช้เวลาในการเตรียมสั้น ผลของความร้อนจากอุปกรณ์ต่อเม็ดกลมมีน้อย ซึ่งจะทำให้เม็ดกลมสารสกัดที่เตรียมมีความคงตัว การใช้ Avicel PH101 เป็นสารก่อเม็ดกลมเนื่องจากเป็นสารที่นิยมใช้ในการเตรียมเม็ดกลมในตำรับยาเม็ดและจากการเตรียมเป็นเม็ดกลมของสารสกัดใบเตยทำให้ได้เม็ดที่กลมเมื่อพิจารณาจากค่าความกลม ในสูตรตำรับมีการใช้ sodium starch glycolate เพื่อเป็นสารช่วยแตกตัวของเม็ดกลม แต่ผลการย้อมพบว่าไม่ติดคราบ จึงมีการใช้สารช่วยติดสีร่วมในสูตร เนื่องจากการศึกษาของคิรดา^[12] การใช้สารช่วยติดสีร่วมด้วยจะทำให้ย้อมติดสีได้ดีกว่า แต่ทุกสูตรก็ย้อมคราบไม่ได้ อาจเนื่องจากคุณสมบัติของ Avicel PH101 ซึ่งไม่ละลายน้ำ แม้ว่าเม็ดกลมจะแตกตัว แต่สีส่วนใหญ่ยังอยู่ในเม็ดกลมไม่ค่อยละลายออกมา จึงลองใช้ Avicel RC-591 เนื่องจากการใช้เตรียมเม็ดกลมโดยวิธีนี้เช่นกัน^[15] เมื่อเตรียมปรากฏว่าไม่เกิดเม็ดกลม แต่เมื่อนำไปย้อมติดคราบได้ดีกว่า อาจเนื่องจากองค์ประกอบของ Avicel RC-591 ประกอบด้วย sodium carboxymethylcellulose ร่วมกับซึ่งละลายน้ำได้ และมีคุณสมบัติในการยึดเกาะดี การศึกษานี้จึงนำคุณสมบัติของ Avicel PH101 และ Avicel RC-591 มาร่วมกันโดยพัฒนาเป็นสัดส่วน 10:90, 20:80 และ 30:70 โดยที่จะไม่ลดสัดส่วนของ Avicel RC-591 มากกว่านี้เพราะอาจมีผลต่อการย้อมติดคราบ ซึ่งสัดส่วน 30:70 ให้เม็ดกลมที่มีค่าความกลมใกล้เคียงกับการใช้ Avicel PH101 เมื่อนำไปย้อมคราบฟัน โดยเปรียบเทียบเมื่อใช้และไม่ใช้สารช่วยติดสี พบว่า สูตรที่ใช้อะลัมเป็นสารช่วยติดสี ติดสีได้ดีและมีเสถียรภาพทางเคมีจาก

การเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน เม็ดกลมไม่กร่อน และแตกตัวได้ดี ทั้งนี้วิธีการทดสอบการแตกตัวจะเป็นวิธีการทดสอบที่เลียนแบบการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ในทางปฏิบัติ ซึ่งแตกต่างจากวิธีการทดสอบในภาสัขตำรับเนื่องจากไม่ได้นำเม็ดกลมไปใช้รับประทาน แล้วดูการแตกตัวในกระเพาะหรือลำไส้ เนื่องจากข้อจำกัดในการได้ตัวอย่างพามาศึกษาประสิทธิภาพในการย้อมคราบจุลินทรีย์ของเม็ดกลมสารสกัดใบเตยในช่วงการระบาดโควิด-19 ทำให้ระยะเวลาในการศึกษาเสถียรภาพทางเคมีค่อนข้างสั้นคือ 1 เดือน แต่จากผลการศึกษาเสถียรภาพแสดงให้เห็นว่ารูปแบบของผลิตภัณฑ์มีผลต่อเสถียรภาพของสารสกัดใบเตย เพราะยาสีฟันสารสกัดใบเตยจากการศึกษาของคิรดา^[12] เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ปริมาณสารสีลดลงถึง 40% แต่เม็ดกลมใบเตยซึ่งเป็นรูปแบบของแข็งที่เตรียมได้มีความคงตัวกว่ารูปแบบยาสีฟัน โดยปริมาณสารสีลดลงเพียงเล็กน้อยประมาณ 3% จากปริมาณเริ่มต้นหลังเก็บไว้ในสภาวะเดียวกันเป็นเวลา 1 เดือน

ข้อสรุป

จากการศึกษาสรุปได้ว่าสารสกัดใบเตยสามารถพัฒนาเป็นสีย้อมคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันที่มีเสถียรภาพได้เมื่อเตรียมในรูปเม็ดกลมของสารสกัดใบเตยหอมโดยไม่ใช้ความร้อนด้วยน้ำแล้วทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง และเตรียมเม็ดกลมด้วยวิธี extrusion-spheronization โดยพบว่าเม็ดกลมที่มีสารสกัดใบเตย 15% ผสมกับ Avicel RC-591 และ Avicel PH101 ในอัตราส่วน 70:30 และผสมอะลัม 10% เป็นสูตรเม็ดกลมที่ดีที่สุดและย้อมติดสีคราบบนผิวฟันได้ดี ทั้งนี้ตำรับเม็ดกลมที่เตรียมได้ยังไม่ใช้

