

นิพนธ์ต้นฉบับ

**การทดสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบกระท่อม
ต่อเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์**

ปาริชาติ อ้นองอาจ¹ กัมปนาท คำสุข¹ รัฐศาสตร์ เด่นชัย² ภรณ์ทิพย์ ชัยสว่าง¹
วรารณ มหาทรัพย์¹ และ ณลิตา ไพบูลย์^{1*}

¹สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

²สาขาการแพทย์แผนไทย คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา นครราชสีมา 30000

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

Received date: March 27, 2024; Revised date: May 21, 2024; Accepted date: May 27, 2024

บทคัดย่อ

กระท่อม (*Mitragyna speciosa* Korth) เป็นสมุนไพรที่ชาวบ้านนิยมบริโภคโดยนำไปสดมาเคี้ยว และมีการใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณ กระท่อมมีสารพิษเคมีหลายกลุ่มซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคฟันผุ ที่ยังคงเป็นปัญหาและพบมากในปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบสารพิษเคมี และประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบกระท่อมต่อ *S. mutans* ATCC 25175 ซึ่งเป็นเชื้อโรคในช่องปากที่โดดเด่นในโรคฟันผุ โดยสกัดใบกระท่อมด้วยเอทานอล จากนั้นนำสารสกัดใบกระท่อมไปทดสอบกลุ่มสารพิษเคมี และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) และหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) ด้วยวิธี Broth dilution และทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดลงของค่า pH จากเชื้อ *S. mutans* ด้วยวิธี Glycolytic pH drop ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดใบกระท่อมมีสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และแทนนินพบว่าสารสกัดใบกระท่อมมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 มีค่า MIC เท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และผลของสารสกัดต่อการลดลงของค่า pH พบว่าที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร มีผลดีที่สุดต่อการลดการผลิตกรดของเชื้อ *S. mutans* มีอัตราการลดลงของค่า pH เหลือ 0.026 หน่วยต่อนาที่ การศึกษานี้บ่งชี้ว่าสารสกัดใบกระท่อมในชั้นเอทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. mutans* เป็นเชื้อก่อฟันผุ ซึ่งเป็นสมุนไพรที่น่าสนใจในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกันฟันผุในอนาคต

คำสำคัญ: กระท่อม สารพิษเคมี เชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์

**Preliminary phytochemical screening and In vitro Antibacterial Activity
of *Mitragyna speciosa* Korth Leaf Extract
Against *Streptococcus mutans***

**Parichat Onongarj¹, Kumpanat Khamsuk¹, Ratthazart Denchai²,
Pornthip Chaisawang¹, Waraporn Mahasap¹, Nalita Phaiboon^{1*}**

¹Department of Medical Science, Faculty of Allied Health Science,
Nakhon Ratchasima College 30000

²Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Allied Health Science,
Nakhon Ratchasima College 30000

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

Abstract

Mitragyna speciosa Korth or Kratom is an herb widely chewed the fresh leaves by the local people as traditional medicine for treating chronic pain, emotional or mental conditions and as a stimulant to improve energy. Kratom leaves also contain many bioactive compounds that affect the growth of *Streptococcus mutans* which causes dental caries. That is still a problem and is very common today. Therefore, the study aimed to screen the phytochemical compounds and evaluate the antibacterial activity of Kratom leaf extract against *S. mutans* ATCC 25175, the oral pathogen prominent in dental caries. Phytochemical screening of ethanolic extract of Kratom leaves was performed. Then, the antibacterial activity of the extract was assessed by the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) by broth dilution method. The acid production of *S. mutans* was evaluated through the glycolytic pH drop assay. The results of this study revealed that the Kratom leaves contained alkaloids, flavonoids, terpenoids, phenolic and compounds. Moreover, the extract had a MIC of 3.125 mg/mL and MBC of 100 mg/mL against *S. mutans*. The ethanolic extract at a concentration of 3.0 mg/mL showed the greatest effect against acid production in *S. mutans*, with the initial pH drop rate at 0.026 unit/min. This study indicates that the ethanolic leaf extract of *M. speciosa* exhibiting antibacterial activities against *S. mutans*. It also suggests the possibility of using this plant as a natural antibacterial agent used in the prevention and treatment of dental caries.

