



การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และคราบชีวภาพจำลองประยุกต์ของช่องปากแบบง่าย

อรธิชา ธิเตจ๊ะ¹, สกัสนรา ศรีมงคล¹, ณัฏฐุต ธรรมติกานนท์¹, เทิดศักดิ์ สกุลสุข¹

และ จิราภรณ์ แสงประทุม^{1*}

¹โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

*jiraporns@webmail.npru.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และคราบชีวภาพจำลองที่เกี่ยวข้องกับคราบพลัคในช่องปาก โดยเตรียมสารสกัดราสปีเบอร์รี่ด้วยเอทานอล 70% และปรับความเข้มข้นเป็น 25, 50, 75 และ 100% ใช้ 0.12% Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมเชิงลบ การทดสอบแบคทีเรียกรดแลคติกใช้โยเกิร์ตธรรมชาติความเข้มข้น 10% เป็นแหล่งจุลินทรีย์ และประเมินผลจากค่า pH ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่วนการทดสอบ *Saccharomyces cerevisiae* ประเมินจากการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงเวลาเดียวกัน สำหรับการศึกษาคราบชีวภาพจำลอง ประเมินจากปริมาณตะกอนที่หลุดออกภายหลังสัมผัสสารทดลองเป็นเวลา 1, 3, 5 และ 10 นาที ข้อมูลวิเคราะห์ด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dunnett's multiple comparison test ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการศึกษาพบว่า กลุ่ม 0.12% Chlorhexidine ให้ค่า pH สูงที่สุดตลอดการทดลอง ขณะที่กลุ่มสารสกัดราสปีเบอร์รี่มีค่า pH แตกต่างกันตามความเข้มข้นและระยะเวลาการบ่ม สำหรับการทดสอบยีสต์ พบว่าสารสกัดราสปีเบอร์รี่ความเข้มข้น 100% ให้การผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงที่สุดในช่วง 48 และ 72 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาคราบชีวภาพจำลองพบว่า ปริมาณตะกอนที่หลุดออกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสสารในทุกกลุ่ม โดยสารสกัดราสปีเบอร์รี่ความเข้มข้น 50% ให้ผลใกล้เคียงกับ 0.12% Chlorhexidine มากที่สุด ขณะที่สารสกัดความเข้มข้น 75 และ 100% ให้ปริมาณตะกอนที่หลุดออกลดลง

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดราสปีเบอร์รี่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของแบคทีเรียกรดแลคติก การผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของยีสต์ และการหลุดออกของคราบชีวภาพจำลองแตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารสกัด อย่างไรก็ตามภายใต้เงื่อนไขการศึกษานี้ สารสกัดราสปีเบอร์รี่ยังไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพได้เทียบเท่า 0.12% Chlorhexidine และสารสกัดความเข้มข้นสูงอาจส่งผลกระทบต่อกิจกรรมการหมักของยีสต์

คำสำคัญ: ราสเบอร์รี่, คราบพลัค, แบคทีเรียกรดแลคติก *Saccharomyces cerevisiae*, คราบชีวภาพจำลอง



A Study on the Effects of Raspberry Extract on Lactic Acid Bacteria, Yeast, and a Simple Simulated Oral Biofilm Model

Ornticha Titeja¹, Supassara Srimonkhon¹, Nattarit Thamtikanon¹, Teardsak Skunsuk¹
and Jiraporn Saengpratum^{1*}

¹Demonstration School of Nakhon Pathom Rajabhat University

*jiraporns@webmail.npru.ac.th

Abstract

This study aimed to investigate the effects of raspberry extract on lactic acid bacteria, yeast, and a simplified biofilm model associated with oral dental plaque. Raspberry extract was prepared using 70% ethanol at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. A 0.12% Chlorhexidine solution and distilled water were used as the positive and negative controls, respectively. Lactic acid bacteria were obtained from 10% natural yogurt, and their activity was evaluated by measuring pH after 24, 48, and 72 h of incubation. The activity of *Saccharomyces cerevisiae* was assessed by measuring CO₂ production at the same time points. The simplified biofilm model was evaluated by measuring the amount of detached biofilm sediment after exposure to the test solutions for 1, 3, 5, and 10 min. Data were analyzed using two-way analysis of variance (two-way ANOVA) followed by Dunnett's multiple comparison test, with statistical significance set at $p < 0.05$.

The results showed that the 0.12% Chlorhexidine group consistently exhibited the highest pH values throughout the experiment. In contrast, the raspberry extract-treated groups showed pH values that varied according to extract concentration and incubation time. The 100% raspberry extract produced the highest CO₂ production at 48 and 72 h. In the simplified biofilm model, the amount of detached biofilm sediment increased with exposure time in all groups, and the 50% raspberry extract showed the most comparable effect to 0.12% Chlorhexidine, whereas the 75% and 100% extracts resulted in lower amounts of detached biofilm sediment.

In conclusion, raspberry extract affected the pH of lactic acid bacteria, CO₂ production by *Saccharomyces cerevisiae*, and biofilm detachment in a concentration-dependent manner. However, under the conditions of this study, its efficacy remained inferior to that of 0.12% Chlorhexidine, and higher concentrations of raspberry extract may enhance the fermentative activity of yeast.

