

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบพลูต่อเชื้อสเตรปโตค็อกคัส มิวแทนส์

ปาริชาติ อ้นองอาจ¹ กัมปนาท คำสุข¹ ภรณ์ทิพย์ ชัยสว่าง¹ ณลิตา ไพบูลย์^{1*}

และ วราภรณ์ มหาทรัพย์¹

¹ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: nalita@nmc.ac.th

Received date: February 21, 2023; Revised date: April 18, 2023; Accepted date: June 6, 2023

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาผลของสารสกัดใบพลูต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตรปโตค็อกคัสมิวแทนส์สายพันธุ์ ATCC25175T (*S.mutans*) โดยการหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S.mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุของฟันผุโดยการนำใบพลูมาสกัดด้วย 95% เอทานอล หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบพลูที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ด้วยวิธีการเจือจางแบบ 2-Fold serial dilution และทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดของ pH จากเชื้อ *S.mutans* ด้วยวิธี Glycolytic pH drop ผลการศึกษา พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบพลูที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้คือ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบพลูที่มีผลต่อกลไกการก่อโรคฟันผุของเชื้อ *S.mutans* โดยการทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดลงของค่าความเป็นกรด - ด่าง (ค่า pH) ของเชื้อ *S.mutans* ด้วยวิธี Glycolytic pH drop ผลการทดสอบปรากฏว่าความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการลดลงของ pH เหลือเพียง 0.023 หน่วยต่อนาที่ ซึ่งเป็นอัตราการลดลงของ pH ที่ดีที่สุด ดังนั้นสารสกัดเอทานอลของใบพลูสามารถแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.mutans* และสามารถป้องกันฟันผุได้ เพราะฉะนั้นสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันฟันผุได้ต่อไป

คำสำคัญ: พลู สเตรปโตค็อกคัส มิวแทนส์ Glycolytic pH drop

Original Article

**Antibacterial Efficacy of 95% ethanolic extract of *Piper betle* Linn. Leaf
Extract against *Streptococcus mutans*.**

Parichat Onongarj¹, Kumpanat Khamsuk¹, Pornthip Chaisawang¹,
Nalita Phaiboon^{1*} and Waraporn Mahasap¹

¹ Department of Medical Science, Faculty of Allied Health Science, Nakhon Ratchasima College

*Corresponding Author E-mail: nalita@nmc.ac.th

Abstract

This paper aimed to study the antibacterial efficacy and determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of *Piper betle* Linn. leaf extract on *Streptococcus mutans* ATCC 25175T (*S.mutans*). The experimental design was performed for antibacterial investigation. *Piper betle* Linn. leaf were extracted with 95% ethanol. A 2-fold serial dilution method was conducted to determine the MIC of *Piper betle* Linn. ethanolic extract. The Glycolytic pH drop assay was carried out to assess the acidproduction of *S.mutans*. The results indicated the inhibitory effect of *Piper betle* Linn. ethanolic extract against *S.mutans*. The MIC was 1.56 mg/mL. The inhibitory actions against *S. mutans* acidproduction depended on the concentrations of the extract used. The *Piper betle* Linn. ethanolic extract at the concentration 0.1 mg/mL showed the maximal effect against acid production in *S.mutans* with the initial rate of pH drop at 0.023 unit/min. This study suggested that the *Piper betle* Linn. ethanolic extract produced anti-bacterial and anti-cariogenic activities against *S.mutans*. This plant extract thus can potentially be developed as a product for the prevention of dental caries in the future.