Keywords: *Mitragyna speciosa* Korth, Phytochemical screening, *Streptococcus mutans*

บทนำ

ในปัจจุบันโรคฟันผุยังคงเป็นปัญหาหนึ่งที่สำคัญมากของสาธารณสุขไทย เนื่องจากเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพโดยรวมและคุณภาพชีวิตของกลุ่มประชากรที่ประสบปัญหานี้ จากพฤติกรรมการบริโภคอาหารของผู้บริโภคได้รับอิทธิพลมาจากการรับชมโฆษณาอาหารและเครื่องดื่มที่มีรูปลักษณ์ที่ดึงดูด และน่าลิ้มลองจึงทำให้ในปัจจุบันการรับประทานอาหารเปลี่ยนแปลงไป มีการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้ง และน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ทำให้โรคฟันผุและปัญหาสุขภาพในช่องปากยังสามารถพบได้ในประชากรไทยจำนวนมากซึ่งจำนวนผู้ที่เป็นโรคฟันผุมากถึง 82% และพบในทุกช่วงอายุตั้งแต่เด็กจนถึงผู้สูงอายุ โดยมีการสูญเสียฟันเฉลี่ยประมาณ 14 ซี่ต่อคน^(1,2) ฟันผุเป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) นอกจากนี้ยังพบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคฟันผุชนิดอื่น เช่น *Streptococcus sobrinus* เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม lactobacilli และกลุ่มยีสต์ เป็นต้น⁽³⁾ โดยเชื้อแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตที่ตกค้างในช่องปาก หรือคราบจุลินทรีย์ (คราบพลัค) ให้เป็นกรดที่สามารถสลายแร่ธาตุซึ่งเป็นโครงสร้างของฟัน ทำให้ฟันผุกร่อน เป็นกระบวนการเริ่มต้นของโรคฟันผุ แม้ในช่องปากจะมีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิด แต่เชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคฟันผุในมนุษย์⁽⁴⁾ และในการรักษาฟันผุในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น การใช้ยาปฏิชีวนะ รวมไปถึงการใช้สมุนไพรรักษา ยาปฏิชีวนะบางตัวที่ใช้ในปัจจุบันมีผลข้างเคียงทำให้เกิดอาการระคายเคืองในช่องปาก⁽⁵⁾ และการแก้ไขปัญหาด้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรด และอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตทำให้เกิดโรคฟันผุคือการลดความเป็นกรดที่เชื้อสร้างขึ้น โดยลดการบริโภคอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตสูง เนื่องจากแบคทีเรียที่รวมกลุ่มกันอยู่บนผิวฟัน จะย่อยสลายอาหารจำพวกแป้ง และน้ำตาล ทำให้เกิดกรด ซึ่งกรดจะทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุที่ในฟัน ทำให้สูญเสียแร่ธาตุ จนสารเคลือบฟันและเนื้อฟันอ่อนตัวและหลุดไป ทำให้ฟันเกิดเป็นรูผุ การเกิดกรดและการละลายเกลือแร่ออกจากฟันต้องเกิดภายใต้คราบจุลินทรีย์ ดังนั้นผิวฟันที่สะอาดไม่มีคราบจุลินทรีย์จะไม่ทำให้เกิดฟันผุ⁽⁶⁾ เพราะฉะนั้นการศึกษาการใช้สมุนไพรรักษาฟันผุจึงยังเป็นเรื่องที่ต้องพิจารณา โดยเฉพาะในปัจจุบันที่มีผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีสมุนไพรมีอยู่เป็นองค์ประกอบ ยังคงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก

มีสมุนไพรมากชนิดที่ใช้ในการรักษาอาการฟันผุ ซึ่งกระท่อม (*Mitragyna speciosa* Korth.) เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae จัดว่าเป็นสมุนไพรรชนิดหนึ่งที่มีการใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจ และมีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและในกระเพาะสามารถใช้ในการรักษาอาการท้องเสีย บรรเทาอาการปวด บำรุงร่างกาย และระงับประสาท⁽⁷⁾ โดยฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกระท่อมนี้มีความน่าสนใจอย่างยิ่ง เนื่องจากการศึกษาด้านภูมิปัญญาของหมอพื้นบ้านมีการใช้กระท่อมในการรักษาอาการท้องร่วง ซึ่งเป็นผลมาจากเชื้อแบคทีเรียถึง 67% และในสมัยโบราณการใช้กระท่อมนิยมนำใบสดมาเคี้ยว พบว่าในใบกระท่อมมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย⁽⁸⁾ และการศึกษาสารฟลักซ์เคมีในกลุ่มอัลคาลอยด์ กลุ่มฟีนอลิกของสารสกัดใบกระท่อม พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย⁽⁹⁾ ดังนั้นการศึกษานี้จึงนำใบกระท่อมมาตรวจสอบกลุ่มสารฟลักซ์เคมี รวมไปถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเชื้อ *S. mutans* และการศึกษาผลของสารสกัดต่อการลดลงของค่า pH จากเชื้อ *S. mutans* ซึ่งค่า pH ที่ตรวจสอบเกิดการความเป็นกรดที่เชื้อสร้างขึ้นเป็นสาเหตุของการเกิดโรคฟันผุ หากผลของสารสกัดใบกระท่อมทำให้ค่า pH ไม่ลดลง แสดงถึงความสามารถของสารสกัดใบกระท่อมสามารถลดการสร้างกรดของเชื้อได้เป็นผลทำให้ลดการเกิดโรคฟันผุได้และเพื่อนำไปพัฒนาให้เกิดประโยชน์ในอนาคต ไม่ว่าจะเป็นด้านอุตสาหกรรมด้านผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจสอบกลุ่มสารฟลักซ์เคมี และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 ของสารสกัดเอทานอลจากใบกระท่อม

ระเบียบวิธีศึกษา

การเตรียมสารสกัดใบกระพ่อม

เตรียมใบกระพ่อมสด ที่ได้มาจากตลาดสดในอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา เมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2566 โดยการนำมาล้างทำความสะอาด แล้วนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำใบกระพ่อมมาบดให้ละเอียด ชั่งผงใบกระพ่อม 200 กรัม แขนใน 70% เอทานอล โดยใช้ในอัตราส่วน สมุนไพรต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 10 เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบ 7 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 จากนั้นนำสารสกัดที่กรองแล้วไปทำให้แห้งด้วยกระบวนการ Freeze drying และเก็บสารสกัดในภาชนะที่ปิดสนิท และป้องกันความชื้น ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส⁽¹⁰⁾ และนำไปคำนวณหาร้อยละผลผลิตจากสูตร

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

การตรวจสอบสารพิษเคมี การตรวจสอบสารพิษเคมีของสารสกัดใบกระพ่อมจะใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน มี 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแอลคาลอยด์ กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ กลุ่มแทนนิน กลุ่มซาโปนิน และกลุ่มแอนทราควิโนน⁽¹¹⁾ ดังนี้

การตรวจสอบกลุ่มแอลคาลอยด์ ทดสอบด้วย Dragendorff's reagent test ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม นำมาละลายด้วยสารละลาย 2% H₂SO₄ ปริมาณ 15 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำมากรอง เมื่อกรองเสร็จนำมาหยด Dragendorff's reagent สังเกตสีของตะกอนที่เกิดขึ้น หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์

การตรวจสอบกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ ทดสอบด้วย Salkowski test ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ครึ่งละ 5 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ค่อย ๆ เติมน้ำ conc. H₂SO₄ สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้น หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์

การตรวจสอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยสาร 50% เอทานอล ปริมาณ 3 มิลลิลิตร จากนั้นใส่หลอดแมกนีเซียมลงไป 2 ชิ้น แล้วนำไปต้ม และหยด conc. HCl สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้น หากเกิดสารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบกลุ่มแทนนิน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมากรอง เมื่อกรองเสร็จนำมาหยดสารละลาย FeCl₃ 3 หยด สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้น หากปรากฏสีเขียวเข้มหรือน้ำเงินเข้มแสดงว่าพบสารกลุ่มแทนนิน

การตรวจสอบกลุ่มซาโปนิน ทดสอบฟองโดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดแล้วนำมากรอง นำสารละลายมาเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer) สังเกตฟองที่เกิดขึ้นหากมีฟองเกิดขึ้นและคงตัวแสดงว่าพบสารกลุ่มซาโปนิน

การตรวจสอบกลุ่มแอนทราควิโนน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่น 10% H₂SO₄ 10 มิลลิลิตร แล้วอุ่นบนเครื่อง water bath เป็นเวลา 5 นาที นำไปกรองแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เติมน้ำกลั่น 10% NH₃ 3 หยด สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้น หากมีสีชมพูแดงแสดงว่าพบสารกลุ่มแอนทราควิโนน

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 (*S. mutans*) เพาะเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Broth (BHI) บ่มในตู้อบเชื้อที่มี 5% CO₂ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI และปรับปริมาณเชื้อด้วยการวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.08 - 0.1⁽¹⁰⁾

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อก่อฟันผุด้วย Broth tube dilution method ต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* การตรวจสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (minimum inhibitory concentrations, MIC) และการตรวจสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดของ สารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration, MBC)⁽¹²⁾

การหาค่า minimum inhibitory concentrations (MIC) ทดสอบสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จนถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดแบบ 2-Fold serial dilution ในหลอดทดลอง หลังจากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No.0.5 ซึ่งในแต่ละหลอดทดลองจะประกอบด้วย สารสกัด 1 มิลลิลิตร และเชื้อแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่สภาวะ 5%CO₂ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มควบคุมบวก (positive control) คือ คลอเฮกซิดีน 0.12% และกลุ่มควบคุมลบ (negative control) คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว อ่านผลค่า MIC โดยการสังเกตหลอดทดลองที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ

การหาค่า minimum bactericidal concentration (MBC) ทดสอบสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* ด้วยวิธี streak plate โดยการป้ายเชื้อจากหลอดทดลองที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย หลอดที่มีค่า MIC ที่ความเข้มข้นต่ำสุดอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น นำมาขีดเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง BHI จากนั้นนำไปบ่มที่สภาวะ 5%CO₂ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ อ่านผลค่า MBC โดยการสังเกตจานเพาะเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นใดสามารถฆ่าเชื้อได้จะแสดงผลเป็นลบ คือ ไม่มีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปรากฏ นั่นคือความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้

การทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดของ pH จากเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175 ด้วยวิธี

Glycolytic pH drop

ล้างเชื้อแบคทีเรีย *S.mutans* ที่ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 7.5×10^8 CFU/mL ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และแมกนีเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำแบคทีเรียปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในบัฟเฟอร์ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ที่มีสารสกัดใบกระเทียมความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้ที่ 7.0 - 7.4 ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เติมสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการวัด pH ทุกๆ 1 นาที เป็นเวลา 30 นาที คำนวณอัตราการลดลงของ pH ในช่วงเริ่มต้นโดยใช้ค่า pH แสดงถึงความสามารถในการผลิตกรดของแบคทีเรีย *S.mutans* และมี Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมบวก และอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่ารวมกับสารละลายกลูโคสเป็นตัวควบคุมลบ และนำมาคำนวณหาอัตราการลดลงของ pH ที่ได้จากสูตร⁽¹⁰⁾

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

การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยการทดสอบหาค่า MIC และ MBC ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สถิติที่ใช้คือค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การทดสอบกลไกด้านการก่อฟันผุด้วยผลของสารสกัดที่ต้องการทดสอบต่อการลดลงของ pH ใน bacterial suspension สถิติที่ใช้คือค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของค่า pH

