



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มี
ส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ระยะที่ 1 ”

โดย รศ. ทพ. ดร. พสุธา ชาญญะกิจไพศาล และคณะ

เดือน กรกฎาคม ปี 2552

สัญญาเลขที่ RDG5020001

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มี
ส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ระยะที่ 1 ”

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. รศ. ทพ. ดร. พสุธา รัชฎะกิจไพศาล	คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. รศ. ภาณุ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ	คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. รศ. นสพ. ดร. วิจิตร บรรณารุรา	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชุดโครงการ “สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต”

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
(ความเห็นในรายงานเป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Executive Summary

โรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์ เป็นปัญหาหลักทางทันตสุขภาพของประชากรไทย ทุกเพศ ทุกวัย โรคดังกล่าวเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เกาะอยู่บนแผ่นคราบจุลินทรีย์บนผิวฟัน เพื่อเป็นการส่งเสริมสุขอนามัยของช่องปากและป้องกันหรือยับยั้งการเกิดโรคดังกล่าว ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากได้ถูกแนะนำเพื่อใช้ร่วมกับการแปรงฟัน

จากผลงานวิจัยที่เกิดจากความร่วมมือของรศ. ญ. ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ และ รศ. ทพ. ดร. พสุธา รัชฎะกิจไพศาล พบสารโพลีแซคคาไรด์ซึ่งสกัดจากเปลือกทุเรียน มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ เพื่อให้องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยเบื้องต้นสามารถพัฒนาไปสู่นวัตกรรมและผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพช่องปาก คณะผู้วิจัยได้นำสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมาเป็นสารออกฤทธิ์หลักของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปาก ผลของงานวิจัยพบว่ายาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารออกฤทธิ์หลัก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด มีคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมยาสีฟันและผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพร (มอก.) และมีความคงตัวในคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพ เมื่อผ่านในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน และมีความปลอดภัยเมื่อทดสอบป้ายยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากดังกล่าวในช่องปากของสัตว์ทดลองหนูแรทอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 21 วัน ในอาสาสมัครที่ทดสอบใช้น้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นเวลาติดต่อกัน 1 สัปดาห์ สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.mutans* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 65 เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการใช้น้ำยาบ้วนปากดังกล่าว อาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อ กลิ่น สี และรสชาติของน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนอยู่ในระดับดีถึงดีมาก จากข้อมูลที่ได้ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการขอจดสิทธิบัตรของสูตรของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารออกฤทธิ์หลักกับกรมทรัพย์สินทางปัญญา ผ่านทางสถาบันทรัพย์สินทางปัญญาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลที่ได้ในการศึกษารั้งนี้และกระแสการตอบรับของภาคประชาชน เช่น การได้รับเชิญออกรายการทางโทรทัศน์ สื่อวิทยุและสิ่งตีพิมพ์ การสอบถามของผู้สนใจที่โทรศัพท์มาที่คณะเพื่อขอซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว แสดงถึงความเป็นไปได้ในทางธุรกิจเพื่อผลิตและจำหน่าย ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารออกฤทธิ์หลัก นับเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่สินค้าเกษตรของทุเรียนและลดปัญหาขยะเปลือกทุเรียนมาประยุกต์ใช้ และเป็นการนำองค์ความรู้พื้นฐานวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรไทยมาประยุกต์ใช้เพื่อการป้องกันและดูแลสุขภาพช่องปากอย่างแท้จริง อย่างไรก็ตาม การทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารออกฤทธิ์หลักในทางคลินิกในระยะที่สอง รวมทั้งการออกแบบบรรจุภัณฑ์และสำรวจตลาดเพื่อค้นหากลุ่มเป้าหมายทางการตลาดเป็นสิ่งที่ควรทำการทดลองก่อนการผลิตเชิงอุตสาหกรรมเต็มรูปแบบ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่ส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคเหงือกอักเสบปริทันต์ และมีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปาก

วัสดุและวิธีการ ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนร้อยละ 8 และ 2 โดยน้ำหนัก นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ด้วยเทคนิคบรอทไคลด์ชัน ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) และทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากและความเป็นพิษต่อร่างกายในสัตว์ทดลองชนิดหนูแรท เมื่อได้รับการป้อนสารดังกล่าวเป็นเวลาติดต่อกัน 21 วัน ด้วยวิธีตรวจรอยโรคทางคลินิก ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีในเลือดและจุลพยาธิวิทยา ทดสอบประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. mutans* น้ำลายของอาสาสมัคร เมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน นำข้อมูลที่ได้แสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนทางสถิติ และวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรมทางสถิติเอสพีเอสเอส รุ่น 11 โดยวิธี ANOVA (paired t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วย และวิธีวิเคราะห์เชิงพรรณนา

ผลการศึกษา ยาสีฟันสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่ายาสีฟันเบสที่ปราศจากสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อช่องปากและอวัยวะภายในร่างกายของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับยาสีฟันสมุนไพร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับยาสีฟันเบสและน้ำเกลือ และมีคุณสมบัติทางกายภาพตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม ได้แก่ การขัดสีต่อเคลือบฟันและเนื้อฟัน ความเป็นกรดค้าง ปริมาณธาตุโลหะหนัก ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในยาสีฟัน และมีความเสถียรภาพต่อการเก็บโดยวิธีเร่งภาวะ น้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน พบมีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบสที่ปราศจากสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อช่องปากและอวัยวะภายในร่างกายของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับน้ำยาบ้วนปากสมุนไพร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำยาบ้วนปากเบสและน้ำเกลือ และมีคุณสมบัติทางกายภาพตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม ได้แก่ ปริมาณธาตุโลหะหนัก ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในน้ำยาบ้วนปาก และมีความเสถียรภาพต่อการเก็บโดยวิธีเร่งภาวะ น้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีผลยับยั้งปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ภายหลังการใช้ติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ของอาสาสมัคร และมีความพึงพอใจมากกว่าน้ำยาบ้วนปาก chlorhexidine ความเข้มข้นร้อยละ 0.2

สรุป ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคเหงือกอักเสบปริทันต์ มีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปากและอวัยวะภายในร่างกาย และมีคุณสมบัติทางกายภาพตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม

Abstract

Objective : To develop the prototype of herbal toothpaste and mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls by investigating their antimicrobial activities against cariogenic bacteria and periodontitis causing bacteria and their safety for oral tissues.

Material and method : Toothpaste and mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls at 8 and 2 percents by weight, respectively, were determined for their antimicrobial activities against *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by broth dilution technique. The physical properties of these toothpaste and mouthwash were studied following the Thai Industrial Standard (TIS). In addition, the subchronic irritants test was used to determine the toxicity and side effect via directly applied these herbal products in oral cavity of the Spaue-Dawley rats for consecutive 21 days. The efficiency of mouthwash against *S.mutans* in saliva of volunteers also investigated. The data were collected and shown in form of mean $\pm$ S.D. The SPSS program version 11 was used to determined the significant difference at $p<0.05$. The descriptive analysis was also used for histopathology and hematology.

Results: Toothpaste contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls has the significant antimicrobial activity against *S. mutans* and *A.actinomycetemcomitnas* when compared with the toothpaste base without polysaccharide ($p<0.05$). Neither toxicity nor allergic reaction of oral tissues and internal organs was detected in the experiment animals which received this herbal toothpaste for consecutive 21 days. The physical property of herbal toothpaste was passed the requirement of TIS such as abrasiveness, pH, amount of heavy metal, bacterial contamination and stability after acceleration stage. Mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls has the significant antimicrobial activity against *S. mutans* and *A.actinomycetemcomitnas* when compared with the mouthwash base without polysaccharide ($p<0.05$). In addition, the mouthwash significantly reduced amount of *S. mutans* in saliva of volunteers when consecutively use for one week ($p<0.05$). Neither toxicity nor allergic reaction of oral tissues and internal organs was detected in the experiment animals which received this herbal toothpaste for consecutive 21 days. The physical property of herbal toothpaste was passed the requirement of TIS such as amount of heavy metal, bacterial contamination and stability after acceleration stage. After continuous use of mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls for 1 week, the number of *S .mutans* of volunteers (CFU/ml) were significantly decreased. Volunteers have significantly satisfied with of mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls than mouthwash contained chlorhexidine 0.2%

Conclusion :The prototype of herbal toothpaste and mouthwash contained polysaccharide isolated from durian fruit hulls at 8 and 2 (%w/w), respectively, have the antimicrobial activity against bacteria. These prototype of herbal toothpaste and mouthwash have physical properties followed the standard industrial assignment and safety to use.

เนื้อหางานวิจัย

1. การเตรียมสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและคุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์

1.1 ตัวอย่างเปลือกทุเรียนและการสกัดสาร polysaccharide gel (PG) จากเปลือกทุเรียน

เก็บรวบรวมตัวอย่างเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทองจากศูนย์การค้ามาบุญครองและท็อปซูเปอร์มาร์เก็ตที่เกาะเนื้อทุเรียนหมอนทองขายในช่วงฤดูกาลตั้งแต่เดือน เมษายน-มิถุนายน พ.ศ. 2550 เป็นเปลือกทุเรียนจากภาคตะวันออก และช่วงเดือน กรกฎาคม-กันยายน พ.ศ. 2550 เป็นเปลือกทุเรียนจากภาคใต้ นำมาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าและอบแห้งในตู้อบเป่าลมร้อนที่ 50°C นาน 35-40 ชั่วโมงหรือจนแห้งหรือเก็บแช่แข็งที่ -20°C เพื่อใช้ภายใน 1 ปี เปลือกอบแห้งเก็บในที่เย็นจนกว่าจะนำมาใช้

1.2 การสกัดสาร polysaccharide gel (PG) จากเปลือกทุเรียน

สามารถสกัดสาร PG ได้จากเปลือกทุเรียนทั้งชนิดสดและอบแห้งตามขั้นตอนการสกัดที่มีการศึกษาไว้แล้ว (Pongsamart and Panmaung, 1998; Hokputsa et al., 2004) ดังมีวิธีการโดยย่อที่สำคัญคือ

1. ต้มเปลือกทุเรียนบดละเอียดใน deionized water ปรับ pH ประมาณ 4 ด้วย citric acid กวนสารสกัดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 100°C ประมาณ 45-60 นาที
2. กรองขณะร้อนผ่านผ้ากรอง
3. กรองผ่านเครื่อง vacuum filtration จนได้น้ำสกัดใส
4. นำน้ำสกัดของ soluble polysaccharide หรือ PG มาระเหยจนเป็นเจลข้นหนืด
5. นำมาตกตะกอน PG ใน acid-alcohol
6. กรองตะกอนด้วยผ้า nylon แล้วล้างตะกอนใน 75% ethanol กรองและบีบให้แห้ง
7. อบตะกอนให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ $50-60^{\circ}\text{C}$
8. นำมาบดละเอียดในเครื่องบด (blender) จนได้ผงแห้ง PG ประมาณ 10% ของน้ำหนักเปลือกแห้ง

2. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัด polysaccharide gel (PG)

2.1 การละลายและคุณสมบัติของ PG ในน้ำ

เตรียมสารละลาย 3% (w/v) PG ใน deionized water โดยโปรยผง PG ลงในน้ำขณะกวนตลอดเวลา PG จะค่อย ๆ พองตัวละลายในน้ำได้เป็นเจลหนืด วัดค่า pH ด้วย pH meter และวัดค่า viscosity ด้วยเครื่อง viscometer (Brookfield, U.S.A) เพื่อนำมาใช้ได้ในการพัฒนาเตรียมผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไป

2.2 คุณลักษณะของ IR Spectra ของ PG

ใช้ตัวอย่างแห้ง PG ผสมกับ KBr ในอัตราส่วน 1:75 บดให้เข้ากันในโกร่งแล้วนำมาอัดเป็นเม็ดแบนด้วยเครื่องอัดเม็ด Qwik Handi Press ได้เป็นเม็ดแบน นำ KBr pellet ไปตรวจวิเคราะห์ IR Spectrum ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectrometer (Spectrum 2000, Perkin Elmer, U.S.A) ในช่วงความยาวคลื่นที่ $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ตรวจวิเคราะห์ polysaccharide specific bands ที่บริเวณ $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ ที่ band $1016\text{--}1017\text{ cm}^{-1}$ ของ stretching hydroxyl group (C-OH) และ ที่ band $1100\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$ ของ ester carbonyl group (COOR) ที่ band $1744\text{--}1749\text{ cm}^{-1}$ และของ carboxylate group (COO⁻) ที่ band $1633\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งแสดงคุณลักษณะเฉพาะของ pectic polysaccharide (Kacurakova et al., 2000; Coimbra et al., 1998) เปรียบเทียบ FTIR Spectrum ของ pectin จาก PG ของเปลือกทุเรียน และ pectin standard จาก citrus fruit

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณ galacturonic acid ใน PG

วิเคราะห์หาปริมาณของ galacturonic acid ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลหลักใน PG โดยวิธี Spectrophotometry โดยใช้ m-hydroxydiphenyl reagent (Filisetti-Cozzi and Carpita, 1991) ใช้ตัวอย่าง PG ความเข้มข้น 0.0125% ใช้ pectin (จาก citrus peel, P9135 galacturonic acid $\geq 74.0\%$ ของ Sigma, Germany) ความเข้มข้น 0.01% เป็น positive control และ standard galacturonic acid ความเข้มข้น 50-250 nmol ในปริมาตร 0.4 ml ของตัวอย่าง PG หรือ standard หรือ control เติม 40 μl ของ 4 M sulfamic acid / potassium sulfamate pH 1.6 ผสมให้เข้ากัน เติม 2.4 ml H_2SO_4 ที่มี 75 mM sodium tetraborate ผสมให้เข้ากันนำไปต้มในน้ำเดือด 20 นาที ใช้ลูกแก้วปิดปากหลอดทดลองป้องกันการระเหย แล้วนำไปแช่ให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องโดยเร็วใน ice-bath เติม 15% (w/v) m-hydroxydiphenyl ใน 0.5 (w/v) NaOH ปริมาณ 80 μl บนชั้นของ mixture และผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที สังเกตสีชมพูที่เกิดขึ้น ซึ่งจะ stable อยู่ประมาณ 1 ชม. นำมาวัดค่า absorbance ที่ 525 nm ด้วย Spectrophotometer (Model Educator, Thermo Electron, Co., U.S.A) นำมาคำนวณหาปริมาณ galacturonic acid จาก Standard curve

2.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของ PG

ทำการวิเคราะห์หาค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ของ PG โดยวิธี Broth Microdilution Method (National Committee for clinical Laboratory Standards.) โดยใช้ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p และ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็น Tested bacteria โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียบน agar slant ของ Tryptic soy agar (TSA : ประกอบด้วย peptone from casein 17.0 g peptone from soymeal 3.0 g sodium chloride 5.0 g และ agar 15.0 g ใน distilled water 1 L pH 7.3 ± 0.2) นำไป incubate ที่ 37°C นาน 24 ชม. และเตรียม bacterial suspension โดยใช้ sterile normal saline solution (NSS) ล้างเชื้อบน agar slant นำมาเจือจางด้วย NSS จนได้ความขุ่นของ bacterial

suspension match กับ standard McFarland no. 5 (10^8 CFU/ml) เป็น stock bacterial suspension นำมาเจือจางเป็น 100 เท่า ได้เป็น test bacterial suspension (10^6 CFU/ml) ก่อนใช้

เตรียม PG ในความเข้มข้น 50-3.12 mg/ml โดยการทำ two fold serial dilution ใส่ลงใน 96 well microtitre plate หลุมละ 100 μ l และเติม 100 μ l test bacterial suspension ในแต่ละหลุมของ PG นำ microtitre plate ไป incubate ในอุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชม. นำ microtitre plate มาดูการเจริญของ bacteria โดยดูความขุ่นที่เกิดขึ้น ความเข้มข้นต่ำสุดของ PG ที่มองไม่เห็นการเจริญของ bacteria จะเป็นค่า MIC (minimum inhibitory concentration) ของ PG ทำการ subculture จากหลุมที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อลงบน agar plate ที่ไม่มี PG แล้วนำไป incubate ที่ 37 °C นาน 24 ชม. นำ agar plate มาดูการเจริญของเชื้อ หากค่า MBC (minimum bactericidal concentration) ของ PG จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ PG ที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบน agar plate PG ที่สกัดแต่ละครั้งจะนำมาทดสอบหาค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ bacteria ตัวแทนดังกล่าว ก่อนนำไปใช้เตรียมผลิตภัณฑ์อื่นๆ

2.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ของ PG

ในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718 ถูกนำมาใช้เป็นตัวแทนแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ตามลำดับ โดยแบคทีเรียทั้งสองจะถูกถ่ายเชื้อลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth (TSB) และ Brain Heart Infusion (BHI) ตามลำดับ และนำไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเป็นต้นเชื้อ โดยนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mcfarland

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ของเจลโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ด้วยวิธี broth dilution test ซึ่งดัดแปลงจาก Brock และคณะ โดยยื่อกือเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* จะถูกถ่ายลงในอาหาร TSB และ BHI ตามลำดับ ที่มีเจลโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนในความเข้มข้นที่กำหนด คือ 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 3.5 % (w/v) โดยให้แต่ละหลอดมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือ 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อ ที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเจลโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลทำลายเชื้อ (Minimum Bactericidal concentration; MBC) จากนั้นนำค่า MBC ที่ได้ไปทำ time kill analysis เก็บผลการทดลองทุก ๆ 4 ชั่วโมง โดยการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยการเกลี่ยเชื้อบนจานอาหารวุ้นเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมของแต่ละแบคทีเรีย โดยการทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

3.การเตรียมและทดสอบยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

3.1 การเตรียมยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

สูตรยาสีฟันต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน พัฒนามาจากสูตรยาสีฟันต้นแบบของคณะทันตแพทยศาสตร์จุฬา โดยมีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

ชื่อสาร	สัดส่วนร้อยละโดยน้ำหนัก (กรัม)
1. Sorbital 70% solution	22
2. Saccharin 50% solution	0.5
3. สารละลายผสม propylparaben (20%)และ methylparaben (5%)	1
4. สารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน	8
5. สาร Sodium lauryl sulphate (90% SDS)	3
6. สาร Dicalcium phosphate	38
7. Peppermint oil	0.5
8. น้ำกลั่น	เติมเพื่อให้ น้ำหนักครบร้อยละ 100

โดยสารที่ใช้ต้องเป็นระดับ food grade และมีใบ Certificate จากบริษัทผู้จำหน่ายสาร และปริมาณสารที่ใช้จะต้องไม่เกินตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก) กำหนด นำสารละลาย Sorbital, Saccharin, propylparaben, methylparaben และสารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มาผสมรวมกันด้วยเครื่องปั่นผสมสารที่มีความหนืด จนได้สารละลายที่เข้ากันเป็นเนื้อเดียว จึงนำไปอุ่นที่เครื่อง waterbath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เติมน้ำกลั่น Sodium Laryl Sulfate ลงไปและค่อยๆ คนให้เข้ากัน เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ผสมรวมกับสาร Dicalcium phosphate ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นปรุงแต่งสีกลิ่นรส ตามที่ต้องการ โดยยาสีฟันที่ได้ควรมีน้ำหนักประมาณ 100 กรัม ทำการปรับค่าความเป็นกรดด่าง ของยาสีฟัน ให้ได้ค่า 6.0

กรณียาสีฟันเบส จะเติมน้ำกลั่น carboxymethyl cellulose (CMC) แทนสารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

3.2 การตรวจวัดความเป็นกรดด่างของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

ทำการตรวจวัดความเป็นกรดด่างของยาสีฟัน ตามมาตรฐานยาสีฟัน มอก โดยนำยาสีฟันมาชั่งน้ำหนัก เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่องตรวจวัดความเป็นกรดด่าง การวัดจะทำซ้ำอย่างน้อยสามครั้ง