Keywords: *Piper betle* Linn, *Streptococcus mutans*, Glycolytic pH drop

บทนำ

สถานการณ์โรคฟันผุในปัจจุบันยังถือว่าเป็นปัญหาที่สำคัญต่อสุขภาพโดยรวมของคนทั่วโลกที่ได้รับผลกระทบจากโรคฟันผุ รวมถึงมีการสูญเสียฟันที่เป็นสาเหตุจากฟันผุในกลุ่มผู้ใหญ่และในกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนา ยังคงมีปัญหาโรคฟันผุอยู่ เนื่องจากประชากรเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารจากผักและผลไม้เป็นการบริโภคอาหารจำพวกแป้งและน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น รวมถึงขาดการดูแลและการรักษาทางสุขภาพช่องปากที่ดีในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนานี้มีแนวโน้มสูงขึ้น ถึงแม้สถานการณ์โรคฟันผุในประเทศไทยจากการสำรวจทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งนี้เป็นครั้งที่ 8 ดำเนินการเก็บข้อมูลในปี 2560 จัดทำขึ้นโดยกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุขพบว่าสุขภาพช่องปากของคนไทยใกล้เคียงเดิมในแต่ละกลุ่มอายุแต่ยังคงส่งเสริมการป้องกันควบคุมโรคอย่างต่อเนื่องเพราะยังคงมีปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ⁽¹⁾

โดยโรคฟันผุเป็นพยาธิสภาพของฟันที่มีสาเหตุหลักจากการสูญเสียแร่ธาตุของฟัน จากการทำลายของเชื้อโดยแบคทีเรีย พบได้บ่อยทั้งเด็กและผู้ใหญ่ซึ่งสามารถป้องกันและรักษาได้ โรคฟันผุมีสาเหตุหลักมาจากแบคทีเรียในช่องปากที่อาศัยอยู่ในคราบจุลินทรีย์หรือไบโอฟิล์ม (biofilm) ในการรักษานั้นอาจต้องใช้ยาปฏิชีวนะ เป็นเหตุทำให้ทำให้ประเทศชาติเสี่ยงประมาณเป็นจำนวนมากในแต่ละปีและบางครั้งเชื้ออาจดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นการหาแนวทางใหม่ ๆ ในการรักษาโรคฟันผุจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง และในปัจจุบันการนำเอนไซม์ไมโครมาใช้ในการรักษาโรคฟันผุอย่างแพร่หลายซึ่งเป็นอีกทางเลือกในการรักษาโรคฟันผุอย่างมีประสิทธิภาพ⁽²⁾ เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคฟันผุและทำให้เกิดโรคฟันผุกลายได้มากที่สุดคือเชื้อ *Streptococcus mutans* (*S.mutans*)⁽³⁾ โดยเชื่อนี้ย่อยสลายอาหารประเภทน้ำตาลทำให้เกิดกรดที่มีฤทธิ์ในการสลายแร่ธาตุเคลือบฟันและเนื้อฟัน ในสภาวะปกติภายในช่องปากมีการเปลี่ยนแร่ธาตุแคลเซียมฟอสเฟตในระหว่างชั้นผิวเคลือบฟัน และแร่ธาตุที่มีอยู่ในน้ำลายตลอดเวลาอย่างสมดุลทำให้ไม่มีการสูญเสียแร่ธาตุออกจากผิวฟัน แต่ในสภาวะที่จุลินทรีย์มีการย่อยสลายอาหาร แป้ง และน้ำตาลจะเปลี่ยนสภาพแวดล้อมของน้ำลายเป็นกรดทำให้สูญเสียแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสเฟตออกจากตัวฟันมากกว่าการได้รับกลับคืน หากเกิดขึ้นบ่อยจนทำให้เกิดฟันผุ⁽⁴⁾ เชื้อ *S.mutans* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจัดเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบในช่องปากของมนุษย์⁽⁵⁾ เชื้อนี้เจริญเติบโตได้ในบรรยากาศที่มีออกซิเจน แต่หากมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้นร้อยละ 5 - 10 จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าบรรยากาศปกติ เชื้อ *S.mutans* มีกลไกในการก่อโรค 3 ประการ คือ ความสามารถในการยึดเกาะ (adhesion) ความสามารถในการสร้างกรด (acidogenicity) ซึ่งใช้วิธีทดสอบคือ Glycolytic pH drop และความสามารถในการทนกรด (acidtolerance) โดยเชื้อ *S.mutans* สามารถเจริญเติบโตได้แก่สภาวะความเป็นกรดต่ำถึง 4.0⁽⁵⁾ โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้สารสกัดเอทานอลจากใบพลูเนื่องจากใบพลูเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาโรคฟันผุและบำรุงช่องปากมาตั้งแต่สมัยโบราณ ตามภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีการนำใบพลูมาเคี้ยวหรือสีฟันแทนการแปรงฟันในสมัยก่อน⁽⁶⁾ และการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคฟันผุของสารสกัดใบพลูต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* และศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบพลูที่มีผลต่อกลไกการเกิดโรคฟันผุของเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยประเมินจากความสามารถในการลดการสร้างกรดที่อาจส่งผลถึงการเจริญเติบโตของเชื้อ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อการศึกษาผลของสารสกัดใบพลูต่อกลไกการเกิดโรคฟันผุและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175T

ระเบียบวิธีศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำใบพลูตัวอย่างมาทำให้แห้งด้วยวิธีการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดเป็นผง แล้วนำมาชั่ง 300 กรัม สกัดด้วยวิธีการหมักด้วย 95% Ethanol ในอัตราส่วน 1:10 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน และเขย่าเป็นระยะ ๆ หลังจากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Rotary evaporator) และเก็บสารสกัดที่ได้ในภาชนะที่ป้องกันแสง และจัดเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส⁽⁷⁾ และคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่ได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = (\text{น้ำหนักหลังสกัด} / \text{น้ำหนักผงสมุนไพรก่อนสกัด}) \times 100$$

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (BHI Broth) ใช้อัตราส่วน BHI:DW = 3.7:100 ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำ BHI Broth ที่ผสมเข้ากันดีแล้วแบ่งบรรจุใส่หลอดทดลอง นำไปทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จัดเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส⁽⁸⁾

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

นำ *S.mutans* ATCC 25175T มาเพาะเลี้ยงใน BHI Broth ในหลอดทดลองปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปบ่มภายใต้สภาวะเดียวกัน ลักษณะเชื้อที่ได้มีสีขาวขุ่นอยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง แยกชั้นกับ BHI Broth อย่างชัดเจน สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แล้วนำเชื้อ *S.mutans* ที่ได้มาปรับความขุ่นให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายแบรียมซัลเฟต (McFarland no. 0.5) ซึ่งมีเชื้อประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และทำการเจือจางต่อ โดยนำเชื้อที่ทำการปรับความขุ่นแล้ว เลือกลงมาจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลว 9 มิลลิลิตร ปริมาณที่ทำการเจือจางจะมีเชื้ออยู่ประมาณ 1.0×10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร เตรียมพักไว้ก่อนเพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป⁽⁸⁾

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบพลูที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.mutans* ATCC 25175T

ทดสอบหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดใบพลูที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S.mutans* ATCC 25175T ด้วยวิธี Broth dilution method โดยการเจือจางลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งแบบ 2-Fold serial dilution ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบให้มีความขุ่นเท่ากับค่า McFarland no. 0.5 ซึ่งในแต่ละหลอดทดลองจะประกอบด้วยสารสกัดที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเชื้อแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร มีชุดควบคุมบวกประกอบด้วย Chlorhexidine (Antibiotic positive control) ชุดควบคุมลบประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว (Negative control) และชุดควบคุมการเจริญผลบวกประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อแบคทีเรีย (Positive growth control) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มี 5-10% CO₂ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง บันทึกผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยอ่านผลจากการเจริญเติบโตของเชื้อ หากสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้จะแสดงผลเป็นลบ คือจะไม่พบตะกอนของเชื้อเกิดขึ้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุม จะได้ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียคือค่า Minimum inhibitory concentrations (MIC)⁽⁹⁾

5. การทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดของ pH จากเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T ด้วยวิธี