ตำรับที่ดีที่สุด อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นของ ความเข้มข้นที่ย้อมติดได้ดีโดยพัฒนาต่อจากสูตร ข้างต้น การใช้สารช่วยแตกตัวอื่น ๆ การใช้สารก่อ เม็ดกลมอื่น ๆ สารช่วยยึดเกาะตัวอื่น ๆ ผสมใน สูตร หรือการใช้เทคนิคทางเภสัชกรรมอื่น ๆ เพื่อเพิ่ม เสถียรภาพของตำรับมากยิ่งขึ้น ข้อดีของการใช้สาร สกัดใบเตยในการย้อมคราบ คือ ปลอดภัย และสีย้อม ใบเตยไม่ย้อมเปราะเปื้อนเนื้อเยื่อในช่องปากเหมือน การใช้สีสังเคราะห์ ติดสีคราบเฉพาะที่ อีกทั้งมีกลิ่น หอม สามารถทำให้สีหลุดออกได้ง่ายโดยการแปรง ตรงบริเวณนั้น สารสกัดใบเตยสามารถนำมาพัฒนาต่อ ยอดเชิงพาณิชย์โดยนำมาทำเป็นสีย้อมคราบจุลินทรีย์ ในรูปเม็ดกลมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมืออุปกรณ์ ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลา- นครินทร์ สำหรับเงินทุนสนับสนุนโครงการวิจัย และ ขอขอบคุณแผนกทันตกรรม โรงพยาบาลสงขลา- นครินทร์ สำหรับการอนุเคราะห์พื้นที่ในการศึกษา ครั้งนี้

References

1. Mason S. Dental hygiene. In: Butler H, editor. Poucher's perfumes, cosmetics and soaps. 10th ed. Great Britain: Kluwer Academic Publishers; 2000. p. 217-53.
2. Cole AS, Eastoe JE. The formation and properties of dental plaque. In: Cole AS, Eastoe JE, editors. Biochemistry and oral biology. 2nd ed. London: Wright; 1988. p. 490-501.
3. Collins FM. Biofilm formation, identification and removal. [Internet]. 2008. [cited 2018 Feb 10]; Available from: <https://www.dentalacademyofce.com/courses/1419/pdf/biofilmformation.pdf>.
4. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Department of Medical Sciences revealed the tests of synthetic organic colors in candies and chewing gums. [Internet]. 2022. [cited 2022 Nov 9]; Available from: <https://www3.dmsc.moph.go.th/post-view/919> (in Thai)
5. Perlitsh MJ, inventor. Plaque-disclosing composition and package system. US patent 3,624,219. 1971 Nov 30.
6. Gaffar M. Natural dye indicator for dental plaque. US Patent 4,431,628. 1984 Feb 14.
7. Worachotekamjorn K. Dental plaque disclosing products. In: Worachotekamjorn K, editor. Toothpastes and other oral hygienic products. Bangkok: Sahamitpattana publishing; 2021. p. 163 (in Thai)
8. Gurmeet S, Amrita P. Unique pandanus - flavour, food and medicine. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2015;5(3):8-14.
9. Tamkal N, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. Physical properties and volatile compounds of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) by water extraction. Agricultural Sci J 2015;46(3) (Suppl.):145-8;[cited 2022 Nov 9]. Available from: <https://crdc.kmutt.ac.th/data2021/all-crdc-journal/journal-crdc9-all.pdf> (in Thai)
10. Saravacos G, Kostaropoulos AE. Food dehydration equipment. In: Barbosa-Canovas GV, editor. Handbook of food processing equipment. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 403-5.
11. Datta D, Kumar SGR, Narayanan MBA, Selvamary AL, Sujatha A. Disclosing solutions used in dentistry. World J Pharm Res. 2017;6(6):1648-56.
12. Chudet S, Singsamart S, Worachotekamjorn K. Formulation development of dental disclosing toothpaste containing pandan extract. (Special project). Department of Pharmaceutical Technology. Songkhla: Prince of Songkla University; 2018. (in Thai)
13. Kratzel A, Todt D, V'kovski P, Steiner S, Gultom M, Thao TTN, Ebert N, Holwerda M, Steinmann J, Niemeyer D, Dijkman R, Kampf G, Drosten C, Steinmann E, Thiel V, Pfaender S. Inactivation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 by WHO-recommended hand rub formulations and alcohols. Emerg Infect Dis. 2020;26(7):1592-5.
14. Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. J Periodontol. 1970;41(1):41-3.
15. O'Connor RE, Schwartz JB. Extrusion and spheroniza-

- tion technology. In: Ghebre-Sellassie I, editor. Pharmaceutical pelletization technology. New York: Marcel Dekker; 1989. p. 187-216.
16. Thongpoon C, Machan T. Dyeing cotton yarn with natural dye from Santol bark. (Research report). Department of Science and Technology. Phisanulok: Pibulsongkram Rajabhat University; 2014 (in Thai)
 17. Upadhyay SM., Jethara SI, Patel KR, Patel MR. Recent advances in pellets and pelletization techniques for oral sustained release drug delivery. World Journal of Pharmaceutical Research 2015;4(3):629-56.
 18. Ghebre-Sellassie I, Gordon RH, Fawzi MB, Nesbitt RU. Evaluation of a high-speed pelletization process and equipment. Drug Dev Ind Pharm. 1985;11(8):1523-41.
 19. Putra MD, Darmawan A, Wahdini I, Abasaeed AE. Extraction of chlorophyll from pandan leaves using ethanol and mass transfer study. J. Serb. Chem. Soc. 2017;82(0):1-12.
 20. La-ongsri S. A study on chlorophyll content of fresh tea leaf. Agricultural Sci. J. 2008;39(3)(Suppl.):178-81. (in Thai)