3.3. การตรวจประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718

วิธีทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ใช้วิธี broth dilution โดยยี่ห้อเชื้อ *S. mutans* และเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* จะถูกถ่ายลงในอาหาร tryptic soy broth และ brain heart infusion ตามลำดับ ที่มียาสีฟันเบสและยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ โดยยาสีฟันจะถูกทำให้เจือจางตามที่กำหนด (1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 และ 1/128 เท่า) โดยแต่ละหลอดจะมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือประมาณ 1×10^6 CFU/ml ผสมให้เข้ากัน และนำไปบ่มเชื้อในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 และ 60 นาที จำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตจะถูกนับด้วย drop plate technique หาค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) และค่าความเจือจางที่ยาสีฟันที่ผสมสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและยาสีฟันเบสที่ค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (mean log count) แตกต่างกันเกินหนึ่ง การทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

3.4 การทดสอบหาชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

ยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน จะนำส่งให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานในการตรวจหาชนิดและปริมาณเชื้อปนเปื้อนในยาสีฟันตามมอก.45-2549 ที่กำหนด คือ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราทั้งหมด (total colony count) คลอสทริเดียม (*Clostridium spp.*) สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) และ ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)

3.5 การพัฒนาสูตรยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารฟลูออไรด์

สูตรยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารฟลูออไรด์ พัฒนามาจากสูตรยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในหัวข้อ 3.1 โดยมีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

ชื่อสาร	สัดส่วนร้อยละโดยน้ำหนัก (กรัม)
1. Sorbital 70% solution	22
2. Saccharin 50% solution	0.5
3. สารละลายผสม propylparaben (20%)และ methylparaben (5%)	1
4. สารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน	8
5. สาร Sodium lauryl sulphate (90% SDS)	3
6. สาร Dicalcium phosphate	38
7. Peppermint oil	0.5
8. Sodium fluoride	0.22

9. น้ำกลั่น

เติมเพื่อให้น้ำหนักครบร้อย

ทำการผสม เติร์ยมและใส่สารตามที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 3.1 โดยสารจะนำมาผสมในเครื่องผสมสารชนิดหนืด (emulsifier) และเติมสาร sodium fluoride ก่อนใส่สารปรุงแต่งสีกลิ่นรส ตามที่ต้องการ และทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างของยาสีฟัน ให้ได้ค่า 6.0

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพในการขัดสีของยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์

ยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์ จะส่งให้หน่วยทดสอบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ ที่ได้รับการรองรับมาตรฐาน ISO 9001 และสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรมไทย (มอก.) เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการขัดสีผิวฟันและเนื้อฟัน ตามมาตรฐาน มอก. 45-2549 ด้วยวิธี Radio-tracer โดยย่อคือ นำฟันมนุษย์กรามน้อยซี่แรก ที่ถอนเพื่อวัตถุประสงค์ในการจัดฟัน มาทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นผ่านการอบรังสีนิวตรอนภายใต้สภาวะควบคุม ที่สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ (ปส.) และวัดค่าการขัดสีจากปริมาณฟอสฟอรัส 32 ที่ถูกขัดออกมาในสารแขวนลอยของยาสีฟันภายหลังการแปรงด้วยเครื่องแปรงฟัน โดยใช้สารมาตรฐานซึ่งรับรองโดยทันตแพทย์สมาคมแห่งสหรัฐอเมริกา (ADA) เป็นสารอ้างอิง โดยกำหนดให้สารมาตรฐานมีความสามารถในการขัดต่อเนื้อฟัน (RDA) เท่ากับ 100 และเคลือบฟัน (REA) เท่ากับ 10

จากนั้นคำนวณหาค่าปริมาณสารรังสีที่นับได้ทั้งหมดในหนึ่งนาที (Net Count Per Minute-CPM) ค่อนำหนักเป็นกรัมของยาสีฟันตัวอย่างที่ใช้ (g) จากสูตร

$$\text{Net CPM/g} = \frac{\text{ค่า CPM ของยาสีฟันตัวอย่าง} - \text{ค่า CPM ของ background}}{\text{น้ำหนักของยาสีฟันตัวอย่าง (กรัม)}}$$

background คือสารละลาย sodium carboxymethyl-cellulose 0.5% ใน glycerine 10%

จากนั้นนำค่า Net CPM/g ของยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์ มาหาค่าอัตราส่วนความสัมพันธ์ของการขัดสีต่อเนื้อฟัน (relative dentin abrasivity, RDA) และอัตราส่วนความสัมพันธ์ของการขัดสีต่อเคลือบฟัน (relative enamel abrasivity, REA)

จากสูตร

$$\text{RDA} = \frac{\text{ค่า Net CPM/g ของยาสีฟันทดสอบที่มีต่อเนื้อฟัน} \times \text{ค่าคงที่มาตรฐานของเนื้อฟัน}}{\text{ค่าเฉลี่ย Net CPM/g ของสารอ้างอิงมาตรฐาน}}$$

$$\text{REA} = \frac{\text{ค่า Net CPM/g ของยาสีฟันทดสอบที่มีต่อเคลือบฟัน} \times \text{ค่าคงที่มาตรฐานของเคลือบฟัน}}{\text{ค่าเฉลี่ย Net CPM/g ของสารอ้างอิงมาตรฐาน}}$$

โดยค่าคงที่มาตรฐานของเนื้อฟัน = 100 และค่าคงที่มาตรฐานของเคลือบฟัน = 10

3.7 การทดสอบสารโลหะปนเปื้อน

ยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์ จะนำมาตรวจสอบหาปริมาณสารธาตุโลหะหนักปนเปื้อนที่กำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม ได้แก่ ทองแดง แคดเมียม โปรท และตะกั่ว โดยส่งให้ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นหน่วยงานประเมินปริมาณสารโลหะปนเปื้อน

3.8 การทดสอบปริมาณสารฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์

ยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์ ที่เตรียมตามหัวข้อ 3.4 จะถูกนำมาวัดหาปริมาณฟลูออไรด์ตามวิธีที่ มอก. กำหนด โดยย่อคือ นำยาสีฟันตัวอย่าง 5 กรัม ผสมรวมกับ 4 มิลลิลิตร ของกรดเพอร์คลอริก (perchloric acid, 2 โมลต่อลิตร) คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูง 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที คูส่วนสารละลายใส 3 มิลลิลิตรผสมรวมกับ 1 มิลลิลิตร ของกรดเพอร์คลอริก ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา เติม 4 มิลลิลิตรของสารละลายบัฟเฟอร์ (total ionic strength adjustment buffer : Tris base 242 กรัม Sodium tartrate 230 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 1000 ml) เพื่อปรับความแรงของฟลูออไรด์ไอออน กวนผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดปริมาณฟลูออไรด์ด้วยหัวฟลูออไรด์อิเล็กโทรด นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่ากราฟมาตรฐาน

3.9 การทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและฟลูออไรด์ที่ผ่าน ภาวะเร่งในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718

ยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและยาสีฟันเบสที่ปราศจากสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียน จะจัดเตรียมตามสูตรหัวข้อ 3.4 และผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* โดยวิธี broth dilution ดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 3.3 จะถูกนำไปวางไว้ที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 จะทำการชักตัวอย่างมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองในระยะเวลาที่กำหนด การทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

3.10 การทดสอบความเป็นกรดต่างของยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียน เมื่อผ่านภาวะเร่ง

ยาสีฟันที่มีสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียนและยาสีฟันเบสที่ปราศจากสารโพสเฟตจากเปลือกทุเรียน จะจัดเตรียมตามสูตรหัวข้อ 3.4 จากนั้นนำไปวางไว้ที่ตู้อบอุณหภูมิ 45 องศา

เซลเซียส (Memmert incubator, German) เป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 จะทำการชักตัวอย่างมาตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่าง ตามมาตรฐานยาสีฟัน มอก โดยนำยาสีฟันมาชั่งหาน้ำหนักเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรดต่างด้วยเครื่องตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่าง การวัดจะทำซ้ำอย่างน้อยสามครั้ง

4. การทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน

การทดสอบการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ได้รับการพิจารณาอนุมัติโดยคณะกรรมการจริยธรรมการทดลองในสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1 สัตว์ทดลอง

หนูขาว (Sprague-Dawley rats) เพศผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 290-310 กรัม จำนวน 25 ตัว เลี้ยงแยกบนกรงๆละ 1 ตัว ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 °C ภายใต้แสงสว่าง-มืด (dark-light cycle) 12 ชม.ต่อวัน และเลี้ยงหนูด้วยอาหารเม็ด (commercial diet; CP mice feed 082) ให้อาหารและน้ำไม่จำกัดในทุกกลุ่มทดลองเป็นเวลา 3 วัน เพื่อปรับสภาพร่างกาย (acclimatization) จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเพื่อให้น้ำหนักเริ่มต้นในแต่ละ replication มีน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกันแล้วจึงเริ่มทำการทดลอง

4.2 วิธีการทดลอง

วิธีการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปาก พัฒนาและดัดแปลงจาก Roy และคณะ (1986) แบ่งหนูทดลองออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง (treatment) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ป้ายด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เป็นกลุ่มควบคุม (Control) จำนวน 5 ตัว
- กลุ่มที่ 2 ป้ายด้วยยาสีฟันที่มีสารพื้นฐาน (base) (Base) จำนวน 10 ตัว
- กลุ่มที่ 3 ป้ายด้วยยาสีฟันที่มีผสมสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8 (Durian) จำนวน 10 ตัว

วิธีการทดลองโดยการป้ายยาสีฟันปริมาณ 0.6 กรัม ที่บริเวณกระพุ้งแก้ม ริมฝีปาก เหงือก ลิ้น และเพดานปาก ด้วยแท่งปลายพันสำลีปราศจากเชื้อ (cotton swab) วันละ 1 ครั้ง นาน 21 วัน โดยการเหนี่ยวนำกระพุ้งแก้มด้วยซ้ำ ด้วยการขูดเยื่อช่องปากด้วยเครื่องมือขูดหินปูน (Greycy curette no. 3) เพื่อให้เกิดการระคายเคืองเป็นแผลแดงในวันแรกของการทดลอง วิธีการในการสร้างความระคายเคืองและก่อนการป้ายยาในแต่ละวัน จะวางยาสลบหนูด้วยการดมยาสลบ isoflurane (Baxter, Pearto Rico) ในกล่องดมยาสลบ เพื่อลดความเครียดในการจับบังคับ และตรวจอาการและรอยโรครายในช่องปาก เก็บบันทึกข้อมูล

สุนัขทดลองจากกลุ่มควบคุมจำนวน 1 ตัว และกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 จำนวนกลุ่มละ 2 ตัว ในวันที่ 3, 7, 14 ของการทดลอง และในวันที่ 21 เป็นวันสุดท้ายของการทดลอง สุนัขทดลองจากกลุ่มควบคุมจำนวน 2 ตัว และกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 จำนวนกลุ่มละ 4 ตัว ทำการดมยาสลบด้วย isoflurane เกินขนาด ทำการชั่งน้ำหนัก และเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยา และค่าเคมีในซีรัม ทำการชันสูตรซาก ตรวจรอยโรค และเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากช่องปาก ประกอบด้วยกระพุ้งแก้มด้านซ้ายและขวา ริมฝีปากบนและล่าง ลิ้น เพดานปากแข็งและอ่อน และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรล่าง (submandibular salivary gland) รวมทั้งอวัยวะภายใน ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็กส่วนต้น ตับอ่อนและอวัยวะอื่น ๆ แฉ่งลงในสารบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ (10% buffered formalin) เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชม.

4.3 การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology)

นำชิ้นเนื้อที่ผ่านการตรึงมาตัดแต่ง และนำตัวอย่างที่ได้ผ่านขบวนการเตรียมสไลด์ทางจุลพยาธิวิทยา โดยล้างชิ้นเนื้อด้วยน้ำ (washing) แล้วดึงน้ำออก (dehydration step) โดยใช้ alcohol ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ จาก 50 %, 70 %, 90 % จนถึง absolute alcohol จากนั้นทำให้เนื้อเยื่อใส (clearing) โดยใช้ไซลีน (xylene) และทำการฝังชิ้นเนื้อเยื่อลงในก้อนพาราฟิน (embedding step) แล้วตัดเนื้อเยื่อให้เป็นแผ่นบางด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Ultramicrotome machine) ให้หนาประมาณ 4 ไมครอน นำชิ้นเนื้อเยื่อที่ตัดได้ไปวางบนแผ่นสไลด์ (affixing) และละลายพาราฟินออกจากแผ่นเนื้อเยื่อ (deparaffinization step) โดยใช้สาร Xylene และผ่านขบวนการนำน้ำกลับเข้าเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์ด้วยไซลีนและแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ (rehydration step) ย้อมสีด้วย Hematoxylin และ Eosin (H&E) ผนึกแผ่นเนื้อเยื่อด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ cover glass (mounting step) แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ทำการประเมินผลรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ โดยประเมินจากรอยโรคจากชั้นเยื่อบุ (epithelium) ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (lamina propria และ submucosa) และชั้นกล้ามเนื้อ (muscular layer) โดยให้คะแนนรอยโรคแบ่งเป็น 4 ระดับ คือ 0 = ไม่พบรอยโรค (0%), +1 = พบรอยโรคน้อย ($\leq 30\%$), +2 = พบรอยโรคปานกลาง (30-70%) และ +3 = พบรอยโรครุนแรง ($\geq 70\%$)

โดยการเปลี่ยนแปลงของชั้นเยื่อบุผิว ได้แก่ การเป็นแผล (ulceration), การหนาตัวขึ้นของชั้นเยื่อบุผิว (hyperkeratosis), dyskeratosis, dysplasia, acanthosis, vesicle formation, microabscess formation, change in pigmentation, epithelial atypia basement membrane alternation, changes in pigmentation, hyperplasia, metaplasia or neoplasia ส่วนการเปลี่ยนแปลงของชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ได้แก่ การแดงซ้ำ (hyperemia), หลอดเลือดมีการขยายตัว (vasodilation), การบวม (edema), การพบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในเนื้อเยื่อ (inflammatory cell infiltration), การหนาตัวของเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrosis), การมีเลือดออกในเนื้อเยื่อ (hemorrhage), foreign body formation, cyst formation ส่วนการเปลี่ยนแปลงของชั้นเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ได้แก่ การเสื่อมถอยของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber degeneration)

4.4 การวิเคราะห์ผล

น้ำหนักตัวของหนูทดลองนำมาคำนวณหาอัตราน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีในเลือด และผลทางจุลพยาธิวิทยา นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองโดยวิธีวิเคราะห์เชิงพรรณนา

5.การเตรียมและทดสอบน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

5.1 การเตรียมน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

สูตรน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

ชื่อสาร	สัดส่วนร้อยละโดยน้ำหนัก (กรัม)
1. สารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน	2
2. สารละลาย Sodium lauryl sulphate (10% SDS)	0.5
3. สารละลาย Saccharin (50%)	0.005
4. สารละลายผสม propylparaben (20%)และ methylparaben (2%)	0.5
5. Peppermint oil	0.05
6. Menthol	0.01
7. Alcohol 95%	5
7. น้ำกลั่น	เติมเพื่อให้ น้ำหนักครบร้อยละ

โดยสารที่ใช้ต้องเป็นระดับ food grade และมีใบ Certificate จากบริษัทผู้จำหน่ายสาร และปริมาณสารที่ใช้จะต้องไม่เกินตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก) กำหนดในองค์ประกอบของยาสีฟัน นำสารละลาย Saccharin, propylparaben, methylparaben และสารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนมาผสมรวมกันในบีกเกอร์ ผสมจนได้สารละลายที่เข้ากันเป็นเนื้อเดียว จากนั้นเติมสารละลาย Sodium Laryl Sulfate ลงไปและค่อยๆคนให้เข้ากัน เป็นเวลา 5 นาที เติมสารปรุงแต่งกลิ่นรสตามที่กำหนด โดยน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่ได้ควรมีน้ำหนักประมาณ 100 กรัม ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman ® filter paper No.2, catalog number 1002- 185, England)

กรณีน้ำยาบ้วนปากเบส จะเติมน้ำกลั่นแทนสารละลายเจลโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC

วิธีทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ใช้วิธี broth dilution โดยย้อมเชื้อ *S. mutans* และเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* จะถูกถ่ายลงในอาหาร tryptic soy broth และ brain heart infusion ตามลำดับ ที่มีน้ำยาบ้วนปากเบสและน้ำยาบ้วนปากที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ โดยแต่ละหลอดจะมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันคือประมาณ 1×10^6 CFU/ml ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มเชื้อในตู้เพาะเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตจะถูกนับด้วย drop plate technique หาค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (mean log count) แยกต่างหากกันหนึ่ง การทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

5.3 การทดสอบสารโลหะปนเปื้อน

น้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน จะนำมาตรวจสอบหาปริมาณสารธาตุโลหะหนักปนเปื้อน ได้แก่ ทองแดง แคดเมียม ปรอท และตะกั่ว โดยส่งให้ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นหน่วยงานประเมินปริมาณสารโลหะปนเปื้อน

5.4 การทดสอบหาชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

น้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน จะนำส่งให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานในการตรวจหาชนิดและปริมาณเชื้อปนเปื้อนในยาเสพติดตามมอก.45-2549 ที่กำหนด คือ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราทั้งหมด (total colony count) คลอสทริเดียม (*Clostridium spp.*) สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เอสเชอริเชีย โคลิ (*Escherichia coli*) และ พิวโดโมแนส แอโรจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)

5.5 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่ผ่านภาวะแรงในการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175 และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718

น้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและน้ำยาบ้วนปากเบสที่ปราศจากสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน จะจัดเตรียมตามสูตรหัวข้อ 5.1 และผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* โดยวิธี broth dilution ดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 5.2 จะนำไปวางไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 จะทำการชักตัวอย่างมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองในระยะเวลาที่กำหนดคือ 1 นาที เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 การทดลองจะถูกทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

6. การทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน

การทดสอบการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ได้รับการพิจารณาอนุมัติโดยคณะกรรมการจริยธรรมการทดลองในสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยวิธีเตรียมสัตว์ทดลอง การทดสอบ การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ การเก็บตัวอย่างเลือด ตลอดจนเทคนิคทางจุลพยาธิวิทยา จะใกล้เคียงกับวิธีการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปากของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ในหัวข้อ 4

6.1 สัตว์ทดลอง

หนูขาว (Sprague-Dawley rats) เพศผู้ อายุ 7-8 สัปดาห์ น้ำหนักประมาณ 290-310 กรัม จำนวน 15 ตัว เลี้ยงแยกบนกรงๆละ 1 ตัว ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 °C ภายใต้แสงสว่าง-มืด (dark-light cycle) 12 ชม.ต่อวัน และเลี้ยงหนูด้วยอาหารเม็ด (commercial diet; CP mice feed 082) ให้อาหารและน้ำไม่จำกัดในทุกกลุ่มทดลองเป็นเวลา 7 วัน เพื่อปรับสภาพร่างกาย (acclimatization) จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเพื่อให้น้ำหนักเริ่มต้นในแต่ละ replication มีน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกันแล้วจึงเริ่มทำการทดลอง

6.2 วิธีการทดลอง

วิธีการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปาก พัฒนาและดัดแปลงจาก Roy และคณะ (1986) แบ่งหนูทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ป้อนด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เป็นกลุ่มควบคุม (Control) จำนวน 5 ตัว
- กลุ่มที่ 2 ป้อนด้วยสารพื้นฐาน (base) ที่ใช้ผสมในน้ำยาบ้วนปาก เป็นกลุ่มยาหลอก (Placebo) จำนวน 5 ตัว
- กลุ่มที่ 3 ป้อนด้วยน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นกลุ่มทดสอบ (Durian-mouthwash) จำนวน 5 ตัว