Glycolytic pH drop

ล้างเชื้อแบคทีเรีย *S.mutans* ATCC 25175T ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ประกอบด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นที่ 50 มิลลิโมลาร์ และแมกนีเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นที่ 1 มิลลิโมลาร์ จากนั้น suspend เชื้อแบคทีเรียปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในบัฟเฟอร์ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่มีสารสกัดใบพลูที่ศึกษาต่ำกว่าความเข้มข้นของ MIC (sub MIC) ได้แก่ 0.00, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.2-7.4 ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นที่ 0.2 โมลาร์ จากนั้นเติมสารละลายกลูโคส ความเข้มข้นที่ 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการวัด pH ทุก ๆ 1 นาที เป็นเวลา 30 นาที คำนวณอัตราการลดลงของ pH ในช่วงเริ่มต้นโดยใช้ค่า pH แสดงถึงความสามารถในการผลิตกรดของแบคทีเรีย *S.mutans* ATCC 25175T โดยมี Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมบวก และ Media ร่วมกับสารละลายกลูโคสเป็นตัวควบคุมลบ และนำมาคำนวณหาอัตราการลดลงของ pH ที่นาทีที่ 0 – นาทีที่ 10 ซึ่งเป็นช่วงที่เชื่อมีการสร้างกรดได้ดีจากสูตร⁽¹⁰⁾

$$\text{อัตราการลดลงของ pH} = |\text{นาทีที่ 0} - \text{นาทีที่ 10}| / 10$$

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติพื้นฐานที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S.mutans* ATCC 25175T และการทดสอบกลไกด้านการก่อฟันผุของเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T คือค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสเตร็ปโตค็อกคัส มิวแทนส์

1. การสกัดสารสกัดหยาบจากใบพลู

การศึกษาศักยภาพสมุนไพรจากใบพลูโดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนสมุนไพรหนัก 220 กรัมต่อตัวทำละลายปริมาตร 2200 มิลลิลิตร (1:10) ซึ่งลักษณะของสารสกัดหยาบจากใบพลูมีลักษณะหนืดข้น สีเขียวขี้ม้า โดยน้ำหนักสารสกัดใบพลูหลังสกัดที่ได้เท่ากับ 8.48 กรัม และร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของพลูคิดเป็นร้อยละ 3.854

2. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบพลูที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. mutans* ATCC 25175T

จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ พบว่าสารสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T ได้ดีที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1

3. การทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดลงของ pH จากเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175T ด้วยวิธี Glycolytic pH drop

จากการศึกษาสมุนไพรรูปใบพลูต่อการสร้างกรด *S. mutans* ATCC 25175T ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า MIC ในช่วง 10 นาทีแรกซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อสร้างกรด ดังแสดงในภาพที่ 1 พบว่าสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 0.00, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีกลไกลดการสร้างกรดของเชื้อ *S. mutans* ลดลง และอัตราการสร้างกรดของเชื้อจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการลดลงของ pH เหลือเพียง 0.023 ซึ่งเป็นอัตราการลดลงของ pH ที่ดีที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2

เพราะฉะนั้นจากผลการทดลองดังภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าอัตราการลดลงของ pH จะลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น

อภิปรายผล

จากการศึกษาค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบพลูในครั้งนี้ มีค่าเท่ากับ 3.85 ซึ่งงานวิจัยที่ศึกษาในการคำนวณหาค่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดของการศึกษาของปาจริย ขาวสุด ในปี 2557 ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบพลูมีค่าเท่ากับ 12.50 เนื่องจากปริมาณของสารสกัดใบพลูในการทดลองครั้งนี้มีปริมาณน้อยกว่างานวิจัยดังกล่าว⁽¹⁰⁾ อาจเนื่องมาจากส่วนที่นำมาช่วงเวลาและพื้นที่เก็บตัวทำลายที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังมีปัญหาด้านสภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อร้อยละผลผลิต จึงส่งผลทำให้ร้อยละผลผลิตที่ได้มีค่าแตกต่างกัน