ผลการศึกษา

การเตรียมสารสกัดใบกระเทียม

จากการสกัดตัวอย่างพืชใบกระเทียมด้วย 70% เอทานอล พบว่าสารสกัดใบกระเทียมมีลักษณะเป็นผงแห้งสีเหลืองเข้ม มีกลิ่นเฉพาะตัว และจากการคำนวณสารสกัดใบกระเทียมมีร้อยละผลผลิตมีค่าเท่ากับ 19.95

การตรวจสอบสารพิษทุกเคมี

สารสกัดใบกระเทียมประกอบด้วยสารพิษทุกเคมี คือ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มแทนนิน ดังแสดงในตารางที่ 1

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อก่อฟันผุต่อเชื้อ *Streptococcus mutans* (การหาค่าMIC และ MBC)

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียพบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 มีค่าเท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนอกจากนั้นจากการทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 มีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจากการทดสอบสามารถบอกได้ว่าสารสกัดใบกระเทียมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 และสามารถฆ่าเชื้อได้หากความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารสกัดใบกระเทียมมีผลต่อเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดังแสดงในตารางที่ 2

การทดสอบผลของสารสกัดต่อการลดของ pH จากเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 ด้วยวิธี

Glycolytic pH drop

จากการทดสอบผลของสารสกัดใบกระเทียมต่อการลดของค่า pH ของเชื้อ *S. mutans* ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า MIC ในช่วง 10 นาทีแรกเป็นช่วงที่เชื้อสร้างกรด พบว่าสกัดจากใบกระเทียมที่ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีกลไกลดการสร้างกรดของเชื้อ *S. mutans* ลดลง ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการลดลงของค่า pH เหลือเพียง 0.026 เป็นอัตราการลดลงของค่า pH ที่ดีที่สุด และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการสร้างกรดของเชื้อลดลง ทำให้อัตราการสร้างกรดลดลงตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กลุ่มที่มีสารสกัดใบกระเทียมจะทำให้การสร้างกรดของเชื้อลดลงเช่นเดียวกลุ่มควบคุมบวก (chlorhexidine 0.12%) ที่มีความสามารถในการลดการสร้างกรดของเชื้อได้ดีดังแสดงในตารางที่ 3 และจากผลการทดลองดังภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าอัตราการลดลงของค่า pH จะลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดใบกระเทียมเพิ่มขึ้น

อภิปรายผล

จากการศึกษาหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดใบกระเทียมที่สกัดด้วย 70% เอทานอล มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 19.95 ซึ่งการศึกษาของกิตติศักดิ์ เหมือนดาว⁽¹³⁾ ที่มีการสกัดใบกระเทียมด้วยเอทานอลได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ ร้อยละ 34.6 จากการศึกษาในครั้งนี้ได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดใบกระเทียมน้อยกว่างานวิจัยดังกล่าว⁽¹³⁾ อาจเนื่องมาจากขั้นตอนการสกัด และสายพันธุ์ของพืชตัวอย่าง ลักษณะภูมิประเทศ รวมไปถึงช่วงเวลาฤดูการเก็บตัวอย่างที่ต่างกันจึงทำให้ร้อยละผลผลิตต่างกัน

การศึกษาศาสตรบัณฑิตใบกระเทียมพบว่ามีส่วนประกอบของสารพฤกษเคมี คือ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มแทนนิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวราพงษ์ เสนะวีระกุล และคณะในปี 2564⁽¹⁴⁾ ซึ่งรายงานว่าสารสกัดใบกระเทียมพบสาร mitragynine ซึ่งเป็นสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ที่พบมากถึง 60% ซึ่งมีฤทธิ์ลดอาการปวด ฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดของกระเพาะอาหาร ฤทธิ์ลดความดันโลหิต ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และสอดคล้องกับการศึกษาของTakayama (2004)⁽¹⁵⁾ ได้รายงานว่าสารส่วนใหญ่ที่พบในสารสกัดใบกระเทียมคือ สารกลุ่มแอลคาลอยด์ ซึ่งพบถึง 66% และนอกจากสารกลุ่มแอลคาลอยด์แล้วยังมีการพบสารกลุ่มอื่นอีกหลายชนิด ได้แก่ กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มแทนนิน เป็นต้น และสอดคล้องกับการศึกษาของจุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล ในปี 2554 พบว่าสารสกัดใบกระเทียมพบสารกลุ่มสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ถึง 66% กลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มแทนนิน เป็นต้น⁽⁹⁾ ซึ่งสารพฤกษเคมีที่พบนั้นจากการศึกษาของงานวิจัยของ Palombo ในปี 2011 พบว่าสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ กลุ่มแทนนินมีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย⁽¹⁶⁾