Keywords: raspberry dental plaque lactic acid bacteria *Saccharomyces cerevisiae* Simulated Oral biofilm

1. บทนำ

ในปัจจุบัน ผู้คนจำนวนมากนิยมบริโภคชาและกาแฟเป็นประจำ ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับปัญหาสุขภาพช่องปาก โดยเฉพาะการสะสมของคราบจุลินทรีย์บนผิวฟัน หรือที่เรียกว่า คราบพลัค (dental plaque) ซึ่งเมื่อสะสมต่อเนื่องเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดการก่อตัวของหินปูนได้ คราบพลัคเกิดจากการรวมตัวและสะสมของจุลินทรีย์หลายชนิดบนผิวฟัน เช่น ยีสต์และแบคทีเรียกรดแลกติก (lactic acid bacteria) ส่งผลกระทบต่อสุขภาพช่องปากหลายประการ ได้แก่ ฟันผุ กลิ่นปาก เหงือกอักเสบ และการเปลี่ยนแปลงของสีฟัน [1, 2]

แบคทีเรียกรดแลกติกมีบทบาทสำคัญต่อการลดลงของค่า pH บนผิวฟัน เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสร้างกรดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของน้ำตาล ส่งผลให้สภาวะแวดล้อมในช่องปากมีความเป็นกรดมากขึ้น และอาจนำไปสู่การสลายตัวของสารเคลือบฟัน (enamel) ซึ่งถือเป็นระยะเริ่มต้นของการเกิดฟันผุ [1, 2] ขณะเดียวกันจุลินทรีย์ที่สะสมอยู่บนผิวฟันยังสามารถสร้างโครงสร้างชีวภาพที่เรียกว่า ไบโอฟิล์ม (biofilm) เพื่อห่อหุ้มและยึดเกาะกลุ่มจุลินทรีย์บนพื้นผิวฟัน ก่อนจะพัฒนาเป็นคราบพลัค [3]

น้ำยาบ้วนปากมีคลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine) เป็นองค์ประกอบสำคัญ สามารถช่วยลดคราบพลัคและการอักเสบของเหงือกได้เมื่อใช้ร่วมกับการแปรงฟัน อย่างไรก็ตาม การใช้คลอร์เฮกซิดีนต่อเนื่องอาจก่อให้เกิดผลตามมา เช่น คราบสีบนฟัน การเปลี่ยนแปลงการรับรส การระคายเคืองเยื่อช่องปาก และอาการแพ้หรือภาวะไวเกินในบางราย [4-6] ขณะเดียวกันงานวิจัยในไทยยังรายงานว่ น้ำยาบ้วนปากจากสารธรรมชาติบางชนิด เช่น สารสกัดจากแอนโทไซยานิน และน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น มีศักยภาพในการลดคราบพลัคและเหงือกอักเสบ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงการพัฒนาทางเลือกจากธรรมชาติสำหรับการดูแลสุขภาพช่องปาก [7, 8]

ราสป์เบอร์รี่ (*Rubus idaeus* L.) เป็นผลไม้ที่อุดมด้วยสารพฤกษเคมี โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอล เช่น anthocyanins และ ellagitannins ซึ่งเป็นกลุ่มสารสำคัญที่สัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น สารสกัดราสป์เบอร์รี่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านจุลชีพ [9] รวมทั้งมีรายงานการยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans* [10] นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากราสป์เบอร์รี่มีศักยภาพในการยับยั้งการยึดเกาะและการเกิดไบโอฟิล์มของ *Candida* spp. ซึ่งสนับสนุนความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ราสป์เบอร์รี่เพื่อลดการก่อตัวของไบโอฟิล์มในช่องปาก [11]

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดราสป์เบอร์รี่ในการลดปริมาณจุลินทรีย์และประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดคราบไบโอฟิล์มจำลอง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาและต่อยอดการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการดูแลสุขภาพช่องปากในอนาคต

2. วิธีการดำเนินการ

2.1 การเตรียมสารสกัดราสป์เบอร์รี่

เตรียมสารสกัดราสป์เบอร์รี่โดยใช้ราสป์เบอร์รี่อบแห้ง 10 กรัม ทำการบดด้วยมือ จากนั้นเติม 70% เอทานอล (อัตราส่วน 1 กรัม : 10 มิลลิลิตร) เมื่อบดเสร็จแล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วทำการสกัดแบบหมัก (maceration) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้มาเตรียมความเข้มข้นที่ 25%, 50%, 75%, และ 100% โดยใช้ 0.12% chlorhexidine เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมเชิงลบ

2.2 การศึกษาสารสกัดราสป์เบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติก (*Lactobacillus* spp.)

เตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ โยเกิร์ตธรรมชาติความเข้มข้น 10% นำตัวอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการใส่สารสกัดราสป์เบอร์รี่ความเข้มข้นที่ 25%, 50%, 75%, และ 100% โดยใช้ 0.12% Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ทำการผสมให้เข้ากัน ปิดฝาแล้ว

นำไปบ่มด้วยตูบ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการวัดและบันทึกค่า pH ด้วย pH meter ที่เวลา 24, 48, และ 72 ชั่วโมง ทำการทดลองนี้ซ้ำ 3 ครั้ง

2.3 การศึกษาสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของ ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)

เตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ ตัวอย่างยีสต์ความเข้มข้น 10% นำตัวอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการใส่สารสกัดราสปีเบอร์รี่ความเข้มข้นที่ 25%, 50%, 75%, และ 100% โดยใช้ 0.12% Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ทำการผสมให้เข้ากันด้วยมือ ปิดฝาแล้วนำไปบ่มด้วยตูบ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการวัดความสูงของปริมาณฟองอากาศคาร์บอนไดออกไซด์ ที่เวลา 24, 48, และ 72 ชั่วโมง ทำการทดลองนี้ซ้ำ 3 ครั้ง