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ATCC 25175T ของสารสกัดใบพลูพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยสารสกัดจากใบพลูให้ค่า MIC เท่ากับ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของปาจริย ขาวสุด ในปี 2557 ค่า MIC ของสารสกัดอยู่ในช่วง 1.56 ถึง 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร⁽¹⁰⁾ ที่พบนี้ในการศึกษานี้มีความแตกต่างกับค่า MIC ในการศึกษาของ Mahfuzul Hoque ในปี 2011 เล็กน้อยที่ศึกษาในสารสกัดใบพลูเช่นเดียวกันกับการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งได้ค่า MIC ของสารสกัดจากพลูมีค่าการยับยั้งขั้นต่ำ อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถึง 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร⁽¹¹⁾ อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการสกัดที่แตกต่างกัน ดังนั้นอาจทำให้มีผลต่อสารสำคัญที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของใบพลู

การศึกษากลไกด้านการก่อโรคฟันผุของเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175T ของสารสกัดจากใบพลู โดยการทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดลงของ pH จากเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175T ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการลดลงของ pH เพียง 0.023 ซึ่งเป็นอัตราการลดลงของ pH ที่ดีที่สุดและยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาในกลไกยับยั้งการสร้างกรดของเชื้อ *S. mutans* นี้ สำหรับงานวิจัยของวนิดา ปิยวิโรจน์กุล ในปี 2559 ได้ศึกษาการผลิตกรดและการเจริญเติบโตของไบโอฟิล์มของแบคทีเรียในช่องปากในหัตถ์ปฏิบัติการที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 เปรียบเทียบกับ *S. mutans* ที่เวลา 0, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่า *S. mutans* สามารถผลิตกรดและเจริญเติบโตได้เร็วที่สุดโดยมีอัตราสูงที่ 6 ชั่วโมงสามารถใช้ได้ทั้งน้ำตาลกลูโคส ซูโครสและแลคโตสในกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยมีค่าความเป็นกรดต่ำสุดที่ 3.8-3.9 มีอัตราการผลิตกรดและเจริญเติบโตสูงที่ 24 ชั่วโมงและจากภาพที่ 1 จะสังเกตเห็นได้ว่าเป็นไปตามแนวโน้มที่จะเป็นไปตามลำดับ⁽¹²⁾

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

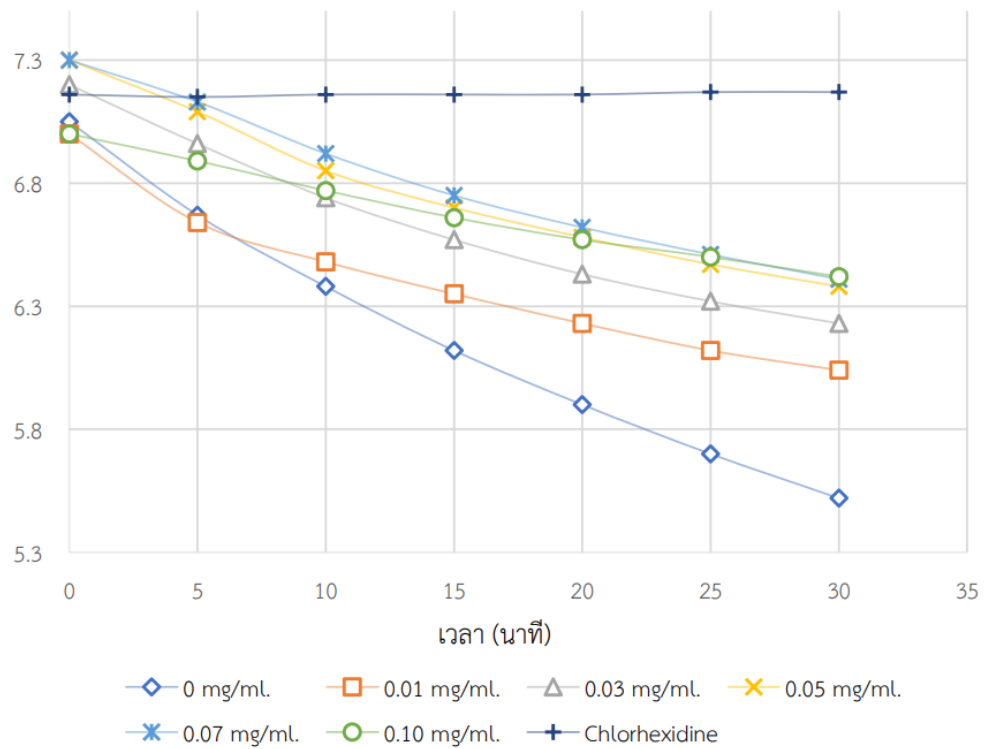
ตารางที่ 1 ผลของการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T ของสารสกัดใบพลู