การศึกษาศาถุ์ยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 เท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการศึกษาฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบกระเทียมต่อเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 มีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อก่อฟันผุ *S. mutans* ในสารสกัดใบกระเทียม แต่มีการรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยมีการศึกษาของ Parthasarathy และคณะในปี 2009⁽¹⁷⁾ รายงานว่าสารสกัดใบกระเทียมมีฤทธิ์

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจสอบกลุ่มสารพิษของสารสกัดใบกระท่อม

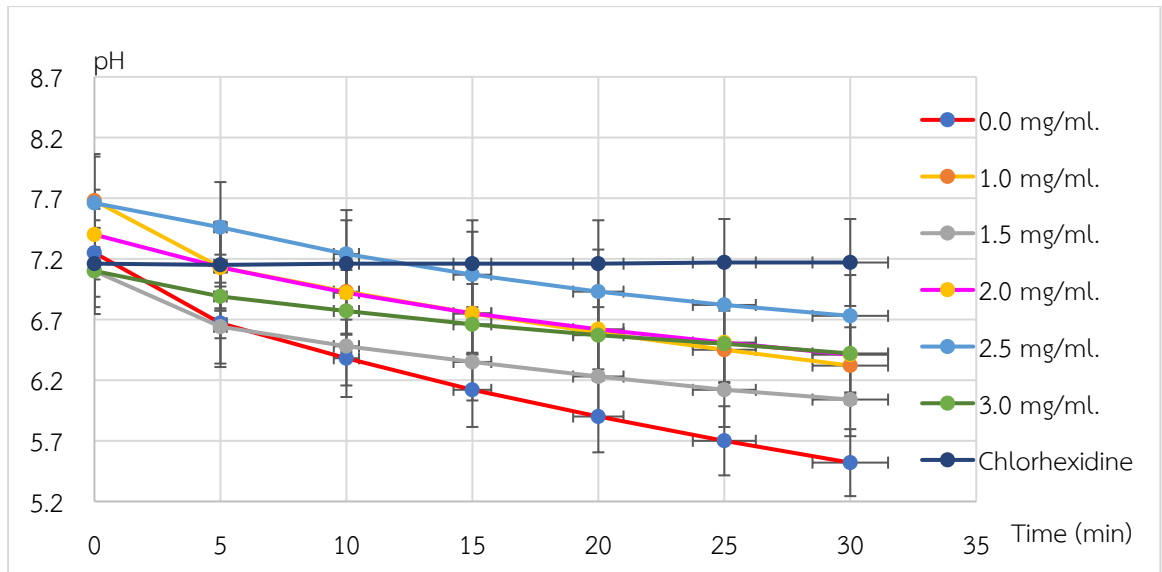
กลุ่มสารพิษเคมี	สารสกัดใบกระท่อม
กลุ่มสารแอลคาลอยด์	+
กลุ่มสารเทอร์พีนอยด์	+
กลุ่มสารฟลาโวนอยด์	+
กลุ่มสารแทนนิน	+
กลุ่มสารซาโปนิน	-
กลุ่มสารแอนทราควิโนน	-
+ หมายถึง ตรวจสอบพบกลุ่มสาร และ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบกลุ่มสาร	

ตารางที่ 2 ผลของการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.mutans* ATCC 25175 ของสารสกัดใบกระท่อม

สารตัวอย่าง	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
สารสกัดใบกระท่อม	3.125	100
Chlorhexidine	< 0.12	< 0.12