2.4 การเตรียมคราบชีวภาพจำลองแบบง่าย (Simple Simulated Oral Biofilm)

นำตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ โยเกิร์ตธรรมชาติความเข้มข้น 10% และตัวอย่างยีสต์ความเข้มข้น 10% นำตัวอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ปิกร์ผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างที่ผสมแล้ว ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมจานเพาะ (96 well plate) ทำการปิดฝาให้สนิท และพันด้วยพาราฟิล์มป้องกันอากาศเข้าไป หลังจากนั้นทำการบ่มในตูบ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำออกมาดูของเหลวใส โดยใช้ไมโครปิเปต ดูปริมาตรของเหลว (supernatant) ที่ยังอยู่อย่างระมัดระวัง แล้วนำจานเพาะไปบ่มต่อจนครบ 7 วัน เมื่อนำออกมาคราบชีวภาพจำลองหรือไบโอฟิล์มจะมีลักษณะแข็ง แน่นเป็นก้อนติดกับจานเพาะ

2.5 การศึกษาผลของสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อการหลุดลอกของคราบชีวภาพจำลองแบบง่าย

นำสารสกัดราสปีเบอร์รี่ความเข้มข้นที่ 50%, 75%, และ 100% โดยใช้ 0.12% Chlorhexidine เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละหลุมของจานเพาะ (96-well plate) โดยทำการทดสอบที่เวลา 1, 3, 5, และ 10 นาที เมื่อครบเวลา ทำการดูของเหลว (supernatant) ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร (โดยทำการชั่งหลอดก่อนนำมาใช้ ด้วยเครื่องชั่งดิจิทัล 4 ตำแหน่ง) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,800 rpm เป็นเวลา 1 นาที เมื่อครบเวลาทำการดูของเหลวออกให้หมด โดยดูออกที่ปริมาตร 120 ไมโครลิตร แล้วนำตะกอนหรือของเหลวขุ่นที่หลุดออกมาจากคราบชีวภาพ ไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ทำการบันทึกค่าตะกอนที่หลุดออกมา แล้วนำไปวิเคราะห์ผล ทำการทดลองนี้ซ้ำ 3 ครั้ง

2.6 สถิติที่ใช้ในการศึกษา

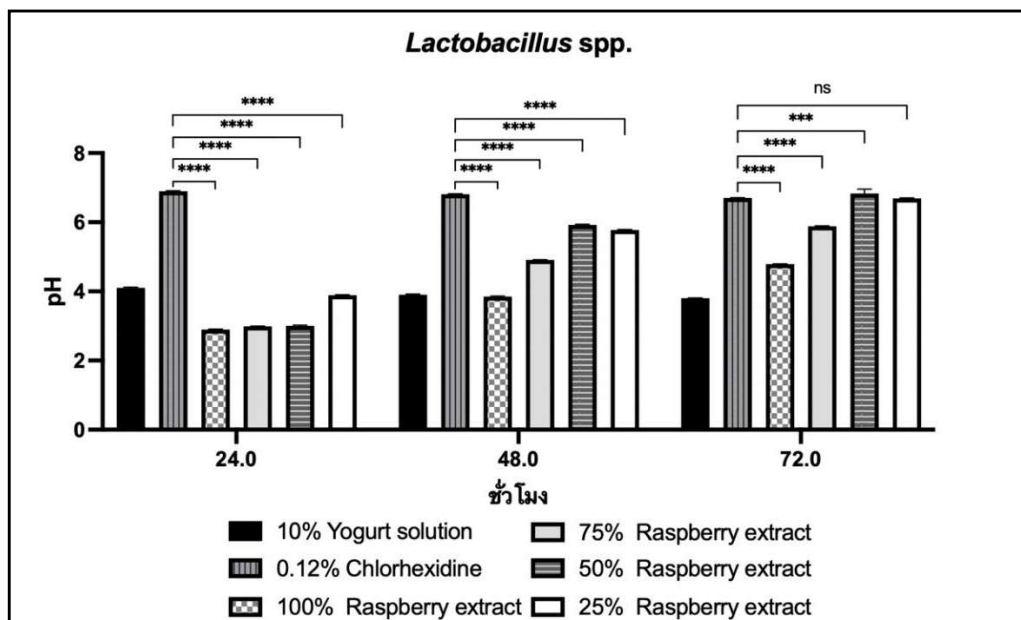
ข้อมูลจากการทดลองแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard deviation; Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม GraphPad Prism version 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) การเปรียบเทียบผลของสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของแบคทีเรียกรดแลคติก การผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของยีสต์ และการเกิดคราบชีวภาพจำลองแบบง่าย วิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way analysis of variance; two-way ANOVA) โดยกำหนดปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของสารสกัด และระยะเวลาการทดสอบ เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Dunnett's multiple comparison test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

3. ผลการศึกษา

3.1 ผลการศึกษาสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติก (*Lactobacillus* spp.)