สารตัวอย่าง	MIC (mg/ml)
สารสกัดใบพลู	1.56
Chlorhexidine	< 0.12

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการลดลงของ pH ที่เชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T ผลิตขึ้น เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดใบพลู และ Chlorhexidine

ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบพลู (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	อัตราการลดลงของ pH (หน่วย/นาที่) (mean $\pm$ SD)(n=3)
0.00	0.067 $\pm$ 0.02
0.01	0.052 $\pm$ 0.01
0.03	0.046 $\pm$ 0.01
0.05	0.045 $\pm$ 0.02
0.07	0.038 $\pm$ 0.03
0.10	0.023 $\pm$ 0.02
Chlorhexidine	0.000 $\pm$ 0.01

ผลของสารสกัดจากใบพลูต่อการลดลงของค่า pH ที่เชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T สร้าง
ค่า pH



ภาพที่ 1 ผลของสารสกัดจากใบพลูต่อการลดลงของค่า pH ที่เชื้อ *S.mutans* ATCC 25175T สร้างขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. ภาณุพงษ์ กุลรัตน์ และคณะ. (2562). การเปรียบเทียบปริมาณฟลูออไรด์และคาเทชินในสารสกัดชาเขียวตามแต่ละพื้นที่ในประเทศไทย. สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
2. เมธ ชวนคุณากร. (2540). การป้องกันฟันผุ. วารสารทันตสาธารณสุข. ปีที่ 5 ฉบับที่ 2, 1-9
3. Sakeenabiand Hiremath. (2011). Dental caries experience and salivary *Streptococcus mutans*, lactobacilli scores, salivary flow rate, and salivary buffering capacity among 6-year-old Indian school children. *Department of Preventive and Community Dentistry*. 3(5), 412-417.
4. Fejerskov O. (1997). Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Dentistry and Oral Epidemiology*. 25(1), 5-12.
5. Xiao J, et al. (2007). Activity of *Nidus vespae* extract and chemical fractions against *Streptococcus mutans* biofilms. *Letters in Applied Microbiology*. 45(5), 547-552.
6. ปาจริย ขาวสุด. (2557). ผลของการต้านเชื้อจุลชีพสมุนไพรไทยในวงศ์ Lamiaceae, Piperaceae และ Zingiberaceae ต่อเชื้อก่อโรคในช่องปาก. วิทยาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
7. รัชนิกร มูลปา และคณะ. (2563). สารสกัดจากใบพลูด้วยเอทานอล สำหรับการควบคุมโรคฟันผุในโคนม. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา. ปีที่ 5 ฉบับที่ 2, 22-29.
8. Phaiboon N, et al. (2019). Effects of the Ethanolic Extracts of Guava Leaves, Licorice Roots and Cloves on the Cariogenic Properties of *Streptococcus mutans*. *Pharmacognosy Journal*. 11(5), 1029-1036.
9. Torrungruang K, et al. (2007). Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Chulalongkorn Dental Journal*. 30, 1-10
10. Yang Y, et al. (2016). Effect of Long Zhang Gargle on biofilm formation and Acidogenicity of *Streptococcus mutans* in vitro. *BioMed Research International*. 10(2016), 1-8.
11. Mahfuzul Hoque M, et al. (2011). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Betel Leaf (*Piper betle* L.) Against Some Food Borne Pathogens. *Bangladesh Journal of Microbiology*. 28(2), 58-63.
12. วนิตา ปิยวิโรจน์กุล. (2559). การผลิตกรดและการเจริญเติบโตของไบโอฟิล์มแบคทีเรียในช่องปาก ในห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.