รายงานการศึกษาวิจัยเรื่อง

การพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากสุมนไพรจากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้ในทางทันตกรรม

โดย

ภก. อดิศักดิ์ ถมอุดทา

ภญ.ปริญา ถมอุดทา

โรงพยาบาลมหาสารคาม

การพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรจากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้ในทางทันตกรรม

ภก.อดิศักดิ์ ถมอุดทา
ภญ.ปริญา ถมอุดทา
โรงพยาบาลมหาสารคาม

ที่มาและความสำคัญ

โรคในช่องปากและฟันเป็นโรคที่พบได้บ่อย เช่น โรคฟันผุ โรคปริทันต์อักเสบ โรคแผลร้อนใน ซึ่งโรคเหล่านี้มักมีอาการปวด บวม เลือดออก หรือมีอาการปากเหม็น[2] โดยสาเหตุของการเกิดโรคในช่องปากส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ที่มาจากการไม่ดูแลรักษาความสะอาดภายในช่องปาก และการรักษาโรคเหล่านี้มีความจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะ[1] ซึ่งทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดเชื้อดื้อยาได้ รวมไปถึงยังอาจเกิดผลข้างเคียงจากยาต่อระบบอื่น ๆ ของร่างกายได้ ซึ่งการดูแลรักษาความสะอาดของช่องปากเป็นหนึ่งในวิธีการป้องกันการเกิดโรคเหล่านี้ [1] โดยผลิตภัณฑ์รักษาความสะอาดในช่องปาก เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก เป็นอีกทางเลือกที่มักใช้สารเคมีเป็นองค์ประกอบ ซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ได้ เช่น น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ chlorhexidine ที่ทำให้สีของฟันเปลี่ยนแปลง [4] และสามารถเกิดการดื้อได้ [5]

ดังนั้น ทางผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์รักษาความสะอาดในช่องปากจากสมุนไพรขึ้นมาเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี เนื่องจากสารที่มาจากธรรมชาตินั้นมีอัตราการดื้อยาได้ยากกว่าสารเคมี รวมไปถึงมีความปลอดภัยมากกว่าอีกด้วย [7] โดยมุ่งหวังว่าผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่ได้พัฒนาขึ้นจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคในช่องปากได้

ทบทวนวรรณกรรม

1. ข้อมูลโดยทั่วไปของฝรั่ง [3]

   ชื่อสามัญ: Guava

   ชื่อวิทยาศาสตร์: *Psidium guajava* L.

   ชื่อวงศ์: Myrtaceae

   ชื่อทั่วไป: จุ่มโป่, ชมพู่, มะก้วย, มะก้วยกา, มะกา, มะจีน, มะมั่น, ยะมูบุเตบันยา, ยะริง, ยาม, ย่ามู, สีดา

   ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ไม้ยืนต้น สูง 3-10 m เปลือกต้นเรียบ ใบเดี่ยวออกเรียงตรงข้าม เป็นรูปวงรีหรือรูปวงรีแกมขอบขนาน มีขนาดกว้าง 3-8 cm และยาว 6-14 cm ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ 2-3 ดอก ออกที่ซอกใบ กลีบดอกมีสีขาว เกสรตัวผู้มีจำนวนมาก ผลเป็นผลสด เนื้อผลเป็นสีขาว มีเมล็ดจำนวนมาก รูปกลมแบน

2. ข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับใบฝรั่ง

ตำรับน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดในใบฝรั่งโดยวิธีการหมักใน 50% alcohol กรองโดยใช้ผ้าก๊อซ นำไปปั่นเหวี่ยง ต่อมาระเหยแห้งด้วย rotary evaporator แล้วทำให้แห้งด้วย freeze dryer ได้ % yield เท่ากับ 3.5 นำสารสกัดมาเตรียมเป็น stock solution โดยการผสมกับ alcohol และ propylene glycol แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจะได้สารละลายใบฝรั่ง หลังจากนั้นเตรียมน้ำยาบ้วนปากโดยผสมส่วนประกอบต่าง ๆ เข้าด้วยกันโดยใช้สารแต่งกลิ่น รส และสารถนอมต่าง ๆ พบว่าตำรับที่มี peppermint, sorbitol, paraben concentrate, sodium benzoate, propylene glycol, glycerin, alcohol และน้ำเป็นองค์ประกอบ มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ทำให้อาสาสมัครมีความพึงพอใจ และมีความคงตัว [8]