การศึกษาผลของสารสกัดราสปีเบอร์รี่ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของ *Lactobacillus* spp. ภายหลังจากบ่มเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า ค่า pH แตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาการบ่ม ดังภาพที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way ANOVA) พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัด ระยะเวลาการบ่ม และปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองปัจจัยมีผลต่อค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง กลุ่ม 0.12% Chlorhexidine มีค่า pH สูงที่สุด (6.82 ± 0.05) ขณะที่กลุ่มสารสกัดราสปีเบอร์รี่ทุกความเข้มข้นมีค่า pH ต่ำกว่า ($2.85-$

3.82) และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) โดยกลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ความเข้มข้น 25% ให้ค่า pH สูงที่สุดในกลุ่มสารสกัด (3.82 ± 0.04) เมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ค่า pH ของทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดราสป์เบอร์รี่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.84–5.89 อย่างไรก็ตาม ทุกกลุ่มยังคงมีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่ม 0.12% Chlorhexidine (6.75 ± 0.04) และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ค่า pH ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดราสป์เบอร์รี่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยกลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ความเข้มข้น 50% มีค่า pH สูงที่สุดในบรรดากลุ่มสารสกัด (6.82 ± 0.05) ขณะที่กลุ่มสารสกัดความเข้มข้น 25% (6.69 ± 0.04) ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 0.12% Chlorhexidine (6.70 ± 0.03) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มสารสกัดความเข้มข้น 50, 75 และ 100% แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$ และ $p < 0.0001$ ตามลำดับ) กล่าวได้ว่า สารสกัดราสป์เบอร์รี่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของ *Lactobacillus* spp. โดยค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มในทุกกลุ่มทดลอง อย่างไรก็ตาม ผลของสารสกัดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง กลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ความเข้มข้น 25% ให้ค่า pH ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 0.12% Chlorhexidine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของ *Lactobacillus* spp. ภายหลังได้รับสารสกัดราสป์เบอร์รี่ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

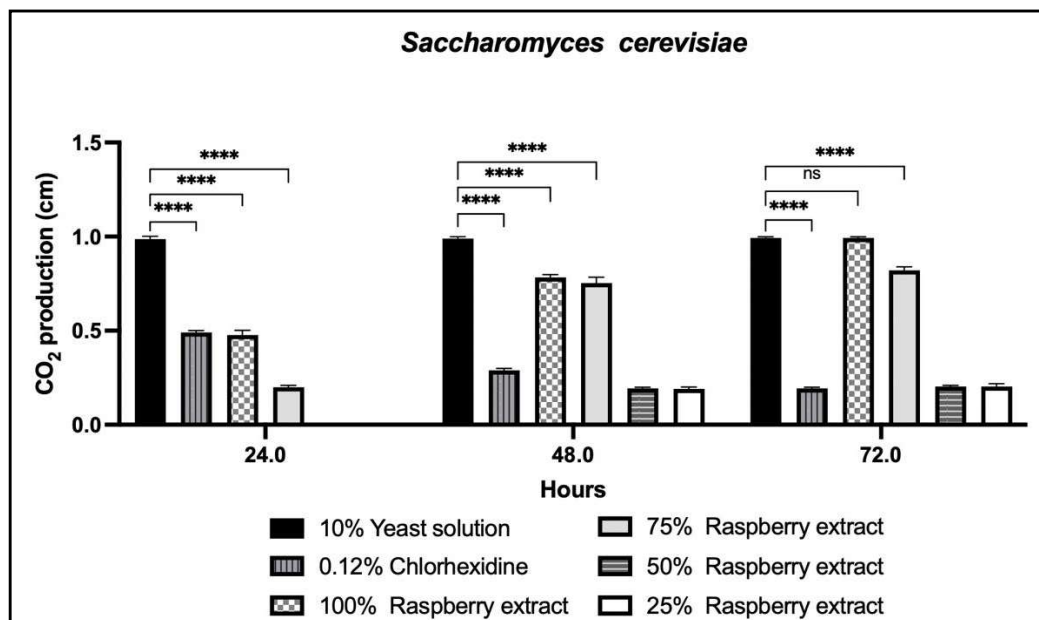
ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ($n = 3$) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0.12% Chlorhexidine ด้วยวิธี Dunnett's multiple comparison test โดย ** หมายถึง $p < 0.0001$, *** หมายถึง $p < 0.001$ และ ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$).

3.2 ผลการศึกษาสารสกัดราสป์เบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)

การศึกษาผลของสารสกัดราสป์เบอร์รี่ต่อการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ของ *Saccharomyces cerevisiae* ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณ CO_2 ที่ผลิตแตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาการบ่ม ดังภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way ANOVA) พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัด ระยะเวลาการบ่ม และปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองปัจจัยมีผลต่อปริมาณ CO_2 ที่ผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง กลุ่ม 10% Yeast solution (ควบคุมเชิงลบ) มีการผลิต CO_2 สูงที่สุด ขณะที่กลุ่ม 100% Raspberry extract และ 0.12% Chlorhexidine ให้ CO_2 ใกล้เคียงกัน ส่วนกลุ่ม 75% Raspberry extract ให้

ปริมาณ CO₂ ต่ำกว่า และกลุ่ม 50% และ 25% Raspberry extract ให้ปริมาณ CO₂ ต่ำที่สุด โดยทุกกลุ่มทดลองแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) เมื่อเป็นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง กลุ่ม 100% Raspberry extract มีการผลิต CO₂ เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน รองลงมาคือกลุ่ม 75% Raspberry extract ขณะที่กลุ่ม 50% และ 25% Raspberry extract ยังคงมีการผลิต CO₂ ในระดับต่ำ โดยทุกกลุ่มทดลองแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง กลุ่ม 100% Raspberry extract มีการผลิต CO₂ สูงสุด และไม่แตกต่างจากกลุ่ม 10% Yeast solution (ควบคุมเชิงลบ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ขณะที่กลุ่ม 75% Raspberry extract มีการผลิต CO₂ รองลงมา ส่วนกลุ่ม 50% และ 25% Raspberry extract ยังคงมีการผลิต CO₂ ในระดับต่ำ และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