วิธีการทดลองโดยการป้อนน้ำยาบ้วนปาก 0.5 มิลลิลิตร ด้วยไซริงค์กระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร วันละ 1 ครั้ง นาน 21 วัน โดยวางยาสลบหนูด้วยการดมยาสลบ isoflurane (Baxter, Pearto Rico) ในกล่องดมยาสลบ เพื่อลดความเครียดในการจับบังคับ และตรวจอาการและรอยโรครภายในช่องปาก จากนั้นรอเวลาเพื่อให้หนูทดลองเกือบฟื้นจากการสลบจึงป้อนน้ำยาบ้วนปากลงบนลิ้น เพื่อให้เกิดความใกล้เคียงกับกับการบ้วนปากในคน และบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของเยื่อช่องปาก อาการแสดงทางคลินิกในช่วงเวลา 48 ชั่วโมงแรกสำหรับความเป็นพิษเฉียบพลัน และครบ 21 วันสำหรับการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปาก

ในวันที่ 21 เป็นวันสุดท้ายของการทดลอง ทำการุณฆาตด้วยการดมยาสลบ isoflurane เกินขนาด ทำการชั่งน้ำหนัก และเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยา และค่าเคมีในซีรัม ทำการชันสูตรซาก ตรวจรอยโรค และเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากช่องปาก ประกอบด้วยกระพุ้งแก้มด้านซ้ายและขวา ริมฝีปากบนและล่าง ลิ้น เพดานปากแข็งและอ่อน และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรล่าง (submandibular salivary gland) รวมทั้งอวัยวะภายใน ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็กส่วนต้น ตับอ่อนและอัมพะ เชล่งในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ (10% buffered formalin) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

6.3 การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology)

นำตัวอย่างที่เก็บ มาทำการตัดแต่งและผ่านขบวนการเตรียมสไลด์ทางจุลพยาธิวิทยา ตามวิธีมาตรฐานทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยเครื่องเตรียมเนื้อเยื่อ (tissue processor; Shandon; Germany) โดยสังเขปดังนี้ คือ ล้างชิ้นเนื้อด้วยน้ำ (washing) แล้วดึงน้ำออก (dehydration step) โดยใช้ แอลกอฮอล์ (methyl alcohol) ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ จาก 50 %, 70 %, 90 % จนถึง absolute alcohol (100%) จากนั้นทำให้เนื้อเยื่อใส (clearing step) โดยแช่ในไซลีน (xylene) และพาราฟิน และทำการฝังชิ้นเนื้อเยื่อลงในก้อนพาราฟิน (embedding step) แล้วตัดเนื้อเยื่อให้เป็นแผ่นบางด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Ultramicrotome machine) ให้หนาประมาณ 4 ไมครอน นำชิ้นเนื้อเยื่อที่ตัดได้ไปวางบนแผ่นสไลด์ (affixing step) และละลายพาราฟินออกจากแผ่นเนื้อเยื่อ (deparaffinization step) โดยแช่ในสารไซลีนและผ่านขบวนการนำน้ำกลับเข้าเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์ด้วยไซลีนและแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ (rehydration step)

จากนั้นนำสไลด์เนื้อเยื่อดังกล่าวย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin (H&E staining) ตามวิธีมาตรฐาน ผนึกแผ่นเนื้อเยื่อด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ (mounting step) แล้วนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ทำการประเมินผลรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ โดยประเมินจากรอยโรคจากชั้นเยื่อบุ (epithelium) ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (lamina propria และ submucosa) และชั้นกล้ามเนื้อ (muscular layer) โดยให้คะแนนรอยโรคแบ่งเป็น 4 ระดับ คือ 0 = ไม่พบรอยโรค (0%), +1 = พบรอยโรคน้อย ($\leq 30\%$), +2 = พบรอยโรคปานกลาง (30-70%) และ +3 = พบรอยโรครุนแรง ($\geq 70\%$) โดยการเปลี่ยนแปลงของชั้นเยื่อบุผิว ได้แก่ การเป็นแผล (ulceration), การหนาตัวขึ้นของชั้นเยื่อบุผิว (hyperkeratosis), dyskeratosis, dysplasia, acanthosis, vesicle formation, microabscess formation, change in pigmentation, epithelial atypia basement membrane alternation, changes in pigmentation, hyperplasia, metaplasia or neoplasia ส่วนการเปลี่ยนแปลงของชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ได้แก่ การแดงซ้ำ (hyperemia), หลอดเลือดมีการขยายตัว (vasodilation), การบวม (edema), การพบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในเนื้อเยื่อ (inflammatory cell infiltration), การหนาตัวของเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrosis), การมีเลือดออกในเนื้อเยื่อ (hemorrhage), foreign body formation, cyst formation ส่วนการเปลี่ยนแปลงของชั้นเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ได้แก่ การเสื่อมถอยของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber degeneration)

6.4 การวิเคราะห์ผล

น้ำหนักตัวของหนูทดลองนำมาคำนวณหาอัตราน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) ค่าเคมีในเลือด วิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองโดยวิธีการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี ANOVA (paired t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS v.11 ค่าทางโลหิตวิทยา และผลทางจุลพยาธิวิทยา โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองโดยวิธีวิเคราะห์เชิงพรรณนา

7. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนในการลดจำนวนเชื้อสเตรปโตคอกคัสมีวแทนส์ในน้ำลายเทียบกับน้ำเกลือปราศจากเชื้อ

7.1 การเตรียมและคัดเลือกอาสาสมัคร

การทดสอบได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ โดยกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ นิสิตคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 78 คน ซึ่งมีอายุระหว่าง 18-23 ปี โดยเกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างคือ

1. กลุ่มตัวอย่างทุกคนจะต้องมีสุขภาพช่องปากที่ดี ไม่มีโรคทางระบบ
2. ไม่มีพฤติกรรมเสี่ยงอันจะนำไปสู่การแปรผลที่ผิดพลาด เช่น สูบบุหรี่ กินยารักษาโรค
3. มีจำนวนเชื้อสเตรปโตคอกคัสมีวแทนส์ในน้ำลาย ไม่ต่ำกว่า 10,000 โคโลนีต่อมิลลิกรัม

(CFU/ml)

โดยกลุ่มตัวอย่างจะได้รับการชี้แจงถึงระเบียบวิธีการวิจัยอย่างละเอียด พร้อมทั้งลงลายมือชื่อแสดงความยินยอมในแบบฟอร์มจริยธรรมและสามารถยกเลิกการยินยอมเข้าร่วมการวิจัยได้

7.2 ขั้นตอน และกระบวนการการทดลองเพื่อเก็บน้ำลายตัวอย่างจากอาสาสมัคร

ในวันแรกของการทำการศึกษาจะให้อาสาสมัครมาพบกันในตอนเช้า โดยห้ามทำการแปรงฟันหรือทำความสะอาดช่องปากด้วยวิธีการใด ๆ เป็นพิเศษ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายลงในภาชนะที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ จากนั้นทำการสุ่มจับสลากเพื่อแบ่งกลุ่มและให้อาสาสมัครใช้น้ำยาบ้วนปากที่กำหนดโดยกลั้วน้ำยาบ้วนปากนาน 1 นาที ทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายหลังจากใช้น้ำยาบ้วนปากเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยระหว่างช่วงเวลานี้อาสาสมัครห้ามรับประทานอาหาร ดื่มเครื่องดื่ม หรือเคี้ยวหมากฝรั่ง ยกเว้นการดื่มน้ำเปล่าได้เพียงอย่างเดียว หลังจากนั้นจะให้อาสาสมัครนำน้ำยาบ้วนปากที่กำหนดไปใช้เป็นเวลา 7 วันติดต่อกัน โดยการใช้วันละ 2 ครั้งคือหลังแปรงฟันตอนเช้าและตอนเย็นด้วยการกลั้วปากนานเป็นเวลา 1 นาที เมื่อครบกำหนด 1 สัปดาห์จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายอีกครั้งเพื่อตรวจวัดปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลาย

7.3 การตรวจวัดหาปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลาย

น้ำลายที่ได้จะถูกนำมาผ่านขั้นตอนกระบวนการดังนี้ นำน้ำลายตัวอย่างมาปั่นที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นดูดส่วนใสของน้ำลายมาทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:10 (Serial

dilution) เขย่าให้ทำกัน นำสารละลายมาเกลี่ยบนจานอาหารที่มีอาหารเลี้ยงแบคทีเรียชนิด *Mitis salivarius* agar ที่มีสาร bacitracin ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำจานเพาะเชื้อที่ได้ไปบ่มในตู้เพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทุกตัวอย่างจะทำซ้ำอย่างละ 2 ครั้ง จากนั้นทำการคำนวณหาปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายที่ได้ เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อก่อนเริ่มการทดลองของอาสาสมัครคนเดียวกัน

8. การสอบถามความพึงพอใจต่อกลิ่น สี และรสชาติของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน และน้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก

อาสาสมัครจะต้องใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนหรือน้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine 0.2% โดยกลืนน้ำยาบ้วนปากนาน 1 นาที จากนั้นจะทำการตอบแบบสอบถามเกี่ยวกับความพึงพอใจต่อ กลิ่น สีและรสชาติต่อน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine ร้อยละ 0.2 ด้วยวิธีการให้คะแนน (0 = ไม่พึงพอใจอย่างมาก unsatisfactory , 1 = ไม่พึงพอใจ less unsatisfactory, 2 = พอใจ satisfactory , 3 = ชอบ more satisfactory, 4 = ชอบมากๆ the most satisfactory)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสกัดสาร polysaccharide gel (PG) จากเปลือกทุเรียน

ทำการสกัดสาร PG จากเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่บดละเอียดและอบแห้ง จำนวน 10 ครั้ง ได้สารสกัด PG แต่ละครั้งดังแสดงผลในตารางที่ 1 ได้ % yield ของ PG อยู่ในช่วง 9.2-11.3 สารละลาย 3% PG ในน้ำ มีความหนืดอยู่ในช่วง 334-2016 cps โดยผลจากการสกัดครั้งที่ 6 พบมีความหนืดสูงถึง 2016 cps โดยเฉลี่ยมีความเป็นกรด-ด่าง ที่ 2.3-2.6 การสกัดสาร PG จากเปลือกทุเรียนมีการทดลองศึกษามานานแล้ว (Pongsamart and Panmaung, 1998) พบว่ามีประโยชน์ใช้ได้กว้างด้านอาหารและยา ในการศึกษาต่อมาพบว่า PG จากเปลือกทุเรียนเป็นสารโมเลกุลใหญ่ของ polysaccharide ประเภท pectic polysaccharide (Hokputsa et al., 2004) มีองค์ประกอบหลักเป็น polygalacturonic acid ต่อกันเป็นสายยาวของ (1,4) α -galacturonic acid นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลอื่น ๆ ได้แก่ arabinose rhamnose fructose galactose และ glucose ซึ่งอาจอยู่ภายในและอยู่เป็น branch chain ของ pectic polysaccharide สาร pectic polysaccharide หรือ PG จากเปลือกทุเรียนจะเหมือนสารพวก pectin ที่สกัดได้จากเปลือกส้มและแอปเปิ้ลซึ่ง commercial pectin จากเปลือก citrus เป็น standard ที่ความเข้มข้น 3% w/v มีความหนืดเท่ากับ 305.55 ± 15.32 cps ซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องจากเป็น pectin ที่บริสุทธิ์และมีองค์ประกอบของ polygalacturonic acid ที่ต่างจาก PG จากเปลือกทุเรียนซึ่งมี branch chain sugars มากกว่า จึงทำให้สารละลายน้ำของ PG จึงมีความหนืดสูงกว่า (Hokputsa et al, 2004) PG มีคุณสมบัติพองตัวละลายในน้ำได้เป็นสารข้นหนืด เหมาะสมนำไปใช้ได้กว้างในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยา อาหาร และเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์ PG ที่จะนำมาใช้ได้จากการเตรียมหลายครั้ง เมื่อผสมกันแล้วให้ได้ PG ที่มีความหนืดของ 3% PG ในช่วง 1004.6 ± 528.1 cps

2. การวิเคราะห์ FTIR Spectrum ของ PG

นำสารสกัด PG มาวิเคราะห์ลักษณะ pattern ของ FTIR Spectrum ของ pectic polysaccharide เปรียบเทียบกับ standard pectin จาก citrus fruit ด้วยเครื่อง FTIR Spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น $400-4000\text{ cm}^{-1}$ จากผลการทดลองในรูปที่ 1. แสดง pattern ของ FTIR Spectrum ของ PG จากเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง พบมี polysaccharide specific band ที่บริเวณ $1200-1000\text{ cm}^{-1}$ ที่ band 1017 cm^{-1} แสดงให้เห็น stretching hydroxyl group (C-OH) และที่ band 1103 cm^{-1} เป็นของ glycosidic bond (C-O-C) จะเห็น band ที่แสดงถึง functional group ของ pectic polysaccharide ที่บริเวณ $1750-1630\text{ cm}^{-1}$ ได้แก่ ที่ band 1747 cm^{-1} ของ ester carbonyl group (COOR) และที่ band 1633 cm^{-1} ของ carboxylate group (COO⁻) (Kacurakova et al., 2000; Coimbra et al., 1998) PG ที่สกัดทิ้งไว้เป็นระยะเวลาต่าง ๆ ที่ 6, 12 และ 24 เดือน ของสารสกัด PG m6, PG m12 และ PG m24 ตามลำดับ แต่ละตัวอย่าง แสดง pattern ของ FTIR Spectrum ของ pectic polysaccharide ไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับ standard pectin ดังแสดงในรูปที่ 2 จะเห็น polysaccharide specific band ที่บริเวณ $1200-1000\text{ cm}^{-1}$ ที่

band 1016-1017 cm^{-1} (C-OH) และที่ band 1103-1104 cm^{-1} (C-O-C) และแสดง band ของ pectic polysaccharide ที่บริเวณ 1750-1630 cm^{-1} คือที่ band 1744-1749 cm^{-1} (COOR) และที่ band 1625-1635 cm^{-1} (COO⁻) แสดงว่า PG ที่เก็บไว้นานถึง 2 ปี ยังแสดงคุณสมบัติของ pectic polysaccharide และให้ FTIR Spectrum ที่เหมือนกับ Standard pectin ไม่พบมี band ใหม่เกิดขึ้นที่ต่างจาก Standard pectin เมื่อสกัด PG ที่ไว้นาน 2 ปี

3. ปริมาณของ galacturonic acid ใน PG

นำสารสกัด PG มาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของน้ำตาลหลัก คือ galacturonic acid ใน PG โดยปฏิกิริยาของ uronic acid ในกรด sulfuric acid เข้มข้น กับ m-hydroxydiphenyl reagent ได้สาร chromogens สีชมพู วัดค่า absorbance ที่ 525 nm เปรียบเทียบกับ standard galacturonic acid วิธีนี้เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ uronic acid ใน pectin ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดโดยเฉพาะ neutral sugars ที่มัก interfere การวิเคราะห์ในปฏิกิริยาที่ใช้ carbazole reagent ในการวิเคราะห์ uronic acid ผลการวิเคราะห์ปริมาณ galacturonic acid ใน PG สกัดจากเปลือกทุเรียนแห้งพันธุ์หมอนทอง พบว่า PG มีปริมาณร้อยละ galacturonic acid เท่ากับ 67.49930 ± 4.74352 (ตารางที่ 2) ซึ่งใกล้เคียงกับผลที่เคยศึกษาแล้ว (Hokputsa et al, 2004) ขณะที่ commercial pectin มีปริมาณ galacturonic acid เท่ากับร้อยละ 93.381 ± 9.078

4.ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของ PG

ทดสอบความคงตัวของฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของ bacteria ของ PG โดยวิธี Broth microdilution method หาค่า MIC และ MBC ของ PG ได้ผลดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 3 พบว่า ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้เป็นตัวแทน คือ *S. aureus* และ *E. coli* ของ PG ไม่เปลี่ยนแปลงแม้จะสกัด PG ที่ไว้นาน 1 ปี แต่เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 2 ปี ค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ลดลง การสกัด PG แต่ละครั้งจะนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวแทน *E. coli* และ *S. aureus* ก่อนนำมาใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ต่อไป PG สามารถยับยั้งการเจริญของ bacteria หลายชนิด ที่มีการศึกษาแล้ว ได้แก่ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. leutea*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Propionibacterium acne*, *Lactobacillus pentosus*, *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และเกือบทั้งหมดของ bacterial isolates ของ *Staphylococci*, *Streptococci*, *Pseudomonas*, *E. coli* และ *Klebsiella pneumoniae* จากเต้านมวัวอักเสบ (Pongsamart et al., 2005; Pongsamart et al., 2006; ผกาวัลย์ มุสิกพงศ์ และคณะ, 2548; Lipan et al., 2006) สาร PG ที่เก็บไว้ในระยะเวลาต่างๆ พบว่า PG มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบสม่ำเสมอ (ตารางที่ 3)

5. เจลโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus mutans* และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

จากการทดลองพบว่า จำนวนแบคทีเรีย *S. mutans* ที่ทดสอบด้วยเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5 และ 2 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนเท่ากับ 3.95×10^8 , 3.02×10^9 , 2.77×10^7 , 3.33×10^7 , 8.73×10^5 และ 1.16×10^3 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ และไม่พบการเจริญของเชื้อเลยที่ความเข้มข้น 3.5% โดยจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นมีค่า 10^5 โคโลนีต่อมิลลิเมตร (รูปที่ 3)

ส่วนเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* จากการทดลองพบว่า จำนวนแบคทีเรียที่ทดสอบด้วยเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5 และ 2 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนเท่ากับ 9.61×10^8 , 1.18×10^9 , 6.54×10^8 , 3.57×10^7 , 1.25×10^4 , 4.63×10^2 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 3.5% โดยจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นมีค่า 10^5 โคโลนีต่อมิลลิเมตร (รูปที่ 3)

จากวิธี time kill analysis พบว่า ที่เวลา 4 ชั่วโมง ประสิทธิภาพของทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 3.5% ที่มีปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5 , 10^7 และ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิเมตร คือ ร้อยละ 100, 99.9998 และ 99.9991 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ในขณะที่ประสิทธิภาพของทำลายเชื้อแบคทีเรีย *A. actinomycetemcomitans* ของเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 3.5% ที่มีปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^5 , 10^7 และ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิเมตร คือ ร้อยละ 100, 99.9995 และ 99.9991 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

6. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีลักษณะและความเป็นกรด-ด่างตาม มอก (45-2549)

ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีลักษณะเป็นของเหลวข้น (paste) เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีการแยกตัวออกมาของสารประกอบที่ใส่ลงไปในยาสีฟัน โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับยาสีฟันชนิดเหลวข้นที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาด

เมื่อตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.57 ± 0.01

7. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่ายาสีฟันเบสที่ปราศจากสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

ในการทำลายเชื้อ *S. mutans* พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 8 และ 16 ตามลำดับ ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 4 และ 8 ตามลำดับ

ที่ระยะเวลา 5 นาที ระดับความเจือจาง 8 และ 16 ยาสีฟันที่ใส่โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน สามารถทำลายเชื้อ *S. mutans* แตกต่างจากยาสีฟันเบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ส่วนที่ระยะเวลา 60 นาที ระดับความเจือจาง 16 ยาสีฟันที่ใส่โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน สามารถทำลายเชื้อ *S. mutans* แตกต่างจากยาสีฟันเบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ส่วนประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 16 และ 32 ตามลำดับ ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 8 และ 16 ตามลำดับ

ที่ระยะเวลา 5 นาที ระดับความเจือจาง 16 และ 32 ยาสีฟันที่ใส่โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน สามารถทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* แตกต่างจากยาสีฟันเบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) ส่วนที่ระยะเวลา 60 นาที ระดับความเจือจาง 16, 32 และ 64 ยาสีฟันที่ใส่โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน สามารถทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* แตกต่างจากยาสีฟันเบสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7)

8. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมไทย

ผลจากการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในยาสีฟัน โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบจำนวนแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราทั้งหมด มีปริมาณน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ไม่พบเชื้อคลอสตริเดียม (*Clostridium spp.*) เชื้อสตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เชื้อ *Candida albicans* และเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) ปนเปื้อนในยาสีฟัน ซึ่งผลที่ได้เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดในมอก. 45-2549 (เอกสารแนบหมายเลข 1)

9. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีลักษณะและความเป็นกรด-ด่างตาม มอก (45-2549)

ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีลักษณะเป็นของเหลวข้น (paste) เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีการแยกตัวออกมาของสารประกอบที่ใส่ลงไปในยาสีฟัน โดยมีลักษณะคล้ายคลึงกับยาสีฟันชนิดเหลวข้นที่จำหน่ายอยู่ในท้องตลาด

เมื่อตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.62 ± 0.03

เมื่อตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่ง เป็นเวลา 4 เดือน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.52 ± 0.02

10. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *S.mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่ายาสีฟันเบส

ในการทำละลายเชื้อ *S. mutans* พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 32 และ 64 ตามลำดับ ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 16 และ 32 ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ส่วนประสิทธิภาพในการทำละลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 16 ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที มีค่าเท่ากับ 8 (ตารางที่ 9)

11. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและโซเดียมฟลูออไรด์ มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *S.mutans* ดีกว่ายาสีฟันเบส เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน (ตารางที่ 10-13)

เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่ทำให้จำนวนแบคทีเรีย *S.mutans* เป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 นาที มีค่าเท่ากับ 32, 32, 32 และ 8 ตามลำดับ ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 นาที มีค่าเท่ากับ 16, 16, 8 และ 4 ตามลำดับ

เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 64, 32, 32 และ 16 ตามลำดับ ส่วนค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ 32, 16, 16 และ 8 ตามลำดับ

12. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่ายาสีฟันเบส เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน (ตารางที่ 14-17)

เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ พบค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่ทำให้จำนวนแบคทีเรีย *A. actinomycetemcomitans* เป็นศูนย์ (Maximum Inhibitory Dilution) ที่ระยะเวลา 5 นาที มีค่าเท่ากับ 16,

8, 8 และ 4 ตามลำดับ ส่วนค่าความเงาสูงสุดของยาสีฟีนเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 นาที มีค่าเท่ากับ 8, 4, 8 และ 4 ตามลำดับ

เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ค่าความเงาสูงสุดของยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับคือ 16 ส่วนค่าความเงาสูงสุดของยาสีฟีนเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 60 นาที มีค่าเท่ากับ คือ 8

13. ยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีค่าการขัดสีต่อเคลือบฟันและเนื้อฟันอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมยาสีฟีนกำหนด (RDA 100 และค่า REA = 10)

จากการสังเกตการขัดสีของยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ พบค่า RDA = 82.82 ± 19.62 (n = 8) และ ค่า REA = 1.13 ± 0.32 (n = 8) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการขัดสีของสารอ้างอิงมาตรฐานที่กำหนดไว้ (เอกสารแนบหมายเลข 2) โดยตามมาตรฐานกำหนดให้ค่าการขัดสีของยาสีฟีนตัวอย่างต้องมีค่า REA ไม่เกิน 4 เท่า และค่า RDA ไม่เกิน 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารอ้างอิงมาตรฐาน

14. ยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ มีปริมาณสารโลหะหนักปนเปื้อนน้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมยาสีฟีนกำหนด

จากการสังเกตวัดสาร โลหะหนัก พบมีปริมาณสารแคดเมียม (Cd) ทองแดง (Cu) และตะกั่ว (Pb) น้อยกว่า 0.05, 0.3 และ 0.3 ppm ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ที่ 0.3, 20 และ 1 ppm (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ (เอกสารแนบ หมายเลข 3)

15. ปริมาณแอกทีฟฟลูออไรด์ไอออนของยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและโซเดียมฟลูออไรด์ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมไทย (มอก. 45-2549)

จากการตรวจวัดหาปริมาณแอกทีฟฟลูออไรด์ไอออนเฉลี่ยทั้งหมด พบมีค่า $1,048.33 \pm 5.69$ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดค่าปริมาณแอกทีฟฟลูออไรด์ไอออนทั้งหมดคือ 500 – 1,100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

16. ผลของน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือด ของหนูที่ได้รับการป้อนยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) พบว่า หนูทดลองในกลุ่มทดลองที่ได้รับการป้อนยาสีฟีนต้นแบบที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาสีฟีนที่มีสารพื้นฐานอย่างเดียวในทุกกลุ่มการทดลองแต่ละวันที่ทำการชันสูตร ดังแสดงในตารางที่ 18

ส่วนค่าทางโลหิตวิทยา และค่าเคมีในเลือด จะแสดงในตารางที่ 19 และ 20 ตามลำดับ ซึ่งแสดงผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง และระหว่างวันที่ทำการทดลอง พบว่าค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดอยู่ในช่วงปกติและไม่มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่พบว่าค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงและค่าความอัดแน่นของเม็ดเลือดในทุกกลุ่มการทดลองมีค่าต่ำกว่าค่าปกติ ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากค่าปกติอ้างอิงจากหนูในต่างประเทศที่มีค่าไม่ตรงกับในประเทศไทยที่มีความแตกต่างกันในด้านคุณภาพอาหารและภูมิอากาศ เมื่อตรวจสอบแล้วพบว่าค่าดังกล่าวเหมือนกับการทดลองอื่นๆในประเทศไทย

17. ผลทางจุลพยาธิวิทยาของหนูที่ได้รับการป้อนยาสี่ฟันต้นแบบที่มีสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสาร โซเดียมฟลูออไรด์

ผลการตรวจเนื้อเยื่อช่องปากทางมหพยาธิวิทยาในระหว่างการวางยาเสพติด เพื่อการป้อนยาสี่ฟันในช่วงวันที่ 1-2 พบว่าเยื่อเมือกกระพุ้งแก้มด้านซ้ายที่ทำการขีดด้วยเครื่องมือชุดหินปูน เกิดการอักเสบแดงอย่างอ่อน เมื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในวันที่ 3 ของการทดลองพบการอักเสบชนิดเป็นหนอง มีการแทรกเข้าของเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิล เซลล์หนอง (Moderate fibrino-purulent stomatitis) และมีการลอกหลุดของเซลล์เยื่อผิวของกระพุ้งแก้มด้านซ้าย (รูปที่ 5) และไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตได้หลังจากวันที่ 2 ของการทดลองเมื่อตรวจด้วยตาเปล่า

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในวันที่ 7 ของการทดลอง พบกลุ่มทดลองที่ได้รับการป้อนด้วยยาสี่ฟันที่มีสารพื้นฐาน (Base) ยังพบการอักเสบของกระพุ้งแก้มแบบเรื้อรัง (moderate chronic stomatitis) (รูปที่ 6) จากหนู 1 ใน 2 ตัว และไม่พบในหนูทดลองในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการป้อนด้วยยาสี่ฟันที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน (ตารางที่ 21)

เนื้อเยื่อช่องปากส่วนอื่นๆในการทดลองในช่วงวันที่ 3-21 ของการทดลองไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดที่เห็นได้ด้วยวิธีจุลพยาธิวิทยา (รูปที่ 7-8) อวัยวะอื่นๆที่ทำการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา คือ ปอด ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็กส่วนต้น ตับอ่อน ต่อมไทมัส และต่อมน้ำลาย ตลอดการทดลองไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา

18. น้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *S.mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบส

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เริ่มต้น ที่ 1×10^6 CFU/ml ในระยะเวลาทดสอบ 1 นาที ของน้ำยาบ้วนปากที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน พบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแปรผันตามความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ใส่อยู่ในน้ำยาบ้วนปาก โดยที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ร้อยละ 2 สามารถทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ในขณะที่สูตรน้ำยาบ้วนปากเบส ที่ปราศจากสารออกฤทธิ์หลัก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ประมาณร้อยละ 53 (รูปที่ 9)

ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* เริ่มต้นที่ 1.2×10^6 CFU/ml ในระยะเวลาทดสอบ 1 นาที ของน้ำยาบ้วนปากที่เติมโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน พบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแปรผันตามความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ใส่อยู่ในน้ำยาบ้วนปาก โดยที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ร้อยละ 2 สามารถทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ในขณะที่สูตรน้ำยาบ้วนปากเบส ที่ปราศจากสารออกฤทธิ์หลัก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ประมาณร้อยละ 51 (รูปที่ 9) จากข้อมูลดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงเลือกน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนร้อยละ 2 เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

19. น้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนร้อยละ 2 มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *S.mutans* ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบส เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน (ตารางที่ 22)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนร้อยละ 2 ต่อการทำลายเชื้อ *S.mutans* ที่จำนวนเชื้อเริ่มต้น 1×10^6 CFU/ml เป็นเวลา 1 นาที พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน ออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อได้ร้อยละ 100 เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน

20. น้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนร้อยละ 2 มีความสามารถในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบส เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน (ตารางที่ 23)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนร้อยละ 2 ต่อการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ที่จำนวนเชื้อเริ่มต้น 1×10^6 CFU/ml เป็นเวลา 1 นาที พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและน้ำยาบ้วนปากคลอร์เฮกซิดีน ออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อได้ร้อยละ 100 เมื่อผ่านภาวะเร่งที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน

21. น้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีปริมาณสารโลหะหนักปนเปื้อนน้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนด

จากการส่งตรวจวัดสารโลหะหนัก พบมีปริมาณสารตะกั่ว (Pb) เท่ากับ 0.16 ppm ทองแดง (Cu) เท่ากับ 2.22 ppm แคดเมียม (Cd) น้อยกว่า 0.006 ppm และปรอท (Hg) น้อยกว่า 0.06 ppm ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ที่ 1, 20, 0.3 และ 1 ppm (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ (เอกสารแนบหมายเลข 4)

22. น้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมไทย

ผลจากการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในน้ำยาบ้วนปาก โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบจำนวนแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราทั้งหมด มีปริมาณน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ไม่พบเชื้อคลอสทริเดียม (*Clostridium spp.*) เชื้อสตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) เชื้อ *Candida albicans* และเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*) ปนเปื้อนในน้ำยาบ้วนปาก ซึ่งผลที่ได้เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดในมอก. 45-2549 (เอกสารแนบหมายเลข 5)

23. ผลของน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือด ของหนูที่ได้รับการป้อนน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

ตลอดการทดลอง หนูที่ใช้ในการทดลองไม่มีอาการแสดงความเป็นพิษเฉียบพลันในช่วง 48 ชั่วโมงแรก และเมื่อครบ 21 วันของการทดสอบ อาการแสดงหลังป้อนน้ำยาบ้วนปากของหนูทดลองในกลุ่มที่ 2 (placebo) และ 3 (durian-mouthwash) แสดงอาการคั่งน้ำตันที่เมื่อพ่นตัวใน 1-3 นาที

ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวหนูทดลองที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) พบว่า หนูในทุกกลุ่มทดลองมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันและไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 24

ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองในวันสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 25) พบว่าค่าทางโลหิตวิทยาอยู่ในช่วงปกติและไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่พบว่าค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในทุกกลุ่มการทดลองมีค่าต่ำกว่าค่าปกติ ซึ่งเหมือนกับผลที่ได้จากการตรวจค่าทางโลหิตของหนูที่ทดสอบกับยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน (ตารางที่ 19) ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากค่าปกติอ้างอิงจากหนูในต่างประเทศที่มีค่าไม่ตรงกับในประเทศไทยที่มีความแตกต่างกัน ในด้านคุณภาพอาหารและภูมิอากาศ เมื่อตรวจสอบแล้วพบว่าค่าดังกล่าวเหมือนกับการทดลองอื่นๆในประเทศไทย

ผลการตรวจค่าเคมีในเลือดทุกค่าเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง ในวันสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 26) พบว่า ค่าเคมีในเลือดทุกค่าอยู่ในช่วงปกติ และไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

24. ผลทางจุลพยาธิวิทยาของหนูที่ได้รับการป้อนน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

ผลการตรวจเนื้อเยื่อช่องปากกระเพาะเย็บพลันทางมหาพยาธิวิทยาในระหว่างการวางยาสลบ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตเห็นด้วยตาเปล่ารวมทั้งการตรวจต่อเนื่องจนครบ 21 วัน ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อช่องปาก ประกอบด้วย กระพุ้งแก้มด้านซ้ายและขวา ริมฝีปากบนและล่าง ลิ้น เพดานปากแข็งและอ่อน (รูปที่ 10-13) และต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกรล่าง เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 21 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดที่เห็นได้ด้วยวิธีจุลพยาธิวิทยา อวัยวะอื่นๆที่ทำการตรวจทางจุล

พยาธิวิทยา คือ ปอด ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็กส่วนต้น ตับอ่อน ต่อมไทมัส และต่อมน้ำลาย ตลอดจนไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา

25. น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้ต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์ คิดเป็นค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 68.5 และ 65.28 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อก่อนการใช้ น้ำยาบ้วนปาก ขณะที่น้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine 0.2% สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้ต่อเนื่องทุกวันเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง และ 1 สัปดาห์ คิดเป็นค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 74.31 และ 65.28 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อก่อนการใช้ น้ำยาบ้วนปาก ในขณะที่กลุ่มที่ใช้ น้ำเกลือไม่พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณเชื้อก่อน และหลังการบ้วนปาก โดยพบปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 0.15 และ 14.17 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อก่อนการใช้น้ำเกลือดังกล่าว (ตารางที่ 27)

26. น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ได้รับความพึงพอใจต่อกลิ่นและรส มากกว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ 0.2% คลอเฮกซิดีน

ข้อมูลจากการทำแบบสอบถามเปรียบเทียบความพึงพอใจในกลิ่นและรสของน้ำยาบ้วนปากที่มี สารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ 0.2% คลอเฮกซิดีน ของอาสาสมัครที่ให้ทดลองใช้น้ำยาบ้วนปากทั้งสอง พบอาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อกลิ่นและรสของ น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมากกว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ 0.2% คลอเฮกซิดีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 28) โดยน้ำยาบ้วน ปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและน้ำยาบ้วนปากที่มีคลอเฮกซิดีนร้อยละ 0.2 โดย น้ำหนัก ได้คะแนนเฉลี่ยความพึงพอใจเท่ากับ 3.26 และ 0.58 ตามลำดับ (คะแนนต่ำสุด = 0, คะแนน สูงสุด = 4)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้อาศัยองค์ความรู้เบื้องต้นของสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือก ทุเรียนที่มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ ก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์อักเสบตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติทางกายภาพของสาร โพลีแซคคาไรด์พบเมื่อทำละลายด้วยน้ำจะให้สารละลายที่มีความหนืดตามความเข้มข้น เมื่อนำ สารละลายโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมาทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนภายใต้ความดัน

(autoclave) พบคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อ *S.mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ยังคงอยู่ ดังนั้นจึงเหมาะต่อการนำมาพัฒนาต่อยอดเพื่อเป็นสารออกฤทธิ์หลักในยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพร

จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของยาสีฟันที่มีสาร โพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน พบมีคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม มอก. 49-2549 ได้แก่ 1) ความเป็นกรดต่ำ 2) ความสามารถในการขัดสีของยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนที่มีต่อเคลือบฟันและเนื้อฟัน 3) ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น *E.coli*, *P. aerogenosa*, *S.aureus* และจำนวนแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราทั้งหมด มีปริมาณน้อยกว่า 10 โคลิโดต่อกรัมของน้ำหนัทยาสีฟัน 4) ปริมาณสารโลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว ทองแดง และแคลเซียมในยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีค่าน้อยกว่าที่มาตรฐานกำหนด 5) ปริมาณแอลกอฮอล์ฟลูออไรด์ไอออนได้ตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด และอยู่ในปริมาณที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุ และ 6) ยาสีฟันนี้มีความคงตัวเมื่อผ่านสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน

เมื่อทำการศึกษาในแง่การออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *S.mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* พบยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อได้ดีกว่ายาสีฟันเบสที่ปราศจากสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน และเมื่อนำยาสีฟันดังกล่าวไปผ่านสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน (เกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ 3 เดือน) พบว่ายาสีฟันต้นแบบที่มีโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสาร โซเดียมฟลูออไรด์ มีคุณสมบัติการต่อต้านเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่ายาสีฟันเบส เมื่อพิจารณาจากค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นศูนย์ แต่อย่างไรก็ดีค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันต้นแบบและยาสีฟันเบส ที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งสองชนิดเป็นศูนย์ มีค่าลดลงตามระยะเวลาที่ผ่านสภาวะเร่ง แสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการต้านเชื้อของยาสีฟันที่ลดน้อยลง (ตารางที่ 6 และ 7)

เนื่องจากฟลูออไรด์เป็นสารที่ได้รับการยอมรับในประสิทธิภาพป้องกันการเกิดฟันผุ ทำให้คณะผู้วิจัยเติมสาร โซเดียมฟลูออไรด์ลงในสูตรยาสีฟัน จากการศึกษพบว่า การใส่สารฟลูออไรด์เพิ่มเติมลงไป มีผลเพิ่มประสิทธิภาพของยาสีฟันในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* เมื่อพิจารณาจากค่าความเจือจางสูงสุดของยาสีฟันที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียเป็นศูนย์ ที่ระยะเวลา 5 และ 60 นาที (ตารางที่ 6 และ 8) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่พบว่ายาสีฟันที่ใส่สารฟลูออไรด์มีผลต่อต้านเชื้อ *S. mutans* และยับยั้งการเกิดโรคฟันผุ¹⁰⁻¹² โดยยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนและสาร โซเดียมฟลูออไรด์ มีคุณสมบัติของยาสีฟันตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด (มอก. 45-2549) แต่อย่างไรก็ดี การเพิ่มสารฟลูออไรด์ลงในยาสีฟันต้นแบบมีผลเพียงเล็กน้อยในการเพิ่มประสิทธิภาพต่อต้านเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (ตารางที่ 7 และ 9) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่พบว่าฟลูออไรด์ไม่มีผลต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. actinomycetemcomitans*¹³⁻¹⁴ ดังนั้นการเพิ่มสารออกฤทธิ์หลักที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ลงในสูตรยาสีฟัน จึงเป็น

แนวความคิดที่น่าสนใจที่จะทำให้ยาสีฟันสมุนไพรจากเปลือกทุเรียนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเพิ่มมากขึ้น

จากผลการทดลองการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อช่องปาก ของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนในเวลา 21 วัน ไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลัน และกึ่งเรื้อรัง เมื่อชีวิตด้วยผลการตรวจทางโลหิตวิทยา เคมีในเลือด และผลจุลพยาธิวิทยา ผลจากการป้ายด้วยยาสีฟันที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ไม่มีผลต่อการระคายเคืองเนื้อเยื่อในช่องปาก

ผลการประเมินน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (% weight gain) ในหนูได้รับการป้ายปากด้วยยาสีฟันที่มีส่วนผสมสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาสีฟันที่มีสารพื้นฐานอย่างเดียวในทุกช่วงของการทดลอง มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ โดยผลทางจุลพยาธิวิทยา ในอวัยวะภายใน และผลเคมีในเลือดไม่มีการเปลี่ยนแปลง อาจเกิดจากผลในแง่ดีต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากการกระตุ้นอยากอาหาร หรือเป็นผลจากการกินสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น

นอกจากยาสีฟันแล้ว น้ำยาบ้วนปากก็เป็นผลิตภัณฑ์เสริมในการดูแลสุขภาพช่องปากที่ทันตแพทย์แนะนำให้ใช้ร่วมกับการแปรงฟันและการใช้เส้นใยขัดฟัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน โดยทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากอิงตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม ได้แก่ 1) การตรวจนับการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น *E.coli*, *P. aerogenosa*, *S.aureus* และจำนวนแบคทีเรียยีสต์และเชื้อราทั้งหมดต่อกรัมของน้ำหนัkn้ำยาบ้วนปาก 2) ปริมาณสารโลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว ทองแดง ปรอท และแคดเมียมในน้ำยาบ้วนปาก และ 3) ความคงตัวเมื่อผ่านสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ พบน้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน มีคุณสมบัติผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด

เมื่อทำการศึกษาความคงตัวของน้ำยาบ้วนปากในแง่การออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* พบน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบสที่ปราศจากสารออกฤทธิ์หลัก โดยประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อพบเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ โดยน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ร้อยละ 2 สามารถทำลายเชื้อ *S.mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* (1×10^6) ได้ร้อยละร้อย ในระยะเวลาทดสอบ 1 นาที และเมื่อนำน้ำยาบ้วนปากดังกล่าวไปผ่านสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ยังคงมีคุณสมบัติการต่อต้านเชื้อ *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากเบสที่ปราศจากสารออกฤทธิ์หลัก ในอาสาสมัครที่ใช้ยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. mutans* ได้ประมาณร้อยละ 65 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้น และอาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อกลิ่น สี และรสชาติของ

น้ำยาบ้วนปากดังกล่าว มากกว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีรสชาติและความรู้สึกหลังการใช้ ไม่เป็นที่น่าพอใจ

โดยสรุปผลยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารโพลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมีความปลอดภัยต่อการนำไปใช้ ตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก. 45-2549) และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* และ *A. actinomycetemcomitans* ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ เหงือกอักเสบ ได้ดีกว่ายาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากเบสที่ปราศจากสารโพลิแซ็กคาไรด์และมีความคงตัวในประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทั้งสอง เมื่อทดสอบผ่านภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน และไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังในหนูขาวที่ทดสอบด้วยยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารโพลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนต่อเนื่องติดต่อกัน เป็นระยะเวลา 21 วัน ในอาสาสมัครที่ทดลองใช้น้ำยาบ้วนปากที่สารโพลิแซ็กคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลายได้ถึงร้อยละ 65 เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อก่อนเริ่มการทดลอง

อย่างไรก็ดี สูตรยาสีฟันต้นแบบยังมีปัญหาของการเกิดฟองอากาศภายหลังบรรจุในหลอดยาสีฟัน ซึ่งต้องแก้ไขโดยการผสมในภาวะสุญญากาศเพื่อกำจัดฟองอากาศที่เกิดขึ้นระหว่างการผสมยาสีฟันตามแบบการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม อีกทั้งการทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากในการลดจำนวนแบคทีเรีย ประสิทธิภาพต่อการป้องกันฟันผุและรักษาเหงือกอักเสบ และผลระยะเคียงต่อเนื้อเยื่อช่องปากในอาสาสมัครกลุ่มใหญ่ที่มีความหลากหลายในอายุและอาชีพ การออกแบบบรรจุภัณฑ์ ตลอดจนการสำรวจความเป็นไปได้ในการตลาด เป็นสิ่งที่ควรทำการศึกษาวิจัยต่อไป

ตารางที่ 1 ตารางสกัด PG จากเปลือกแห้งของทุเรียนพันธุ์หมอนทอง

ครั้งที่	น.น.เปลือกแห้ง (kg)	น.น. PG (g)	yield (%)	3% PG ในน้ำ	
				ความหนืด (cps)	pH
1	1.833	206.12	11.25	648.00	2.33
2	1.788	193.77	10.83	549.00	2.51
3	1.805	189.98	10.52	333.50	2.48
4	1.812	196.47	10.84	1401.00	2.53
5	1.836	208.07	11.33	818.40	2.55
6	1.779	163.35	9.18	2016.00	2.37
7	1.872	196.38	10.49	1520.00	2.41
8	1.838	179.75	9.76	1264.00	2.65
9	1.762	189.98	11.01	900.00	2.49
10	1.791	193.15	10.78	596.30	2.41

ตารางที่ 2 ปริมาณ galacturonic acid ใน PG จากเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง

Sample No.	% Galacturonic acid
1	74.25600
2	69.23116
3	61.71927
4	66.99789
5	61.88000
6	63.64800
7	72.48800
8	74.25600
9	68.69943
10	62.63771
11	66.67886
% Galacturonic in PG (mean $\pm$ SD)	67.49930 $\pm$ 4.74352
% Galacturonic in commercial pectin (n=4)	93.381 $\pm$ 9.078

ตารางที่ 3 แสดงค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ของ PG ที่สกัดทิ้งไว้ที่เวลาต่าง ๆ ต่อ bacteria ทดสอบ

ตัวอย่าง PG	แบคทีเรียทดสอบ	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
PG หลังสกัด 2 สัปดาห์	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	6.25-12.5	12.5-25.0
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	6.25-12.5	12.5-25.0
PG หลังสกัด 1 ปี	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	6.25-12.5	12.5-25.0
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	12.5	25.0
PG หลังสกัด >2 ปี	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	12.5	25.0
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	12.5-25.0	25.0-50.0

ตารางที่ 4 แสดงผลการทำลายเชื้อ *S. mutans* ของเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 3.5% (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น I=10⁵, II=10⁶, III=10⁸ โคโลนีต่อมิลลิลิตร)

Incubation time (hours)	Percentage of dead bacteria		
	I	II	III
4	100	99.9998 ± 0.000173	99.9991 ± 0.000579
8	100	100	99.9999 ± 5.003 × 10 ⁻⁵
12	100	100	100
16	100	100	100
20	100	100	100
24	100	100	100

Percentage of dead bacteria = (amount of control_t – residual bacteria_t / amount of control_t) × 100

t = incubation time

ตารางที่ 5 แสดงผลการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ของเจลโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 3.5% (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น I=10⁵, II=10⁶, III=10⁸ โคโลนีต่อมิลลิลิตร)

Incubation time (hours)	Percentage of dead bacteria		
	I	II	III
4	100	99.9995 ± 0.000174	99.9991 ± 0.00085
8	100	99.9999 ± 4.358 × 10 ⁻⁵	99.9999 ± 5.615 × 10 ⁻⁶
12	100	100	99.9999 ± 4.925 × 10 ⁻⁶
16	100	100	99.9999 ± 4.672 × 10 ⁻⁶
20	100	100	99.9999 ± 4.5 × 10 ⁻⁶
24	100	100	100

Percentage of dead bacteria = (amount of control_t – residual bacteria_t / amount of control_t) × 100

ตารางที่ 6 แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1 × 10⁶ cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count ± SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min.of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	1.437±0.375	0*	0	0
1/16	2.937±0.311	1.661±0.379*	1.159±0.238	0*
1/32	3.778±0.261	3.454±0.167	1.963±0.235	1.642±0.4
1/64	4.649±0.297	4.364±0.305	2.687±0.153	2.71±0.2
1/128	5.287±0.235	5.168±0.218	3.384±0.241	3.085±0.183

ตารางที่ 7 แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min.of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	1.55 $\pm$ 0.56	0*	0	0
1/32	2.58 $\pm$ 0.19	1.31 $\pm$ 0.35*	1.62 $\pm$ 0.28	0*
1/64	3.64 $\pm$ 0.11	3.51 $\pm$ 0.20	2.90 $\pm$ 0.54	2.41 $\pm$ 0.21
1/128	4.15 $\pm$ 0.25	4.57 $\pm$ 0.26	3.92 $\pm$ 0.39	3.29 $\pm$ 0.26

ตารางที่ 8 แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือแสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	0	0	0	0
1/32	0.33 $\pm$ 0.5	0	0	0
1/64	2.08 $\pm$ 0.19	0.83 $\pm$ 0.75*	0.33 $\pm$ 0.58	0
1/128	2.99 $\pm$ 0.45	2.58 $\pm$ 0.22	1.1 $\pm$ 0.19	1.1 $\pm$ 0.17

ตารางที่ 9. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (2×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือแสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	0.38 $\pm$ 0.6	0	0.47 $\pm$ 0.74	0
1/32	2.63 $\pm$ 0.58	1.01 $\pm$ 1.12*	2.18 $\pm$ 0.65	0.35 $\pm$ 0.68*
1/64	4.21 $\pm$ 0.39	3.1 $\pm$ 0.32*	3.36 $\pm$ 0.86	2.1 $\pm$ 0.84*
1/128	5.3 $\pm$ 0.37	4.69 $\pm$ 0.27	4.76 $\pm$ 0.6	4.28 $\pm$ 0.53

ตารางที่ 10. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือแสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	0	0	0	0
1/32	1.46 $\pm$ 0.28	0*	0	0
1/64	1.85 $\pm$ 0.35	0.43 $\pm$ 0.75*	1.25 $\pm$ 0.24	0*
1/128	2.80 $\pm$ 0.47	2.58 $\pm$ 0.31	2.38 $\pm$ 0.22	2.14 $\pm$ 0.38

ตารางที่ 11. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 2 เดือน ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	0	0	0	0
1/32	1.63 ± 0.55	0*	0.5 ± 0.77	0
1/64	2.74 ± 0.10	$0.33 \pm 0.58^*$	1.84 ± 0.09	1.3 ± 0.05
1/128	3.18 ± 0.15	2.81 ± 0.22	2.56 ± 0.01	2.01 ± 0.09

ตารางที่ 12. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	1.10 ± 0.17	0*	0	0
1/32	1.77 ± 0.68	0*	1.39 ± 0.12	0*
1/64	2.18 ± 0.37	$1.26 \pm 0.24^*$	2.54 ± 0.1	1.87 ± 0.04
1/128	3.66 ± 0.22	2.19 ± 0.21	3.66 ± 0.06	3.22 ± 0.08

ตารางที่ 13. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 4 เดือน ในการทำลายเชื้อ *Streptococcus mutans* (1×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	1.47 ± 0.22	0*	0	0
1/16	2.52 ± 0.16	1.76 ± 0.15	1.23 ± 0.4	0*
1/32	3.73 ± 0.21	3.87 ± 0.10	2.46 ± 0.18	2.59 ± 0.13
1/64	4.5 ± 0.06	4.37 ± 0.06	3.1 ± 0.28	3.55 ± 0.17
1/128	5.32 ± 0.06	5.08 ± 0.09	3.97 ± 0.13	3.9 ± 0.05

ตารางที่ 14 แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 1 เดือน ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (2×10^6 cfu/ml)

ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	1.41 $\pm$ 0.36	0*	1.04 $\pm$ 0.29	0*
1/32	3.56 $\pm$ 0.29	1.27 $\pm$ 0.27*	2.80 $\pm$ 0.31	0.46 $\pm$ 0.31*
1/64	4.63 $\pm$ 0.15	3.5 $\pm$ 0.18*	3.55 $\pm$ 0.3	1.95 $\pm$ 0.28*
1/128	5.47 $\pm$ 0.12	4.93 $\pm$ 0.11	4.83 $\pm$ 0.19	4.16 $\pm$ 0.18

ตารางที่ 15. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 2 เดือน ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (2×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0.32 $\pm$ 0.65	0	0	0
1/16	1.43 $\pm$ 0.86	0.48 $\pm$ 0.81*	1.21 $\pm$ 0.83	0*
1/32	3.06 $\pm$ 0.58	1.89 $\pm$ 0.55*	2.59 $\pm$ 0.22	1.56 $\pm$ 0.49*
1/64	4.24 $\pm$ 0.48	3.59 $\pm$ 0.37	3.51 $\pm$ 0.29	3.1 $\pm$ 0.52
1/128	4.94 $\pm$ 0.45	4.72 $\pm$ 0.64	4.51 $\pm$ 0.13	4.32 $\pm$ 0.22

ตารางที่ 16 แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* (2×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0	0	0	0
1/16	2.03 $\pm$ 0.43	0.22 $\pm$ 0.53 *	1.46 $\pm$ 0.56	0*
1/32	3.63 $\pm$ 0.27	2.48 $\pm$ 1.03	2.48 $\pm$ 0.02	1.25 $\pm$ 1.08*
1/64	4.31 $\pm$ 0.34	3.83 $\pm$ 0.35	3.4 $\pm$ 0.04	2.62 $\pm$ 0.28
1/128	5.42 $\pm$ 0.43	4.9 $\pm$ 0.37	4.45 $\pm$ 0.3	3.76 $\pm$ 0.05

ตารางที่ 17. แสดงประสิทธิภาพของยาสีฟันที่ได้สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนและสารโซเดียมฟลูออไรด์ ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 4 เดือน ในการทำลายเชื้อ *A. actinomycetemcomitans*

(2×10^6 cfu/ml) ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

Dilution	5 min. of incubation		60 min. of incubation	
	Base toothpaste	Durian toothpaste	Base toothpaste	Durian toothpaste
1/2	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0
1/8	0.67 ± 1.63	0.32 ± 0.78	0	0
1/16	3.4 ± 0.39	$0.75 \pm 1.17^*$	1.76 ± 0.41	0*
1/32	4.87 ± 0.44	$2.79 \pm 0.98^*$	2.79 ± 0.14	$1.89 \pm 0.27^*$
1/64	5.98 ± 0.2	$4.62 \pm 0.35^*$	3.59 ± 0.2	2.75 ± 0.23
1/128	6.34 ± 0.41	5.91 ± 0.27	4.879 ± 0.06	3.94 ± 0.17

ตารางที่ 18 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (%weight gain) ของหนูทดลองในแต่ละช่วงเวลา

Day of Euthanasia	Group	No. of animal	% weight gain (Mean $\pm$ SD)
3	Control	1	3.45 ± 0
	Base	2	3.33 ± 4.7
	Durian	2	8.39 ± 4.9
7	Control	1	3.45 ± 0
	Base	2	2.59 ± 1.2
	Durian	2	5.83 ± 3.5
14	Control	1	8.33 ± 0
	Base	2	11.77 ± 2.5
	Durian	2	16.15 ± 4.0
21	Control	2	12.70 ± 0.9
	Base	4	17.54 ± 11.5
	Durian	4	19.48 ± 8.3

Remark : control : animals received normal saline solution, base : animals received base toothpaste, durian : animals received toothpaste contained polysaccharide isolated from durian shell.

ตารางที่ 19. แสดงค่าเฉลี่ยทางโลหิตวิทยาของหนูทดลองในแต่ละช่วงเวลาและกลุ่มการทดลอง

Day	Group	RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
3	Control	5.45	13	38	71	24	33	450
	Base	5.65	13	39	69	23	34	562
	Durian	5.49	13	39	70	24	34	532.5
7	Control	4.59	11	31	69	24	36	339
	Base	3.83	9	25	67	24	35	318
	Durian	4.35	10	30	69	24	35	328.5
14	Control	4.48	11	29	66	25	37	323
	Base	4.22	10	28	67	24	36	246
	Durian	4.65	11	31	67	24	35	314
21	Control	5.58	12	38	68	22	32	413.5
	Base	5.83	12	38	67	22	32	421.3
	Durian	5.44	11	36	66	21	32	288.3
Normal Range*		7.34-8.85	14.7-17.3	44.9-51.7	55.1-64.2	18.6-20.7	31.1-34.4	114-399

Day	Group	WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Neu (%)	Ban (%)	Eo (%)	Baso (%)	Lymph (%)	Mono (%)
3	Control	3600	12	0	5	0	82	1
	Base	3700	20	0.5	2	0	76.5	1
	Durian	3250	18.5	0	1.5	0	80	0
7	Control	3600	17	0	2	0	80	1
	Base	2200	17.5	0.5	1	0	79.5	1.5
	Durian	3350	11	0.5	1	0	86	1.5
14	Control	3100	14	0	1	0	84	1
	Base	1900	16.5	0.5	0.5	0	81	1.5
	Durian	3400	16	0	0	0	69.5	1.5
21	Control	2900	14.5	0	1	0	83	1.5
	Base	2950	13.3	0.25	1.75	0	83.3	1.5
	Durian	2475	16	0.25	1.25	0	80.5	2
Normal Range*		6.63-20.35	3.5-18.7	0-1.0	0-1.9	0.2-0.6	75.8-92.9	0.5-3.4

ตารางที่ 20. แสดงค่าเคมีในเลือดของหนูทดลองที่ได้รับยาตีฟันในแต่ละช่วงเวลาและกลุ่มการทดลอง

Day	Group	No. of animal	SGPT (IU/L)	SGOT (IU/L)	Cholesterol (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	BUN (mg/dL)
3	Control	1	15.84	60	31.22	0.62	23.1
	Base	2	28.32±12.9	52.08±11.2	8.95±0.8	0.45±0	19.91±3.1
	Durian	2	19.20±9.2	57.6±22.1	12.44±7.1	0.51±0.1	21.34±3.7
7	Control	1	23.52	83.04	15.91	0.47	20.1
	Base	2	27.84±6.1	87.36±14.9	23.86±10.4	0.43±0.1	14.01±4.5
	Durian	2	9.84±2.4	110.9±29.9	28.28±12.5	0.57±0.3	23.49±8.0
14	Control	1	14.4	132.04	8.25	0.66	21.34
	Base	2	17.52±2.4	106.72±28.7	9.13±4.6	0.34±0.2	21.11±1.0
	Durian	2	27.36±18.3	88.08±2.4	13.84±8.7	0.47±0.47	23.64±3.7
21	Control	2	15.60±7.8	92.16±8.1	25.33±6.7	0.62±0.1	26.19±0.1
	Base	4	18.84±5.5	82.92±21.3	22.97±6.9	0.55±0.1	20.46±1.5
	Durian	4	10.92±4.7	86.72±36.1	7.98±1.7	0.44±0.1	19.23±3.6
Normal range*			24-53	77-157	44-88	0.39-2.29	12-25.8

*Car, B.D., Eng, V.M., Everds, N.E. and Bounous D. I. 2006. Clinical pathology of the rat. In: The Laboratory Rat (2nd Ed.) M. A., Suckow, S. H., Weisbroth and C. L., Franklin. (Eds.) USA: Elsevier pp. 127-146.

Remark : control : animals received normal saline solution, base : animals received base toothpaste, durian : animals received toothpaste contained polysaccharide isolated from durian shell.

ตารางที่ 21 ผลทางจุลพยาธิวิทยาของหนูทดลองที่ได้รับยาสีฟันในแต่ละช่วงเวลาและกลุ่มการทดลอง

Day	Group	NO. of animal	Left check		Lower lip	Tongue	Upper lip	Soft palate	Hard palate	Upper gingiva
			abraded	intact						
3	C	1	++ (1/1)*	-***	-	-	-	-	-	-
	B	2	1	-	-	-	-	-	-	-
	D	2	1	-	-	-	-	-	-	-
7	C	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	2	+(1/2)**	-	-	-	-	-	-	-
	D	2	-	-	-	-	-	-	-	-
14	C	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	2	-	-	-	-	-	-	-	-
21	C	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	4	-	-	-	-	-	-	-	-

C = control group, B= Base toothpaste treated group,

D = toothpaste contained polysaccharide isolated from durian fruit-shell treated group

* = Moderate fibrino-purulent stomatitis, epithelium slough off.

**= Moderate chronic stomatitis; lymphocytes& plasma cell in the submucosa.

*** = -; no remarkable lesion

() = No. of affected rat/total.