มีการศึกษาพิษของใบฝรั่งในหนูถีบจักรและหนูขาวโดยให้สารสกัดจากใบฝรั่งทางปากพบว่าไม่มีปรากฏอาการพิษใด ๆ ในการทดสอบพิษเฉียบพลัน ส่วนการทดสอบพิษเรื้อรัง เมื่อให้สารสกัดหนูขาวเป็นเวลา 6 เดือน มีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้นและหนูขาวเพศผู้กลุ่มที่ไดรับยา 2.0 และ 20.0 ก./กก./วัน มีน้ำหนักลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ [9]ในการศึกษาความแรงของสารสกัดใบฝรั่งในการต้านเชื้อจุลชีพทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดที่มีขั้วแตกต่างกัน ได้แก่ hexane, methanol, ethanol และน้ำ โดยใช้วิธี maceration พบว่าการสกัดด้วยน้ำให้ความหลากหลายของสารสำคัญได้มากที่สุดได้แก่ สารกลุ่ม phenol, tannins, saponin, terpenoids, Glycosides แต่ผู้วิจัยใช้ตัวทำละลาย methanol กับ ethanol เท่านั้นซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น และพบว่าสารสกัดจาก methanol ให้ clear zone มากกว่า ethanol [10]การประเมินการยับยั้งเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* และ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ที่ทำให้เกิดปริทันต์อักเสบ โดยการใช้สารสกัดจากตัวทำละลาย ethanol และ น้ำ ในความเข้มข้น 75 µL/mL พบว่าสารสกัด ethanol ยับยั้งเชื้อ *P. gingivalis* ได้ดีกว่า แต่สารสกัด aqeous สามารถยับยั้ง *A. actinomycetemcomitans* ได้มากกว่า ethanol โดยดูจาก clear zone ที่มากกว่า ดังนั้นสรุปได้ว่า MIC ของสารสกัดน้ำที่มีผลต่อเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* มีค่าเท่ากับ 50 µL/mL และ MIC ของสารสกัด ethanol ที่มีผลต่อเชื้อ *P.gingivalis* มีค่าเท่ากับ 3.12 µL/mL [11]สารสกัดใบฝรั่งโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย มีความแรงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Candida albicans* และ *Candida tropicalis* โดยมีค่า MIC มากกว่า 8.192 mg/mL พบว่าความ และมีค่า IC_{50} ตั้งแต่ 1803.02 ถึง 5623.41 µL/mL และพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีสาร quercetin ประมาณ 10 mg ใน crude extract 1 g และ quercetin มีค่า IC_{50} ประมาณ 5 mg/mL [12]การใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดของใบฝรั่งมีลดการเกาะตัวของ *Straptococcus sanguinis* และ *streptococcus mitis* ที่ทำให้เกิดคราบพลัคโดยการทำลายการเกาะกันของคราบพลัค และรบกวนการเจริญของ biofilm [13]สารสกัดใบฝรั่ง 1 mg/mL จะลดความชอบไขมันบนผิวเซลล์ *Streptococcus. Sanguinis*, *Strep. Mitis* และ *Actinomyces sp*.ได้ถึง 54.1%, 49.9% และ 40.6% ตามลำดับ ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกเหล่านี้ก่อให้เกิดคราบพลัค [14]

ฟันผุเป็นโรคที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutants* โดย S. mutants มาเกาะที่ผิวฟัน แล้วเกิดปฏิกิริยา fermentation เปลี่ยนน้ำตาล sucrose ให้กลายเป็นกรดออกมาทำลายฟัน และค่า MIC ที่มีผลต่อ S. mutant มีค่าเท่ากับ 5 mg/mL [15] นอกนี้สาร Quercetin ที่อยู่ในฝรั่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบโดยการไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และไปยับยั้งการทำงานโปรตีนโดยการไปจับโปรตีนแล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน [7]

การสกัดใบฝรั่งโดยใช้น้ำด้วยวิธี ต้ม 20 นาที ให้สาร quercetin มากกว่าการต้ม 10 นาที และการตุ๋น นอกจากนี้การเก็บใบฝรั่งจากต้นที่มีระยะการเจริญเติบโตต่างกันให้จะส่งผลให้สาร Quercetin แตกต่างกัน พบว่าถ้าเก็บใบฝรั่งในช่วงผลที่ยังเจริญไม่เต็มที่จะให้สารสำคัญมากที่สุดและพบว่าเมืองหรือสถานที่เก็บมีผลต่อปริมาณ quercetin [16] และที่การสกัดใบฝรั่ง กับน้ำในอัตราส่วน 10 g/150 mL ด้วยการต้มเป็นเวลา 15 นาที จะให้ปริมาณ quercetin เท่ากับ 10.15 ± 0.03 mg ต่อสารสกัด 1 g [12]