โดยสรุป สารสกัดราสเบอร์รี่ส่งผลต่อการผลิต CO₂ ของ *Saccharomyces cerevisiae* โดยผลดังกล่าวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาการบ่ม ทั้งนี้ สารสกัดราสเบอร์รี่ความเข้มข้น 100% ให้การผลิต CO₂ สูงที่สุด และที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงมีการผลิต CO₂ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเชิงลบ ซึ่งสะท้อนว่าสารสกัดราสเบอร์รี่ความเข้มข้นสูงสามารถส่งเสริมกิจกรรมการหมักของยีสต์ได้ภายใต้สภาวะการทดลองนี้ ดังภาพที่ 2



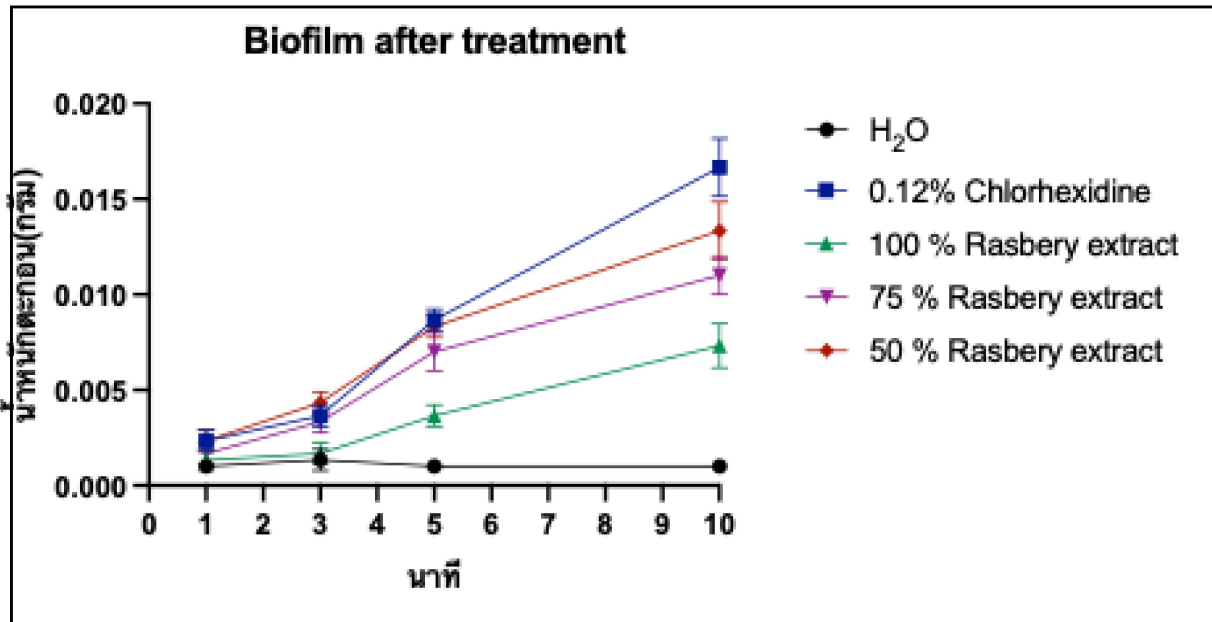
ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ CO₂ ภายหลังได้รับสารสกัดราสเบอร์รี่ความเข้มข้นต่างกัน ที่เวลา 24, 48, และ 72 ชั่วโมง

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ($n = 3$) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 10% Yeast solution ด้วยวิธี Dunnett's multiple comparison test โดย ** หมายถึง $p < 0.0001$, *** หมายถึง $p < 0.001$ และ ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$).

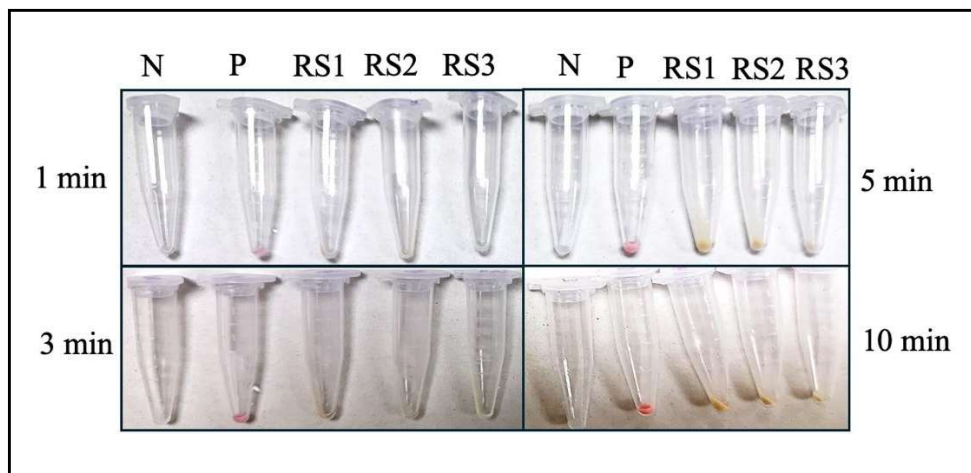
3.3 ผลการศึกษาการใช้สารสกัดราสเบอร์รี่ในคราบชีวภาพจำลอง