ตารางที่ 22 แสดงประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 1-4 เดือน ในการทำลายเชื้อ *S.mutans* (1×10^6 cfu/ml) เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่ใส่สาร chlorhexidine ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในเวลา 1 นาที ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

ภาวะเร่ง เดือนที่	Mean $\pm$ Standard Deviation (log CFU/ml)		
	Mouthwash-Base	Mouthwash 2% PG	Mouthwash 0.1% Chlorhexidine
1	5.37 $\pm$ 0.06	0	0
2	5.49 $\pm$ 0.31	0	0
3	5.62 $\pm$ 0.4	0	0
4	5.28 $\pm$ 0.1	0	0

ตารางที่ 23 แสดงประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่ใส่สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนความเข้มข้นร้อยละ 2 ที่ผ่านภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 1-4 เดือน ในการทำลายเชื้อ *A.actinomycescomitans* (1×10^6 cfu/ml) เปรียบเทียบกับน้ำยาบ้วนปากที่ใส่สาร chlorhexidine ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในระยะเวลา 1 นาที ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือ แสดงอยู่ในรูป mean of log count $\pm$ SD (* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

ภาวะเร่ง เดือนที่	Mean $\pm$ Standard Deviation (log CFU/ml)		
	Mouthwash-Base	Mouthwash 2% PG	Mouthwash 0.1% Chlorhexidine
1	5.78 $\pm$ 0.36	0	0
2	5.93 $\pm$ 0.13	0	0
3	5.46 $\pm$ 0.22	0	0
4	5.45 $\pm$ 0.11	0	0

ตารางที่ 24 แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวหนูทดลองที่เพิ่มขึ้น (%weight gain) ในวันที่ 21 ของการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

Group	No. of animal	% weight gain (Mean $\pm$ SD)*
Control	5	22.35 $\pm$ 3.55
Placebo	5	21.16 $\pm$ 3.33
Durian-mouthwash	5	21.85 $\pm$ 4.72

* ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 25 แสดงค่าทางโลหิตวิทยาของหนูทดลอง ในวันที่ 21 ของการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

Value* Group	RBC($\times 10^6$)	Hb	Hct	MCV	MCH	MCHC	PLT($\times 10^3$)
Control	5.53 $\pm$ 0.3	11.76 $\pm$ 0.6	36.6 $\pm$ 1.8	66.0 $\pm$ 2.1	21.2 $\pm$ 0.4	32.2 $\pm$ 0.8	421.80 $\pm$ 46.0
Placebo	5.68 $\pm$ 0.5	12.10 $\pm$ 1.0	36.2 $\pm$ 2.9	63.8 $\pm$ 1.1	20.8 $\pm$ 0.4	32.4 $\pm$ 0.5	309.56 $\pm$ 172.5
Durian-mouthwash	5.81 $\pm$ 0.3	12.44 $\pm$ 0.4	37.2 $\pm$ 1.3	63.6 $\pm$ 0.9	21.0 $\pm$ 0	32.6 $\pm$ 0.5	411.8 $\pm$ 44.5
Normal Range**	7.34- 8.85 $\times 10^6$ /ul	14.7- 17.3g/dL	44.9-51.7%	55.1- 64.2fL	18.6- 20.7pg	31.1- 34.4g/dL	114-399 $\times 10^3$ /uL

Value* Group	WBC ($\times 10^3$ /uL)	Neutro	Band	Eosino	Baso	Lympho	Mono
Control	3.54 $\pm$ 0.89	16 $\pm$ 4	0	2 $\pm$ 2	0	81 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1
Placebo	3.24 $\pm$ 1.05	12 $\pm$ 5	0	3 $\pm$ 4	0	85 $\pm$ 6	2 $\pm$ 1
Durian-mouthwash	3.08 $\pm$.62	17 $\pm$ 2	0	2 $\pm$ 0	0	80 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0
Normal Range**	6.63-20.35 $\times 10^3$	3.5-18.7%	0-1.0%	0-1.9%	0.2-0.6%	75.8-92.9%	0.5-3.4%

* Mean $\pm$ SD

** Car et al., 2006.

ตารางที่ 26 แสดงค่าเคมีในเลือดของหนูทดลอง ในวันที่ 21 ของการทดสอบความระคายเคืองชนิดกึ่งเรื้อรังของน้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน

Value* Group	Creatinine**	BUN**	SGPT**	SGOT**	ALP**	Cholesterol**
Control	0.67±0.1	25.67±1.5	51.0±11.8	108.95±46.1	208.33±33.7	63.33±9.3
Placebo	0.63±0.1	23.75±1.9	51.25±4.6	107.00±38.6	187.75±35.7	64.50±4.2
Durian-mouthwash	0.65±0.1	24.50±1.0	56.0±10.4	106.50±14.1	211.75±14.8	73.00±6.6
Normal Range***	0.39-2.29 mg/dl	12-25.8 mg/dl	24-53 IU/L	77-157 IU/L	132-312 IU/L	44-88 mg/dl

* Mean±SD

**ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

***Car et al., 2006.

ตารางที่ 27 แสดงประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์ในน้ำลายของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนที่เวลา 3 ชั่วโมงและ 1 สัปดาห์

ชนิดน้ำยาบ้วนปาก	ร้อยละของปริมาณเชื้อ <i>S. mutans</i> ที่ลดลง	
	3 ชั่วโมง	1 สัปดาห์
สมุนไพรเปลือกทุเรียน (n=27)	68.47*	65.28*
chlorhexidine 0.1% (n=26)	74.31*	61.14*
Normal saline (n=25)	-0.15	-14.71

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อในช่วงเวลาเริ่มต้น (baseline)

ตารางที่ 28 แสดงคะแนนความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อน้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนกับน้ำยาบ้วนปากที่มีสาร chlorhexidine 0.2% (w/w)

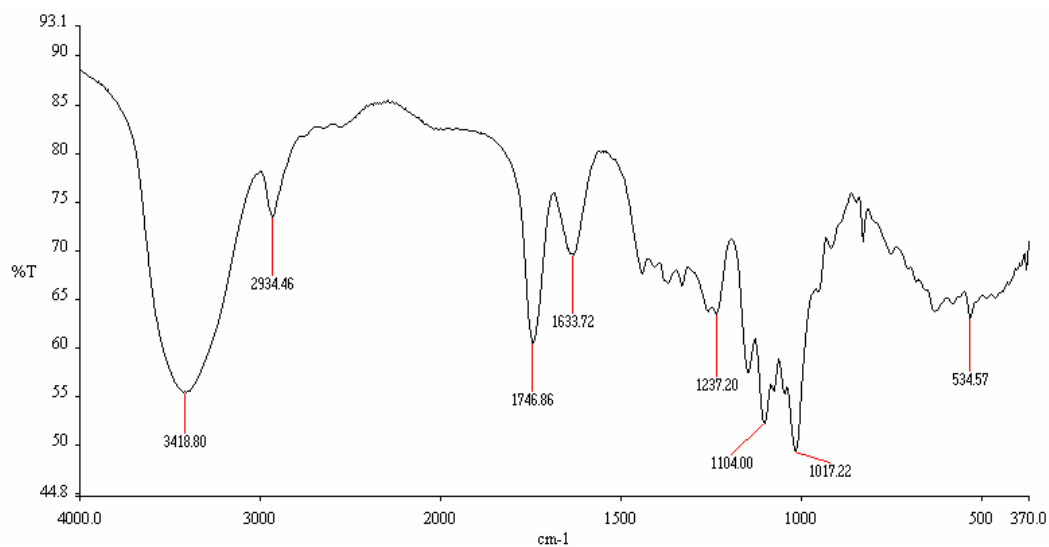
	unsatisfactory	Less satisfactory	satisfactory	More satisfactory	The most satisfactory
Durian's fruit-rind polysaccharide - mouthrinse	0	1	3	16	14
0.2% chlorhexidine mouthrinse	13	15	1	0	0

Power of performed test with $\alpha = 0.050$: 1.000

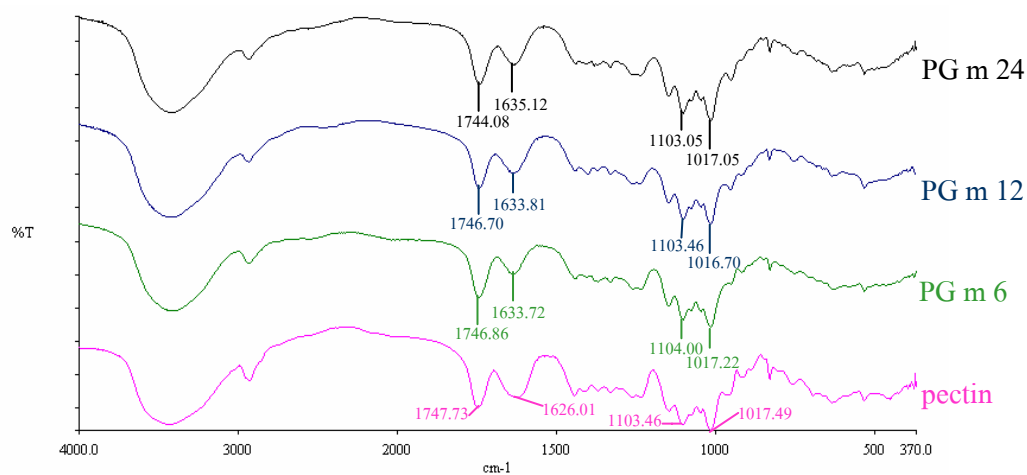
Chi-square= 56.207 with 4 degrees of freedom. ($P = <0.001$)

The proportions of observations in different columns of the contingency table vary from row to row.

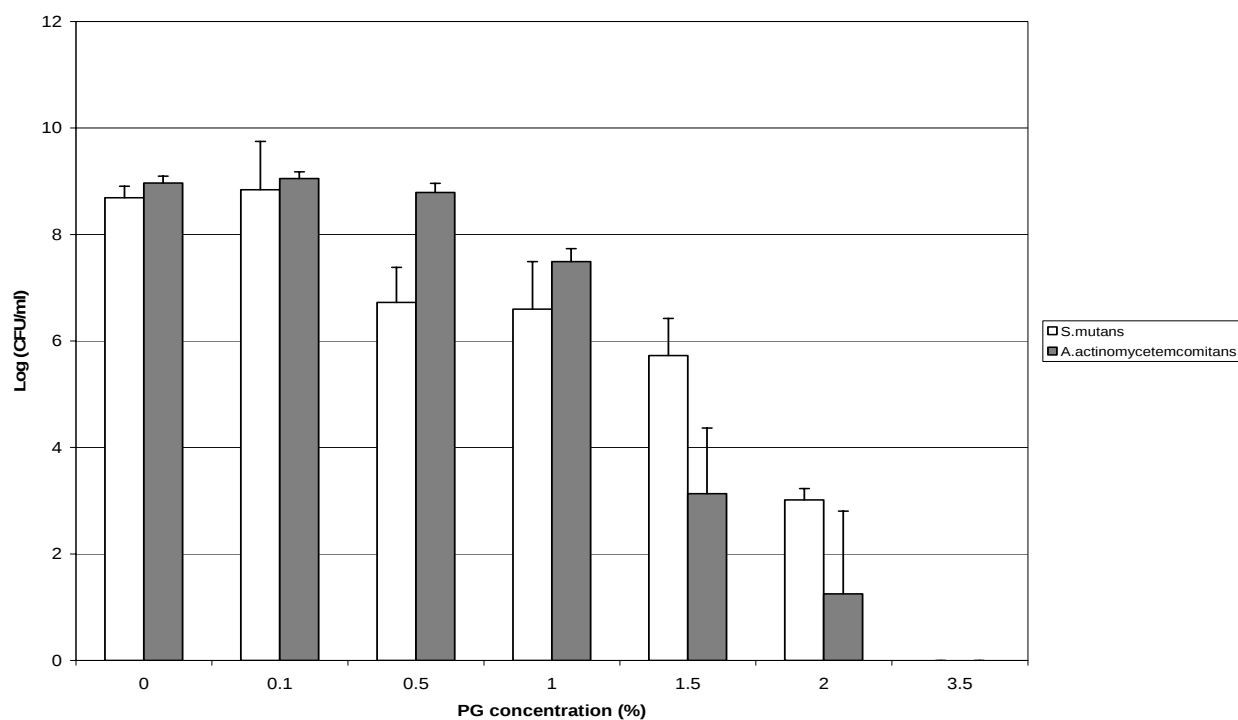
The two characteristics that define the contingency table are significantly related. ($P = <0.001$)



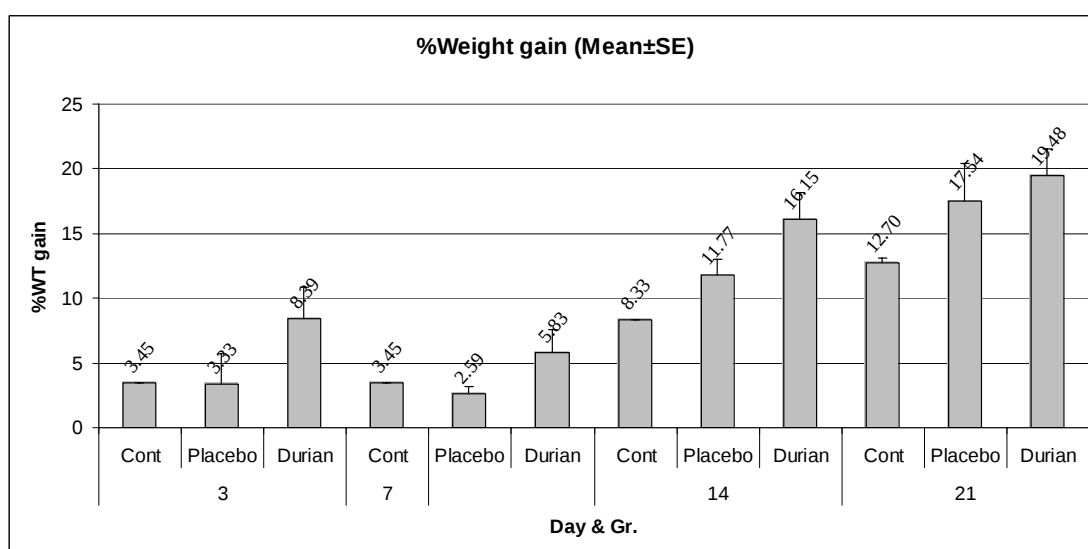
รูปที่ 1 FT-IR Spectrum ของ polysaccharide gel (PG) จากเปลือกทุเรียน



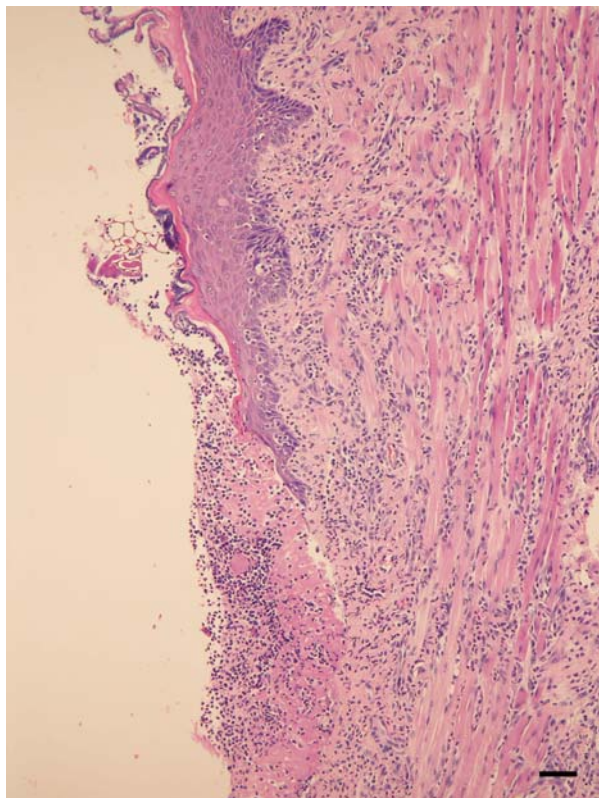
รูปที่ 2 FT-IR Spectra ของ pectic polysaccharide ของ PG เปรียบเทียบกับ Standard pectin จาก Citrus fruit PG m 24 = สกัดทิ้งไว้ 24 เดือน PG m 12 = สกัดทิ้งไว้ 12 เดือน PG m 6 = สกัดทิ้งไว้ 6 เดือน



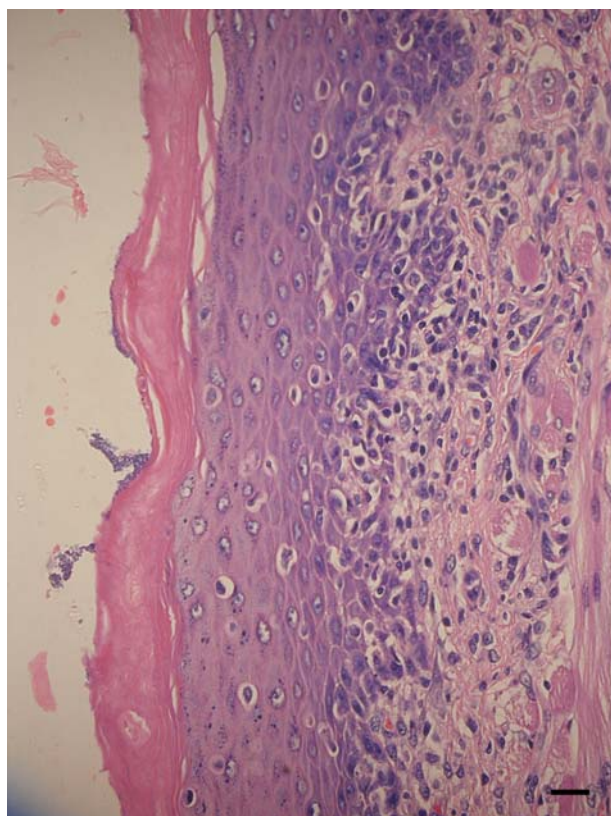
รูปที่ 3. แสดงประสิทธิภาพของเจลโพลีแซคคาไรด์ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และเชื้อ *A. actinomycetemcomitans*



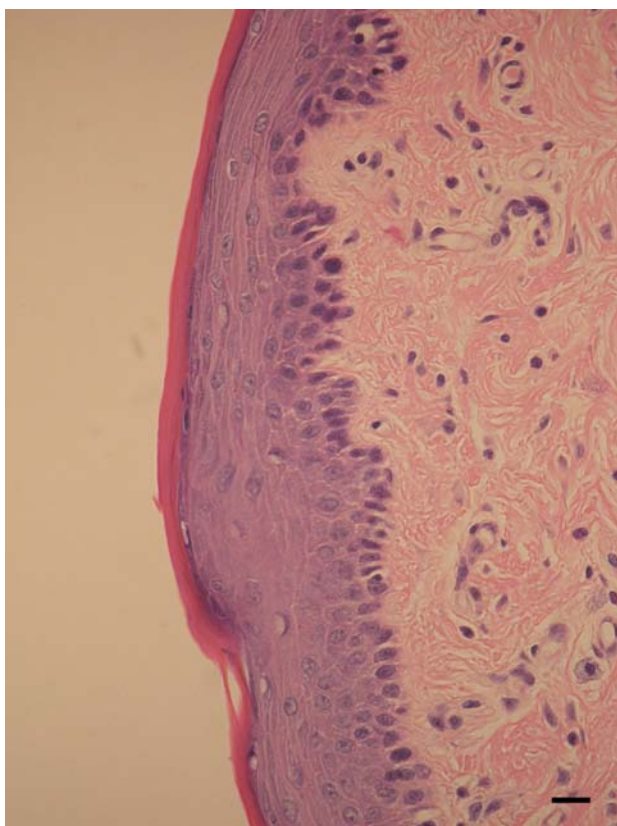
รูปที่ 4 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (%weight gain) ในแต่ละช่วงเวลา