ตารางที่ 3 แสดงอัตราการลดลงของ pH ที่เชื้อ *S.mutans* ATCC 25175 ผลิตขึ้น เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดใบกระท่อมและ Chlorhexidine

ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระท่อม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	อัตราการลดลงของ pH (หน่วย/นาที่) (mean $\pm$ SD) (n=3)
0.0	0.087 $\pm$ 0.47
1.0	0.067 $\pm$ 0.34
1.5	0.055 $\pm$ 0.26
2.0	0.040 $\pm$ 0.29
2.5	0.032 $\pm$ 0.29
3.0	0.026 $\pm$ 0.65
Chlorhexidine	0.000 $\pm$ 0.01



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

เอกสารอ้างอิง

1. กองทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2551). รายงานผลการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพแห่งชาติ. ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพยาบาลองค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
2. Amornsuradech, S. and Vejvithee, W. (2019), Socioeconomic inequality and dental caries among Thai working age population: Analysis of Thailand National Oral Health Survey, *Journal of Health Research*. 33(6), 517-528.
3. Van H.J. (1994). Role of micro-organisms in caries etiology. *Journal of Dental Research*. 73(3), 672-681.
4. ชูติมา ไตรรัตน์วรกุล. **ทันตกรรมป้องกันในเด็กและวัยรุ่น**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: เบสท์ บุ๊คส์ ออนไลน์. 2554.
5. สุภร ตันติธรรมชัย. สาเหตุ การรักษาและการป้องกันโรคฟันผุในเด็กปฐมวัย (ECC). (2559).วารสารศูนย์การศึกษาแพทยศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลพระปกเกล้า. 33(2), 167-175.
6. เมธินี คุปพิทยานันท์ และ สุพรรณิ ศรีวิริยกุล. (2555). การสร้างเสริมสุขภาพช่องปาก ประเด็น...สู่สุขภาพที่ดีในทุกช่วงวัยของชีวิต. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพยาบาลองค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
7. เต็ม สมิตินันท์. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม**. กรมป่าไม้. 2557.
8. อาภา ศิริวงศ์ ณ อยุธยา และคณะ. (2549). **กระท่อม พืชเสพติดหรือสมุนไพร**. หน่วยวิจัยสารเสพติดและผลกระทบทางสังคม สถาบันวิจัยสังคม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
9. จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. (2554). **พืชออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท**. ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา: นีโอพ้อยท์
10. 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.
11. ศรีนรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข*. 41(3), 723-730.
12. Mostafa, A.A, et al. (2017). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25(2), 361-366.
13. กิตติศักดิ์ เหมือนดาว. (2565). การทดสอบทางพฤกษเคมีของพืชกระท่อมและการแยกไมโทราไจน์จากใบกระท่อมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน และการศึกษาความเข้าใจและทัศนคติของเจ้าหน้าที่ตำรวจต่อการถอดพืชกระท่อมออกจากบัญชียาเสพติดประเภทที่ 5. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต. สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์และงานยุติธรรม ภาควิชาสาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์และงานยุติธรรม. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
14. วราพงษ์ เสนะวีระกุล และคณะ. (2564). การตรวจพิสูจน์ Mitragynine เชิงคุณภาพในน้ำต้มกระท่อมด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี. งานประชุมวิชาการพืชกระท่อมแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1.1(1), 1-8
15. Takayama H. (2004). Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceae plant, *Mitragyna speciosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 52(8), 916-28.
16. Palombo E.A. (2011). Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011, 1-15.

17. Parthasarathy S, et al. (2009). Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. **Molecules**. 14(10), 3964–3974.
18. Juanda E, et al. (2019). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Kratom Leaf (*Mitragyna speciosa* Korth.) Against *Aeromonas hydrophilla*. **The Journal of Experimental Life Science**. 9(3), 155-158.
19. Lau B.F, (2020). Banana inflorescence: Its bio-prospects as an ingredient for functional foods. **Trends in Food Science and Technology**. 97, 14-28.