ผลการศึกษาการใช้สารสกัดราสเบอร์รี่ในคราบชีวภาพจำลอง โดยวัดจากปริมาณตะกอนที่หลุดออกจากคราบชีวภาพจำลอง ผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดต่ำ 50% Raspberry extract มีปริมาณตะกอนที่หลุดออกมาใกล้เคียงกับ 0.12% Chlorhexidine (ควบคุมเชิงลบ) และมีความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น พบว่ามีปริมาณของสารสกัดหลุดออกจากคราบชีวภาพน้อยลง ได้แก่ 75% Raspberry extract ตามด้วย 100% Raspberry extract ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อใช้สารสกัดแช่คราบชีวภาพจำลอง โดยเมื่อพิจารณาที่เวลา 1, 3, 5 และ 10 นาที พบว่า ปริมาณตะกอนที่วัดได้

เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นจนถึงช่วงเวลาสุดท้ายของการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาในการสัมผัสสารมีผลต่อการหลุดออกของคราบชีวภาพจำลองอย่างชัดเจน และเพิ่มสูงที่สุดที่เวลา 10 นาที อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารสกัดยังคงมีผลต่อปริมาณตะกอนที่หลุดออกจากคราบชีวภาพมากที่สุดจากความเข้มข้นต่ำสุดไปยังความเข้มข้นสูงสุด ดังภาพที่ 3 และภาพที่ 4



ภาพที่ 3 ผลการศึกษาการใช้สารสกัดราสเบอร์รี่ความเข้มข้นต่างกันในคราบชีวภาพจำลองแบบง่าย ที่เวลา 1, 3, 5, และ 10 นาที



ภาพที่ 4 ตะกอนหลังจากแช่สารสกัดราสเบอร์รี่ความเข้มข้นต่างกันในคราบชีวภาพจำลองแบบง่าย ที่เวลา 1, 3, 5, และ 10 นาที

(N; น้ำกลั่น, P; 0.12% Chlorhexidine; RS1; 50% Raspberry extract, RS2; 75% Raspberry extract, RS3; 100% Raspberry extract)

4. อภิปรายผลการศึกษา

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดราสป์เบอร์รี่มีผลต่อแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และคราบชีวภาพจำลองแตกต่างกันตามความเข้มข้น แต่โดยรวมยังไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่เด่นชัดเมื่อเทียบกับ 0.12% Chlorhexidine โดยในการทดสอบแบคทีเรียกรดแลคติก 0.12% Chlorhexidine (ตัวควบคุมเชิงบวก) ให้ค่า pH สูงที่สุดอย่างต่อเนื่อง ขณะที่กลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ให้ค่า pH ต่ำกว่า แม้ค่า pH จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดก็ตาม ส่วนในการทดสอบยีสต์ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นตามเวลาและความเข้มข้นของสารสกัด โดยเฉพาะกลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ที่ความเข้มข้น 100% (100% Raspberry extract) และในการทดสอบคราบชีวภาพจำลองพบว่า สารสกัดราสป์เบอร์รี่ 50% (50% Raspberry extract) ให้ปริมาณตะกอนที่หลุดออกใกล้เคียง Chlorhexidine มากที่สุด ขณะที่สารสกัด 75% (75% Raspberry extract) และ 100% Raspberry extract) ให้ปริมาณตะกอนหลุดออกน้อยกว่า ผลทั้งหมดนี้ชี้ว่า สารสกัดราสป์เบอร์รี่ในรูปแบบที่ใช้ในงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคราบพลัคได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่ามาตรฐาน

เมื่อพิจารณาผลต่อแบคทีเรียกรดแลคติก การที่สาร 0.12% Chlorhexidine ให้ค่า pH สูงที่สุดตลอดการทดลองสะท้อนถึงความสามารถของสารดังกล่าวในการลดกิจกรรมที่สัมพันธ์กับการสร้างกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก (*Lactobacillus* spp.) ได้ดีกว่าสารสกัดราสป์เบอร์รี่ ขณะที่กลุ่มสารสกัดราสป์เบอร์รี่ทั้งหมดให้ค่า pH ต่ำกว่า แสดงว่าสภาวะความเป็นกรดยังคงเกิดขึ้นสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกที่ทำให้ค่า pH ต่ำลง แม้ในกลุ่มที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีแนวโน้มของค่า pH สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่ม 25% ก็ตาม จากการทดลองนี้กล่าวได้ว่าสารสกัดราสป์เบอร์รี่ความเข้มข้นสูงอาจยังไม่เพียงพอที่จะยับยั้งภาวะ acidogenicity ได้ในระดับใกล้เคียงกับ Chlorhexidine ประเด็นนี้สอดคล้องกับแนวคิด ecological plaque hypothesis ที่อธิบายว่า การเกิดฟันผุและการเปลี่ยนแปลงของคราบพลัคสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิดสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรดอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ทนกรดและสร้างกรดได้ดีให้เด่นขึ้นในชุมชนจุลินทรีย์บนผิวฟัน [2] อย่างไรก็ตาม ผลที่สารสกัดราสป์เบอร์รี่ไม่สามารถยับยั้งระบบได้ชัดเจนอาจเกี่ยวข้องกับลักษณะของสารสกัดที่ใช้เองด้วย เพราะราสป์เบอร์รี่เป็นพืชที่มีสารพฤกษเคมีหลายกลุ่ม โดยเฉพาะ ellagitannins และ anthocyanins ซึ่งเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน[9] แต่ฤทธิ์ของสารสกัดจากผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ขึ้นกับตัวทำละลาย วิธีสกัด และองค์ประกอบที่ได้จากการสกัดอย่างมาก โดยสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่างกันอาจมีองค์ประกอบของสารสำคัญไม่เหมือนกัน และส่งผลทางชีวภาพแตกต่างกัน [12] ในบริบทของจุลินทรีย์ในช่องปาก [13] พบว่าเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากตระกูลเบอร์รี่ชนิดอื่นกับการยับยั้งเชื้อก่อโรคในช่องปาก พบว่าสารสกัดราสป์เบอร์รี่ให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียน้อยที่สุด ผลดังกล่าวสนับสนุนข้อสรุปจากการศึกษาครั้งนี้ [13]