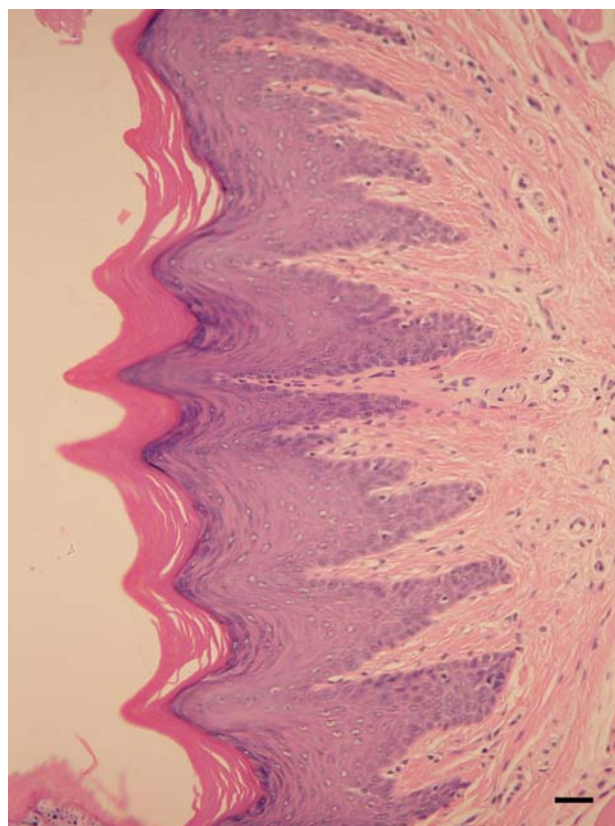
รูปที่ 5 แสดงรอยโรคการอักเสบแบบ Moderate fibrino-purulent stomatitis ของเยื่อบุกระพุ้งแก้มด้านซ้ายของหนูกลุ่มที่ได้รับยาสีฟันที่มีเจลโพลีแซคคาไรด์ ในวันที่ 3 ของการทดลอง H&E stain, bar=100 um



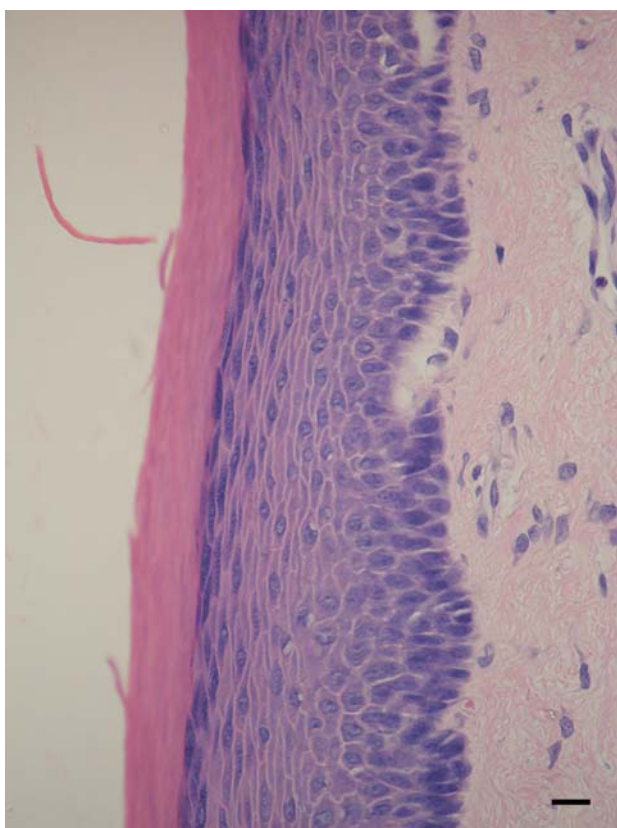
รูปที่ 6 แสดงรอยโรคการอักเสบชนิดเรื้อรังแบบ Moderate fibrino-purulent stomatitis ของเยื่อบุกระพุ้งแก้มด้านซ้ายของหนูกลุ่มที่ได้รับยาสีฟันเบสในวันที่ 7 ของการทดลอง H&E stain, bar=50 um



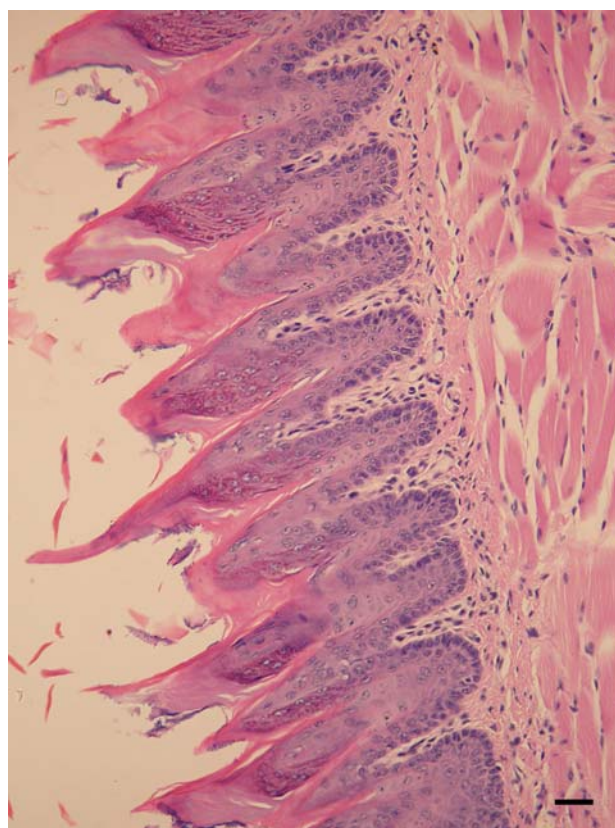
ก



ข

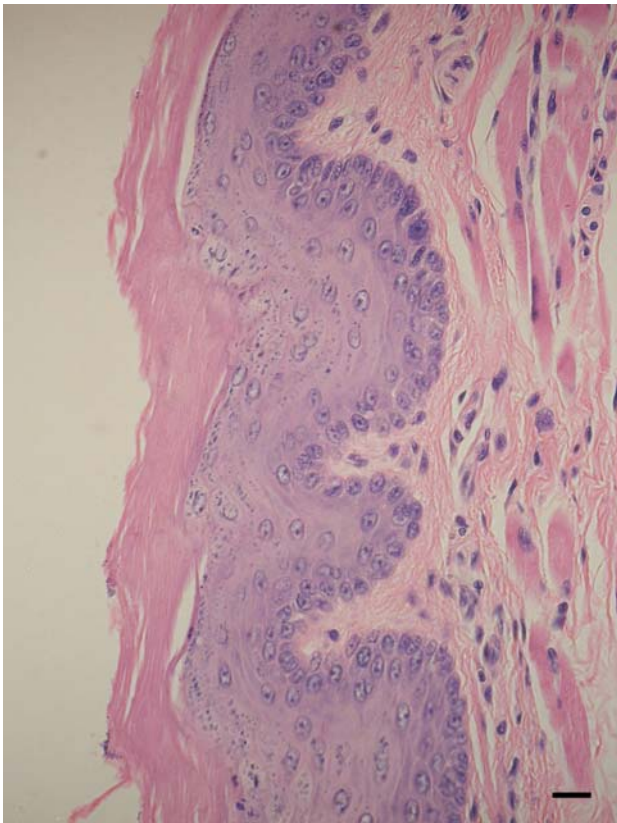


ค

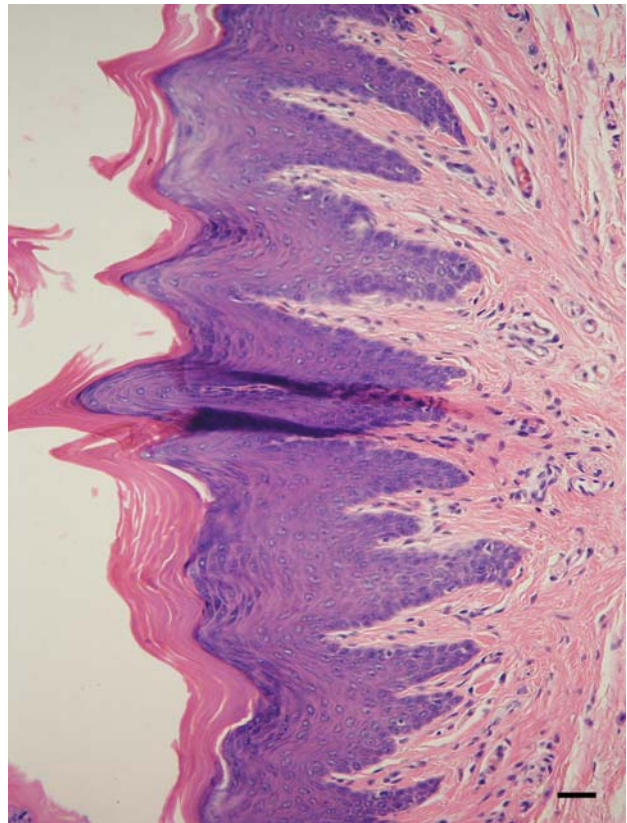


ง

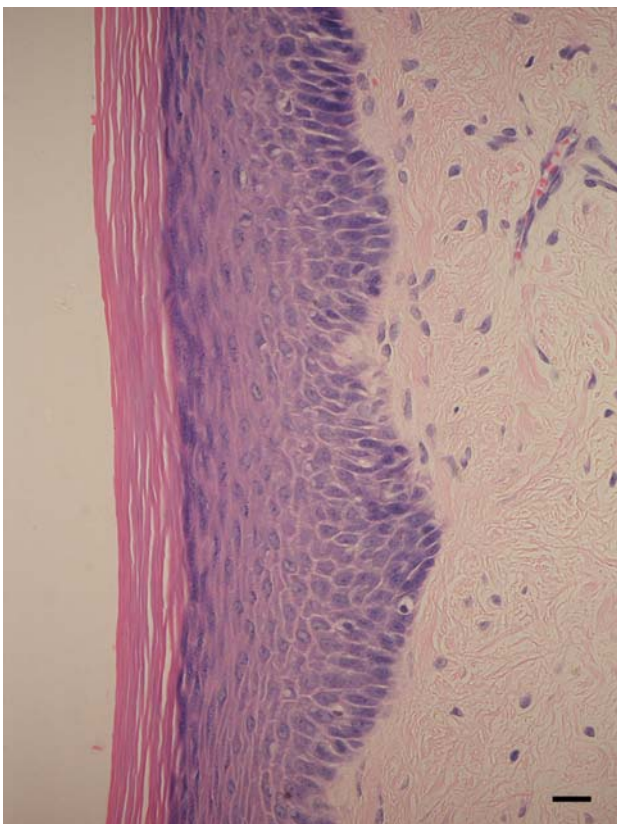
รูปที่ 7 แสดงส่วน ก) เยื่อบุกระพุ้งแก้มซ้าย ข) ริมฝีปากล่าง ค) เพดานปากแข็ง ง) ลิ้น ของหนูกลุ่มที่ได้รับยาสีฟันที่มีเจลาโพลีแซคคาไรด์เปลือกทุเรียน ในวันที่ 21 ของการทดลอง H&E stain, bar=50 um



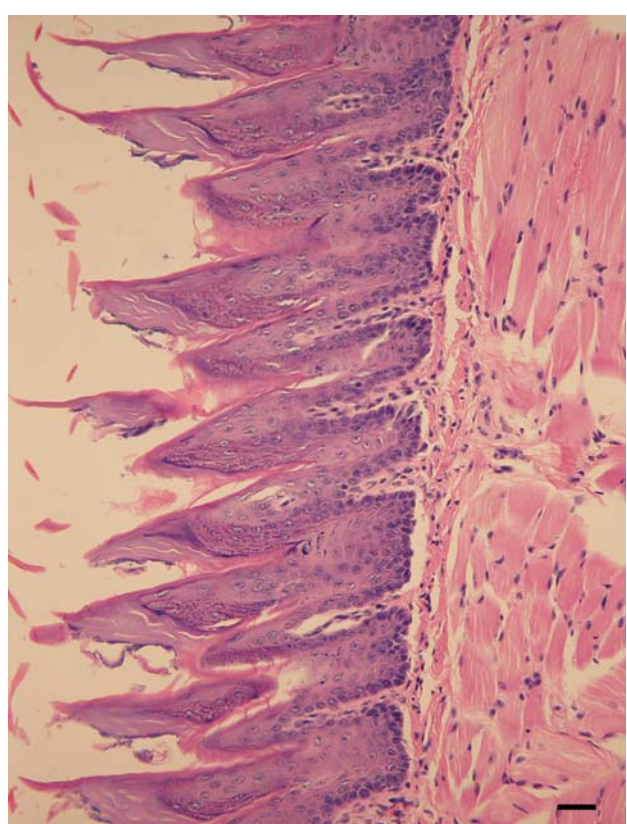
ก



ข

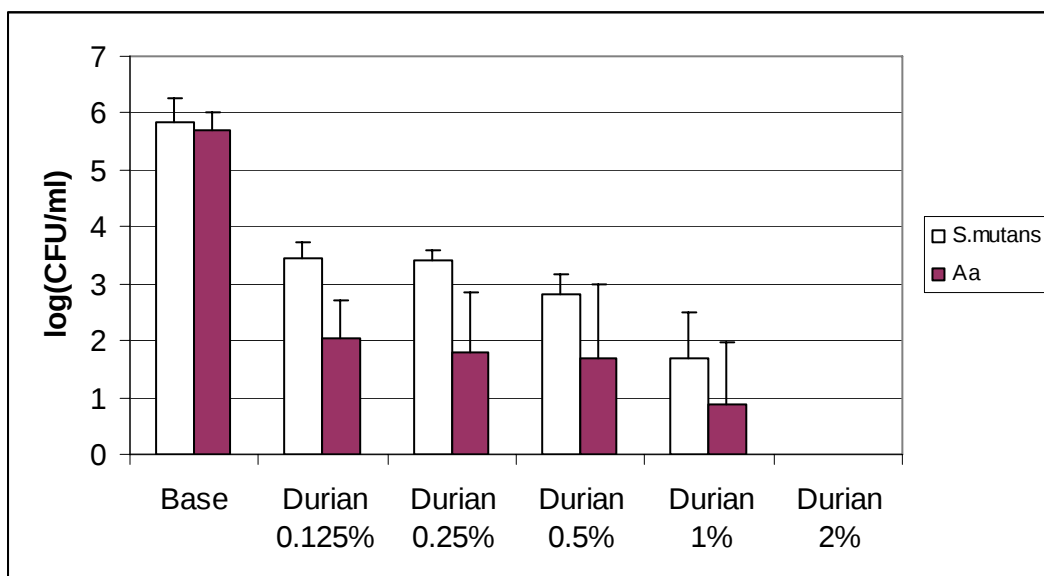


ค

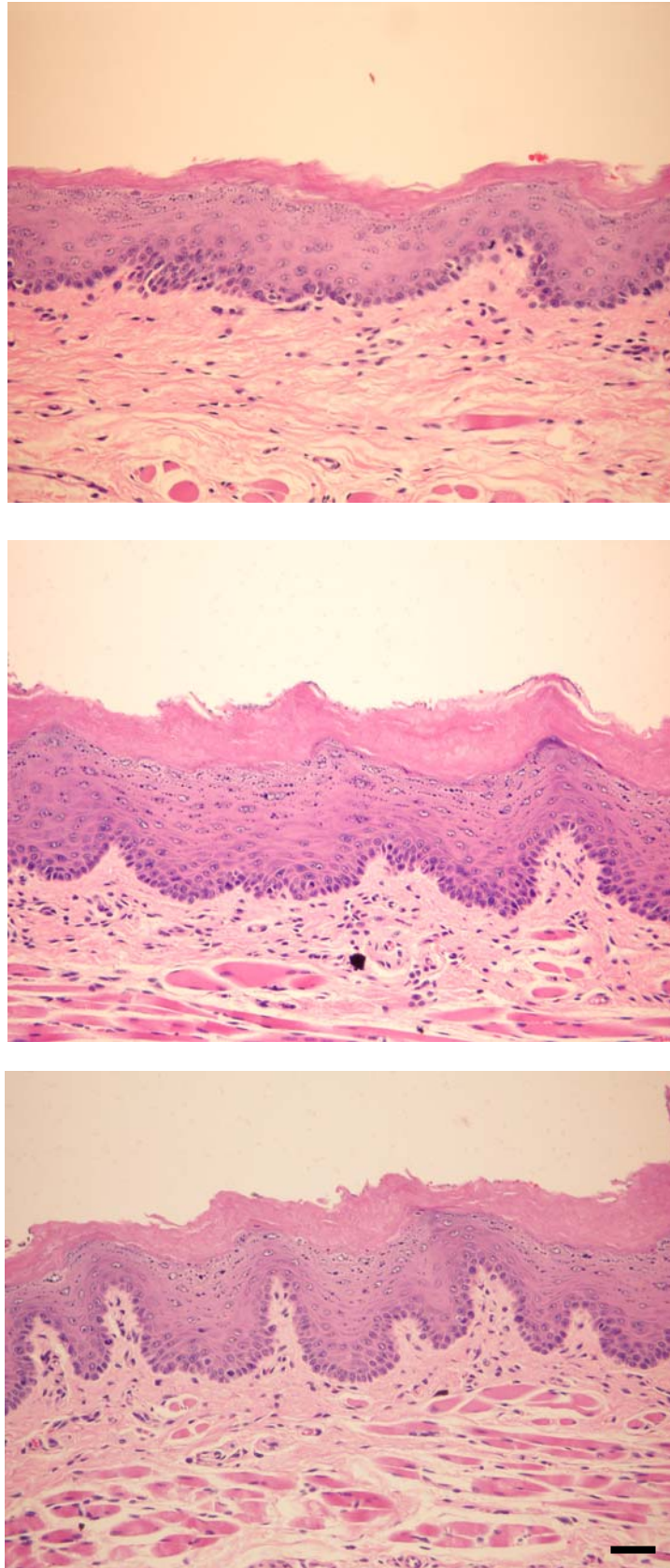


ง

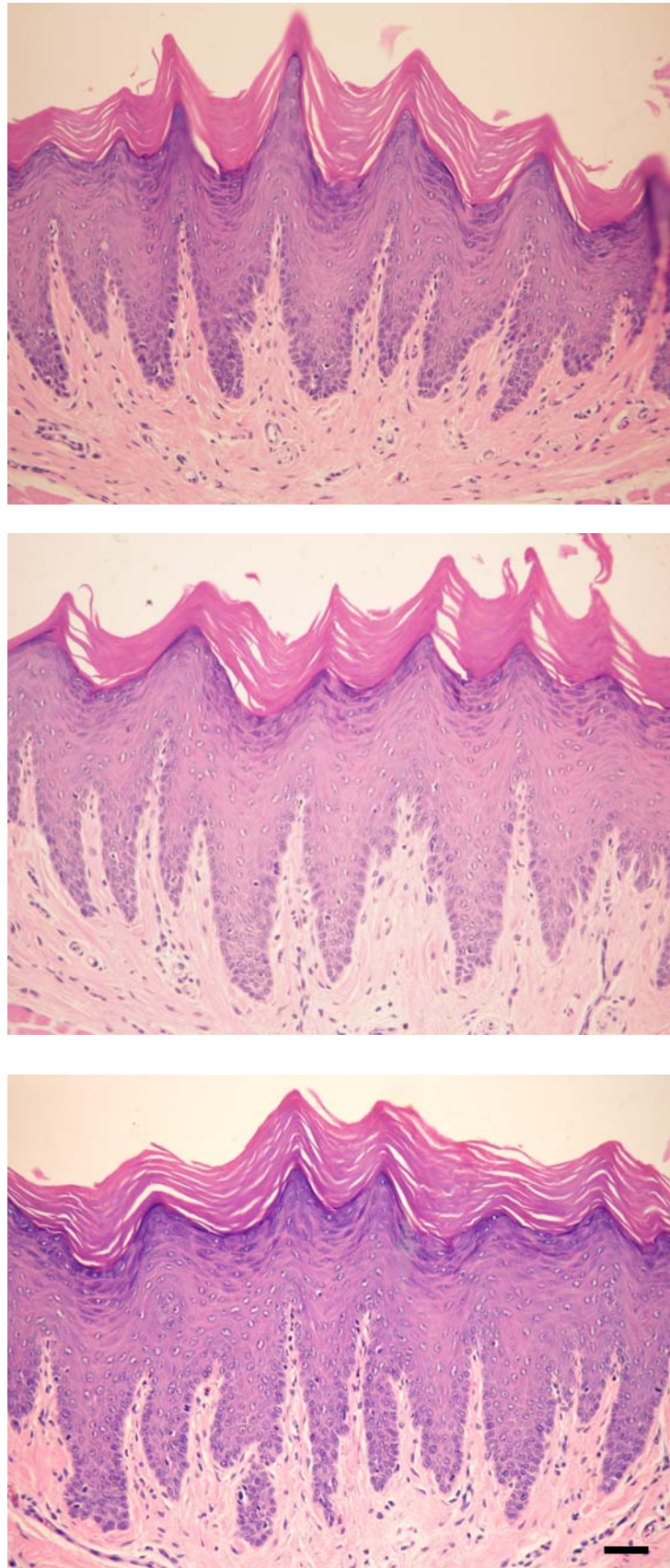
รูปที่ 8 แสดงส่วน ก) เยื่อบุกระพุ้งแก้มซ้าย ข) ริมฝีปากล่าง ค) เพดานปากแข็ง ง) ลิ้น ของหนูกลุ่มที่ได้รับยาตีฟีนเบส ในวันที่ 21 ของการทดลอง H&E stain, bar=50 um