จากผลการศึกษาสารสกัดราสป์เบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของพบว่า ปริมาณ CO₂ เพิ่มขึ้นตามเวลาและความเข้มข้นของสารสกัด โดยเฉพาะสารสกัดราสป์เบอร์รี่ที่ความเข้มข้น 100% (100% Raspberry extract) ซึ่งให้ค่าการผลิตก๊าซสูงที่สุดในช่วง 48 และ 72 ชั่วโมง สะท้อนว่า ภายใต้เงื่อนไขของการทดลอง สารสกัดราสป์เบอร์รี่ไม่ได้ยับยั้งกิจกรรมการหมัก (Fermentation) ของ *Saccharomyces cerevisiae* และเอื้อต่อการดำรงกิจกรรมเมแทบอลิซึมของยีสต์ได้ ที่มีผลต่อการผลิตปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

ผลการศึกษาต่อคราบชีวภาพจำลองโดยใช้สารสกัดราสป์เบอร์รี่ 50% (50% Raspberry extract) จะให้ปริมาณตะกอนที่หลุดออกใกล้เคียง Chlorhexidine มากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 75% และ 100% กลับพบว่าปริมาณตะกอนหลุดออกลดลง ซึ่งหมายความว่าในเงื่อนไขที่ใช้ สารสกัดความเข้มข้นสูงไม่ได้ช่วยรบกวนความคงตัวของคราบชีวภาพที่ก่อตัวแล้วได้ดีขึ้น ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงฤทธิ์ของสารจากเบอร์รี่ที่ความเข้มข้นสูง ไม่ได้สัมพันธ์กับ “ฆ่าเชื้อ” หรือ “สลายคราบชีวภาพ” โดยตรง แต่เด่นในขั้นของการยับยั้งการยึดเกาะและการก่อตัวของ biofilm ระยะแรกมากกว่า แต่มีรายงานว่าสารสกัดจากราสป์เบอร์รี่มีฤทธิ์ anti-adhesion ต่อ *Candida* spp. และสามารถลดการยึดเกาะได้ [11] ขณะที่งานวิจัยอื่นพบว่าสารสกัดราสป์เบอร์รี่สามารถยับยั้งการเกาะติดและการสร้าง biofilm ของ *Streptococcus mutans* ได้แบบขึ้นกับความเข้มข้น

โดยไม่ลดการเจริญของแบคทีเรียโดยตรง[14] จากงานวิจัยที่กล่าวถึงนี้สะท้อนให้เห็นว่า ประสิทธิภาพของการกำจัดคราบชีวภาพของสารจากเบอรรีทำการศึกษาด้าน “การเกาะติด/การก่อตัว” มากกว่าการศึกษาด้าน “การหลุดออกของคราบที่ก่อตัวแล้ว” ดังนั้น ความไม่สอดคล้องของผลการศึกษานี้กับงานวิจัยก่อนหน้านี้อาจเกิดจากความแตกต่างของ ชนิดสารสกัด, จุลินทรีย์ที่ใช้, และโมเดลจำลองที่ใช้ในการศึกษา [11, 14] นอกจากนี้ยังมีการวิจัยได้ทำการศึกษาศักยภาพในการสร้างคราบชีวภาพ ของ *Lactobacilli* พบว่าการสร้างคราบชีวภาพเองค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับ *S. mutans* ดังนั้น การใช้ *Lactobacilli* จากโยเกิร์ตเป็นตัวแทนของระบบคราบพลัคจึงยังไม่ครอบคลุมองค์ประกอบสำคัญของคราบพลัคในช่องปากทั้งหมด โดยเฉพาะการยึดเกาะบนผิวฟันและการสร้าง extracellular polysaccharide matrix ของเชื้อก่อฟันผุหลัก [15]

ดังนั้น การศึกษานี้จึงใช้แบบจำลองของแบคทีเรียกรดแลคติก (*Lactobacillus* spp.) และยีสต์ที่ใช้คือ *S. cerevisiae* ซึ่งไม่ใช่เชื้อราหลักของ oral biofilm ทางคลินิก และแบบจำลองคราบชีวภาพที่ใช้ยังไม่รวมเชื้อก่อฟันผุสำคัญ เช่น *Streptococcus mutans* หรือ *Candida albicans* จึงเป็นเพียงการศึกษาในเบื้องต้น ในการออกแบบโมเดลคราบชีวภาพอย่างง่ายในระดับโรงเรียน และการศึกษาสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาสารสกัดของราสปีเบอรรีต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในช่องปากต่อไปได้

5. สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดราสปีเบอรรีต่อแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์ และคราบชีวภาพจำลองของช่องปากแบบง่าย โดยใช้สารสกัดราสปีเบอรรีความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% เปรียบเทียบกับ 0.12% chlorhexidine ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงบวก และน้ำกลั่นซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ผลการศึกษาพบว่า ในการทดสอบต่อแบคทีเรียกรดแลคติก กลุ่ม 0.12% chlorhexidine ให้ค่า pH สูงที่สุดอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการทดลอง ขณะที่กลุ่มสารสกัดราสปีเบอรรีให้ค่า pH ต่ำกว่า โดยกลุ่มสารสกัดความเข้มข้น 25% ให้ค่า pH ต่ำที่สุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนการทดสอบต่อยีสต์พบว่า ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มและความเข้มข้นของสารสกัด โดยเฉพาะสารสกัดราสปีเบอรรี 100% ซึ่งให้ค่าการผลิตก๊าซสูงที่สุดในช่วง 48 และ 72 ชั่วโมง สำหรับการศึกษาคราบชีวภาพจำลอง พบว่า ปริมาณตะกอนที่หลุดออกจากคราบเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสสารในทุกกลุ่ม และสารสกัดราสปีเบอรรี 50% ให้ผลใกล้เคียงกับ 0.12% chlorhexidine มากที่สุด ขณะที่สารสกัด 75% และ 100% ให้ปริมาณตะกอนที่หลุดออกลดลง ผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่า สารสกัดราสปีเบอรรีมีผลต่อระบบจุลินทรีย์และคราบชีวภาพจำลองแตกต่างกันตามความเข้มข้น แต่ยังไม่สามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งได้เด่นชัดเทียบเท่า 0.12% chlorhexidine และในบางสภาวะอาจมีแนวโน้มสัมพันธ์กับการส่งเสริมการเจริญของยีสต์และความคงตัวของคราบชีวภาพจำลองได้

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Paes Leme, A. F., Koo, H., Bellato, C. M., Bedi, G., & Cury, J. A. (2006). The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—New insight. *Journal of Dental Research*, 85(10), 878–887. <https://doi.org/10.1177/154405910608501002>
- [2] Takahashi, N., & Nyvad, B. (2011). The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. *Journal of Dental Research*, 90(3), 294–303. <https://doi.org/10.1177/0022034510379604>
- [3] LLu, Y., Lin, Y., Li, M., & He, J. (2023). Roles of *Streptococcus mutans*-*Candida albicans* interaction in early childhood caries: A literature review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, Article 1125206. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1125206>



- [4] James, P., Worthington, H. V., Parnell, C., Harding, M., Lamont, T., Cheung, A., Whelton, H., & Riley, P. (2017). Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(3), Article CD008676. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008676.pub2>
- [5] Pemberton, M. N., & Gibson, J. (2012). Chlorhexidine and hypersensitivity reactions in dentistry. *British Dental Journal*, 213(11), 547–550. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2012.1086>
- [6] Kritaya Setthasathit. (2023). Effectiveness of chlorhexidine and herbal ingredients in mouthwashes. *Interdisciplinary Journal for Health*, 5(1), 1–13.
- [7] Panich, J., Santiwong, P., Chintavalakorn, R., & Tancharoen, S. (2023). Evaluation of mouthwash containing anthocyanin extract for the control of dental plaque formation and gingivitis in orthodontic patients. *Mahidol Dental Journal*, 43(2), 149–156.
- [8] Vachirarojpisan, T., Karnchanarungroj, K., Posiri, C., Hongsamsipjet, P., Charoensup, R., & Worapamorn, W. (2021). Efficacy of alcohol-free mouthwash containing essential oil from the fruits of *Zanthoxylum limonella* Alston on dental biofilm, gingivitis, and *Streptococcus mutans* controls. *Mahidol Dental Journal*, 41(1), 83–90.
- [9] Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., & Edirisinghe, I. (2016). Red raspberries and their bioactive polyphenols: Cardiometabolic and neuronal health links. *Advances in Nutrition*, 7(1), 44–65. <https://doi.org/10.3945/an.115.010363>
- [10] Gomathi, R., Umamaheswari, T. N., & Prethipa, R. (2024). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities of raspberry fruit extract: An in vitro study. *Cureus*, 16(2), Article e54160. <https://doi.org/10.7759/cureus.54160>
- [11] Dutreix, L., Bernard, C., Juin, C., Imbert, C., & Girardot, M. (2018). Do raspberry extracts and fractions have antifungal or anti-adherent potential against *Candida* spp.? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(6), 947–953. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.06.012>
- [12] Boeing, J. S., Barizão, É. O., e Silva, B. C., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V., & Visentainer, J. V. (2014). Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: Application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8, Article 43. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-43>
- [13] Kranz, S., Guellmar, A., Olschowsky, P., Tonndorf-Martini, S., Heyder, M., Pfister, W., Reise, M., & Sigusch, B. (2020). Antimicrobial effect of natural berry juices on common oral pathogenic bacteria. *Antibiotics*, 9(9), Article 553. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090553>
- [14] Souissi, M., Ben Lagha, A., Chaieb, K., & Grenier, D. (2021). Effect of a berry polyphenolic fraction on biofilm formation, adherence properties and gene expression of *Streptococcus mutans* and its biocompatibility with oral epithelial cells. *Antibiotics*, 10(1), Article 46. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010046>
- [15] Wen, Z. T., Huang, X., Ellepola, K., Liao, S., & Li, Y. (2022). Lactobacilli and human dental caries: More than mechanical retention. *Microbiology*, 168(6). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001196>