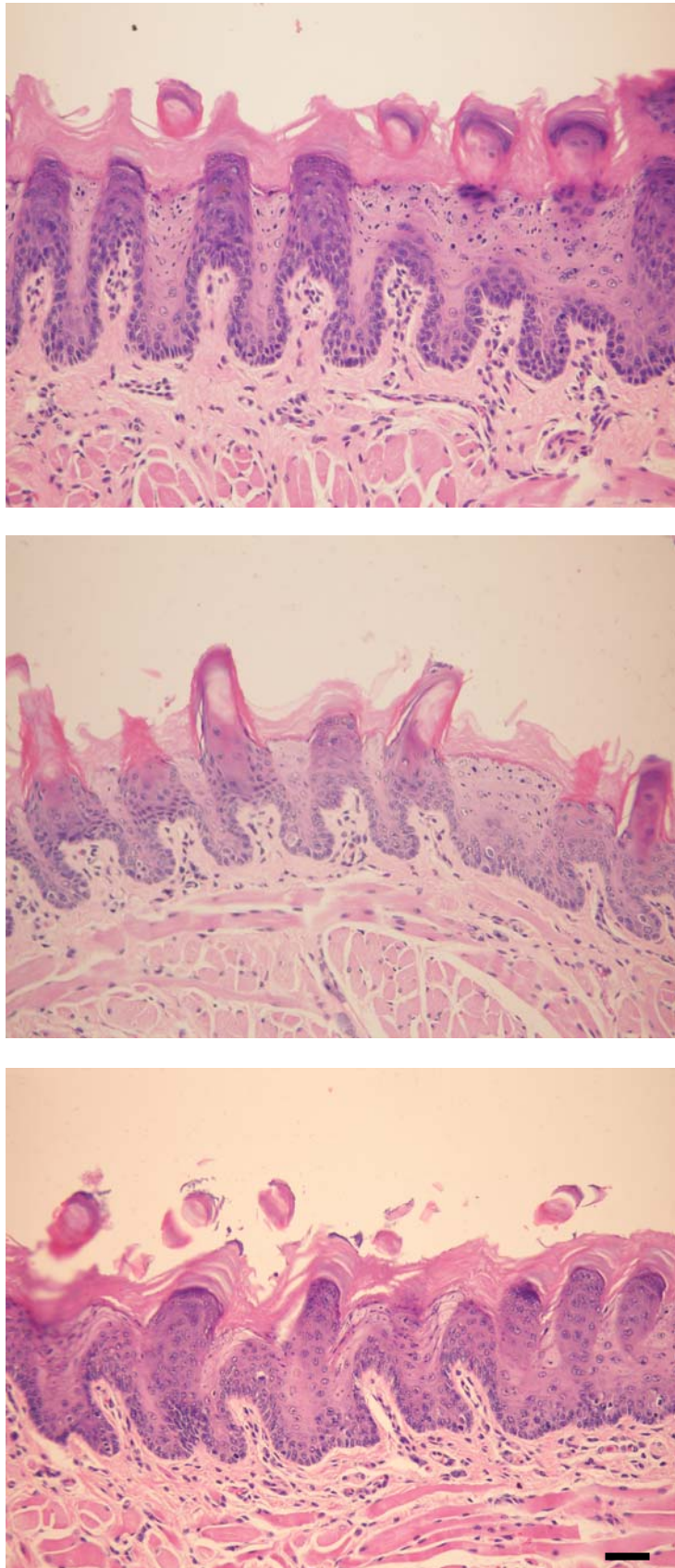
รูปที่ 9 แสดงประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีเจลโพลีแซคคาไรด์ร้อยละ 0.125-2 โดยน้ำหนัก ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* และเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ที่ระยะเวลา 1 นาที เชื้อเริ่มต้นที่ 1×10^6 CFU/ml



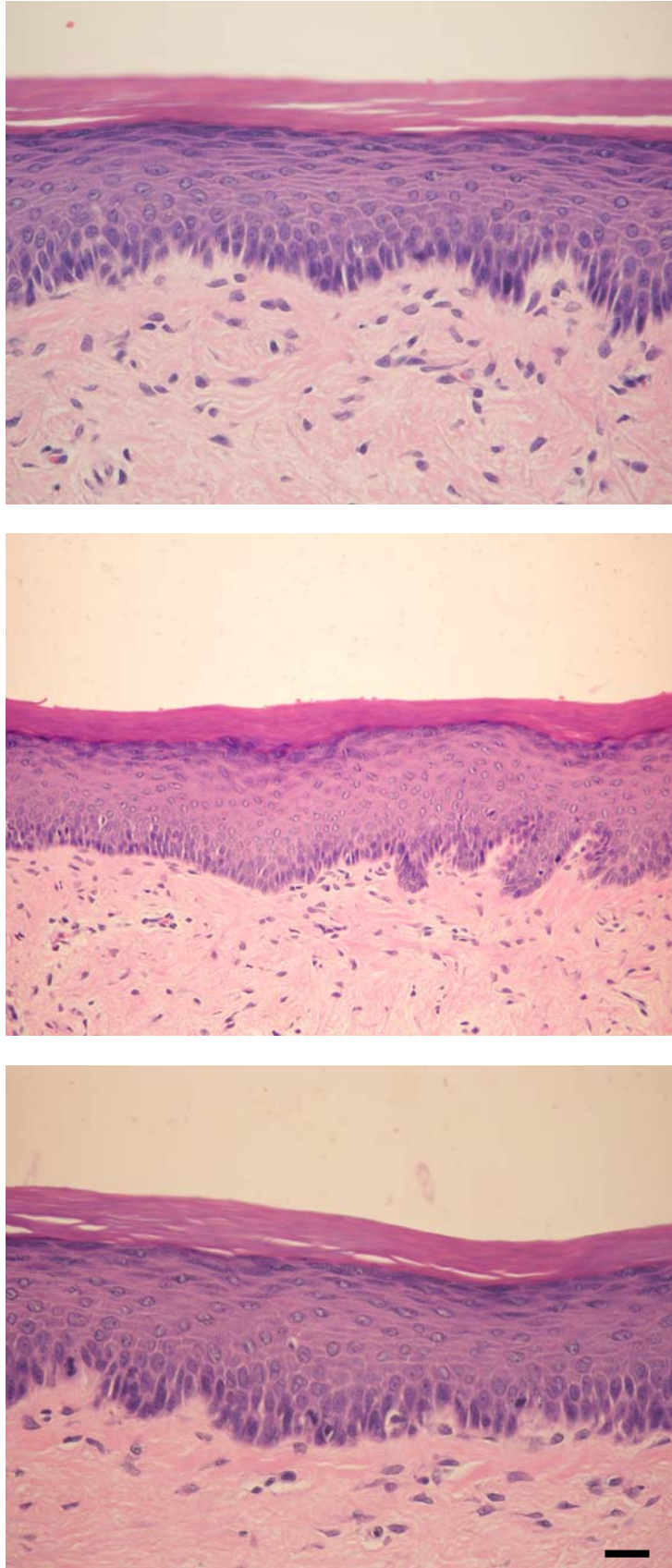
รูปที่ 10 แสดงภาพเยื่อบุกระพุ้งแก้ม ของหนูกลุ่มควบคุม placebo และ Durian-mouthwash ตามลำดับจากบนลงล่าง ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง H&E stain, bar=50 μ m.



รูปที่ 11 แสดงภาพริมฝีปากล่าง ของหนูกลุ่มควบคุม placebo และ Durian-mouthwash ตามลำดับ จากบนลงล่าง ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง H&E stain, bar=50 μ m.



รูปที่ 12 แสดงภาพเยื่อบุลิ้น ของหนูกลุ่มควบคุม placebo และ Durian-mouthwash ตามลำดับจากบนลงล่าง ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง H&E stain, bar=50 μ m.



รูปที่ 13 แสดงภาพเพดานปากแข็ง ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง ของหนูกลุ่มควบคุม placebo และ Durian-mouthwash ตามลำดับจากบนลงล่าง H&E stain, bar=50 μ m.

เอกสารอ้างอิง

1. Coimbra MA, Barros A, Barros M, Rutledge DN, Delgadillo I (1998) Carbohydrate Polymers 37: 241-248.
2. Filiselti C, Tullia MCC and Nicholas C. Carpila (1991) Measurement of uronic acid without interference from neutral sugars. Analytical Biochem. 197: 157-162.
3. Kacurakova M, Capek P, Sasinkova V, Wellner N, Ebringerova A (2000) FT-IR Study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. Carbohydrate Polymers 43: 195-203.
4. Pongsamart S, Lipipun V, Jesadanont S, Pongwiwatana U (2006) Antimicrobial polysaccharide of durian-rind and natural essential oils combination in an effective non-alcoholic antiseptic lotion for hands. Planta Medica 72: 996.
5. Pongsamart S, Panmuang T (1998) Isolation of Polysaccharides from Fruit-Hulls of Durian (*Durio zibethinus* L.). Sonklanakarin J. Sci. Technol. 20 : 323-332.
6. Hokputsa S, Gerddit W, Pongsamart S, Inngjerdigen K, Heinze T, Koschella A, Harding S, Paulsen B (2004) Water-soluble polysaccharides with pharmaceutical importance from Durian rinds (*Durio zibethinus* Murr.) : isolation, fractionation, characterization and bioactivity. Carbohydrate Polymers 56 : 471-481
7. Lipipun V, Phaunfoong T, Ajariyakajorn K, Pongsamart S (2006) *In Viro* Inhibitory Activity of Antibacterial Polysaccharide from Durian-rinds Against Field Isolates of Mastitis Causing Bacteria in Dairy Cows. Acta Pharmacologica Sinica, Supplement 1: 54
8. ผกาวัลย์ มุสิกพงศ์, พสุธา ชาญญะกิจไพศาล และ สุนันท์ พงษ์สามารถ (2548) ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอกคัส มิวแทนส์ และเชื้อแอคติโนแบซิลลัส แอคติโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ ของเจลโพลีแซกคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน วารสารทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 28 : 137-144.
9. Brock TD, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1994) Biology of microorganisms, 7th ed. Pentice Hall, Englewood Cloffs, NJ.,pp.118-124.
10. Kaneko N, Yoshihara A, Ida H, Nomura Y, Imai S, Nisizawa T, et al (2006). Influence of a fluoride mouthrinse on mutans streptococci in schoolchildren. Caries Res. 40:501-7.
11. Griffin SO, Regnier E, Griffin PM, Huntley V (2007). Effectiveness of fluoride in preventing caries in adults. J Dent Res. 86:410-5.
12. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S (2003). Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 1:CD002278.

13. Benjasupattananan S, Lai CS, Persson GR, Pjetursson BE, Lang NP (2005). Effect of a stannous fluoride dentifrice on the sulcular microbiota: a prospective cohort study in subjects with various levels of periodontal inflammation. *Oral Health Prev Dent.* 3:263-72.
14. Kagermeier-Callaway AS, Bredick J, Willershausen B (2000). Effect of three mouthrinses, containing amine/stannous fluoride, herbal extracts or Emser salt on the growth of oral bacteria--an in vitro study. *Eur J Med Res.* 5:523-9.

ภาคผนวก

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

1. การบรรยายผลงานวิจัย ในวันสถาปนาคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในวันที่ 16 พฤษภาคม 2550
2. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในรายการผู้หญิงถึงผู้หญิง ทางไทยทีวีสีช่อง 3
3. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในรายการสมุนไพร ทางสถานีโมเดิร์นไนน์ทีวี
4. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในรายการสมุนไพรเพื่อชีวิต ทางสถานีโทรทัศน์เอเอสทีวี
5. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในรายการ Zoning ทางสถานีโทรทัศน์ไอทีวี
6. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ของสถานีโทรทัศน์เอ็นเอชเค ประเทศญี่ปุ่น
7. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในหนังสือพิมพ์คมชัดลึก
8. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในวารสารชีวิต ปี 2550
9. การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในรายการของสถานีวิทยุจุฬาฯ
10. การขอจดสิทธิบัตรสูตรยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในยาสีฟัน เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก
11. การขอจดสิทธิบัตรสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในน้ำยาบ้วนปาก เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์และผลสำเร็จ

วัตถุประสงค์ของโครงการ	ผลสำเร็จ (%)
1. พัฒนายาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มี สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม 1.1 มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ 1.2 มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ 1.3 มีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปาก 1.4 มีความคงตัว	100
2. พัฒนาน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม 2.1 มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ 2.2 มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ 2.3 มีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปาก 2.4 มีความคงตัว	100

ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมา

กิจกรรมในข้อเสนอโครงการ/ หรือจากการปรับแผน	กิจกรรมที่ดำเนินการ
1. การสกัด พืชสมุนไพรเอกลักษณ์ และคุณสมบัติทั่วไปของสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน	1. การสกัด พืชสมุนไพรเอกลักษณ์ และคุณสมบัติทั่วไปของสาร โพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน
2. การพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ (<i>S.mutans</i>) และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ (<i>A. actinomycetemcomitans</i>)	2. การพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ (<i>S.mutans</i>) และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ (<i>A. actinomycetemcomitans</i>)
3. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของยาสีฟันตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)	3. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของยาสีฟันตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)
4. ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันภายหลังผ่านกรรมวิธีเร่งภาวะ	4. ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ยาสีฟันภายหลังผ่านกรรมวิธีเร่งภาวะ
5. ทดสอบความปลอดภัยของยาสีฟันต่อเนื้อเยื่อช่องปาก	5. ทดสอบความปลอดภัยของยาสีฟันต่อเนื้อเยื่อช่องปาก

6. การพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ (<i>S.mutans</i>) และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ (<i>A. actinomycetemcomitans</i>)	6. การพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ในการทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ (<i>S.mutans</i>) และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ (<i>A. actinomycetemcomitans</i>)
7. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)	7. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.)
8. ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากภายหลังผ่านกรรมวิธีเร่งภาวะ	8. ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากภายหลังผ่านกรรมวิธีเร่งภาวะ
9. ทดสอบความปลอดภัยของยาสีฟันต่อเนื้อเยื่อช่องปาก	9. ทดสอบความปลอดภัยของยาสีฟันต่อเนื้อเยื่อช่องปาก

ผลที่ได้รับตลอดโครงการ

1. ลิขสิทธิ์สูตรยาสีฟันที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในยาสีฟัน เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก
2. ลิขสิทธิ์สูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในน้ำยาบ้วนปาก เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก
3. ยาสีฟันต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลัก เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก
4. น้ำยาบ้วนปากต้นแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลัก เพื่อป้องกัน ยับยั้งหรือรักษาโรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบ โรคปริทันต์ โรคติดเชื้อในช่องปากและรักษาแผลในช่องปาก

(รศ. ทพ. ดร. พสุธา ชาญญะกิจไพศาล)

หัวหน้าโครงการ

วันที่ 10 กรกฎาคม 2552

แบบสรุปโครงการวิจัย

สัญญาเลขที่ RDG5020001 **ชื่อโครงการ** “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ระยะที่ 1”

หัวหน้าโครงการ รศ. ทพ. ดร. พศุภา ธัญญะกิจไพศาล **หน่วยงาน** คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ

โทรศัพท์ 081-713-3311 **โทรสาร** 02-218-8870 **อีเมล** pthunyak@yahoo.com

ความสำคัญ/ ความเป็นมา

โรคฟันผุ โรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์ เป็นปัญหาหลักทางทันตสุขภาพของประชากรไทย โดยโรคดังกล่าวเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เกาะอยู่บนแผ่นคราบจุลินทรีย์บนผิวฟัน เพื่อเป็นการส่งเสริมสุขอนามัยของช่องปากและป้องกันหรือยับยั้งการเกิดโรคดังกล่าว ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากได้ถูกแนะนำเพื่อใช้ร่วมกับการแปรงฟัน จากผลงานวิจัยเบื้องต้นของคณะผู้วิจัยพบสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

Streptococcus mutans และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคฟันผุและโรคปริทันต์ เพื่อให้องค์ความรู้เกี่ยวกับสมุนไพรที่ได้จากการวิจัยเบื้องต้น สามารถพัฒนาไปสู่นวัตกรรมและผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพช่องปาก คณะผู้วิจัยจึงมีความคิดที่จะนำสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนมาเป็นสารออกฤทธิ์หลักของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปาก

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. พัฒนายาสีฟันสมุนไพรต้นแบบที่มี สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ที่มีคุณสมบัติทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ มีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปาก และได้คุณสมบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรม
2. พัฒนาน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรต้นแบบที่มี สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน ที่มีคุณสมบัติทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ มีความปลอดภัยต่อเนื้อเยื่อช่องปาก และได้คุณสมบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรม

ผลการวิจัย

ยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียนเป็นสารออกฤทธิ์หลัก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด มีคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานอุตสาหกรรมยาสีฟันและผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพร (มอก.) และมีความคงตัวในคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพ เมื่อผ่านในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน และมีความปลอดภัยเมื่อทดสอบปฏิกิริยาของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากดังกล่าวในช่องปากของสัตว์ทดลองอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 21 วัน น้ำยาบ้วนปากมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S.mutans* ในอาสาสมัครที่ใช้ติดต่อกันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

คณะผู้วิจัยได้นำสูตรของยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ไปขอจดสิทธิบัตร ผ่านทางสำนักงานทรัพย์สินทางปัญญา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหาบริษัทเอกชนที่สนใจมาซื้อสิทธิบัตร

หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ และใช้ประโยชน์ด้านไหน

หน่วยทันตกรรมพระราชทานในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว มีแนวความคิดจะผลิตยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากดังกล่าวเพื่อแจกจ่ายให้กับประชาชนเป็นการส่งเสริมการดูแลสุขภาพช่องปาก

การประชาสัมพันธ์

1. สิ่งพิมพ์ทั่วไป

1.1 การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาเสพติดในชุมชนแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในหนังสือพิมพ์คมชัดลึก

1.2 การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับยาเสพติดในชุมชนแบบที่มีสารโพลีแซคคาไรด์สกัดจากเปลือกทุเรียน ในวารสารชีวิต ปี 2550

1.3 การเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับน้ำยาบ้วนปากและยาเสพติดจากเปลือกทุเรียน ในจุฬาสัมพันธ์ ฉบับที่ 10 เดือนมีนาคม 2552

2. สิ่งพิมพ์ทางวิชาการ

เนื่องจากทางสำนักงานทรัพย์สินทางปัญญา แนะนำไม่ควรตีพิมพ์บทความวิชาการในระหว่างการยื่นขอจดสิทธิบัตรจากคณะผู้วิจัยจึงรอให้การจดสิทธิบัตรแล้วเสร็จก่อน

3. วิทยู

3.1 รายการสารสนเทศ (วิทยูพาฯ) ตอนทุเรียนดับกลิ่นปาก วันเสาร์ 28 กพ.52

3.2 และรายการรอบรู้จามจุรี (วิทยู อส.) ตอนทุเรียนดับกลิ่นปาก วันเสาร์ 28 กพ.52