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดใบฝรั่ง
    1) ล้างทำความสะอาดใบฝรั่ง แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง
    2) นำใบฝรั่งที่แห้งแล้ว ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
    3) นำใบฝรั่งที่แห้งแล้วมาลดขนาด
    4) นำใบฝรั่งที่บดแล้ว 400 g ไปต้มในน้ำเดือด 6 L (อัตราส่วน 10 g ต่อ 150 mL) เป็นเวลา 15 นาที
    5) กรองสารสกัด เอาเฉพาะส่วนน้ำ แล้วนำสารสกัดที่กรองแล้วไประเหยแห้งด้วย water bath
2. การเตรียมสารละลายใบฝรั่ง
    1) นำสารสกัดใบฝรั่งที่ระเหยแห้งแล้ว 1 กรัม มาละลายด้วย 95% ethanol 2 mL และ propylene glycol 2 mL
    2) ปรับปริมาตรด้วย purified water จนได้ปริมาตร 100 mL ได้สารละลายใบฝรั่งความเข้มข้น 1 %w/v
3. การเตรียมน้ำยาบ้วนปาก
4. ทำการเตรียมน้ำยาบ้วนปาก ดังแสดงใน **ตารางที่ 1** ดังนี้
    1) ผสมสารละลายใบฝรั่ง 5 mL กับ purified water 20 mL
    2) เติม PEG 400 ปริมาณ 2 mL คนให้เข้ากัน
    3) เติม 70% sorbitol 5 mL และ glycerin 1 mL แล้วคนให้เข้ากัน
    4) เติม concentrate paraben
    5) แต่งกลิ่นและรสชาติด้วย menthol และ peppermint
    6) เติม alcohol แล้วคนให้เข้ากันจนได้สารละลายใส
    7) ปรับปริมาตรด้วย purified water จนได้ปริมาตร 50 mL

ตารางที่ 1 สูตรตำรับของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่ง

สาร	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
สารละลายใบฝรั่ง 1%w/v	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
70% Sorbitol	4.5 mL	4.5 mL	4.5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Glycerin	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
PEG 400	-	2.5 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Paraben concentrate	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)
10% Menthol in alcohol	-	-	-	0.09 mL (3 drops)	0.09 mL (3 drops)	0.06 mL (2 drop)
10% Peppermint spirit	-	-	-	0.1 mL (3 drops)	0.1 mL (3 drops)	0.03 mL (1 drop)
Peppermint oil	0.03 mL (1 drop)	0.03 mL (1 drop)	0.03 mL (1 drop)	-	-	-
Ethanol, 95%	5 mL	5 mL	5 mL	-	-	-
Ethanol, 70%	-	-	-	5 mL	5 mL	2.5 mL
Purified water qs to	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL

ผลการทดลอง

1. สารสกัดใบฝรั่ง

สารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดได้หลังระเหยแห้งแล้ว ได้ออกมาเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม ดังรูปที่ 1 โดยได้ %yield เท่ากับ 16.32 จากการทบทวนวรรณกรรมมาการสกัดด้วยวิธีการต้มกับกับน้ำเป็นเวลา 15 นาทีจะให้ปริมาณ quercetin อยู่ที่ 10.15 ± 0.03 mg ต่อสารสกัด 1 g [12]

รูปที่ 1 สารสกัดใบฝรั่งที่ระเหยแห้งแล้ว

2. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปาก

จากผลการพัฒนาสูตรตำรับทั้ง 6 สูตร ดัง**ตารางที่ 2** พบว่าตำรับสูตรที่ 1 เมื่อผสมสารละลายใบฝรั่งใน 70% sorbitol, glycerin และน้ำ จะเกิดการขุ่นขึ้น จึงได้ทำการเพิ่ม PEG 400 เข้าไป ซึ่งทำให้ใสขึ้น แต่ตำรับที่ได้มีรสชาติค่อนข้างขม จึงลดปริมาณของ PEG 400 ลงจาก 2.5 mL เป็น 2 mL ซึ่งยังคงทำให้สารละลายใสได้อยู่

โดยตำรับสูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 3 เมื่อเตรียมเสร็จได้เป็นสารละลายใสสีน้ำตาล แต่มีหยดน้ำมันของ peppermint oil ลอยอยู่ที่ผิวหน้า รวมไปถึงมีรสชาติที่แสบร้อน และยังขาดความเย็นในตำรับอยู่ ผู้วิจัยจึงทำการเปลี่ยนจาก peppermint oil เป็น 10% peppermint spirit แทน และเปลี่ยนความเข้มข้นของ alcohol จาก 95% เป็น 70% พบว่าได้สารละลายที่ใสเช่นเดิม ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวหน้า และมีความร้อนลิ้นที่น้อยกว่า อย่างไรก็ตาม จึงได้ทำการเพิ่ม menthol ลงในตำรับ โดยจะใช้ในรูปแบบของสารละลายเช่นกัน พบว่าได้สารละลายใสสีน้ำตาล ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ และมีรสชาติที่ดีขึ้น โดยมีความรู้สึกเย็น และไม่รู้สึกร้อนลิ้น

จากนั้นผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาสูตรตำรับเพื่อให้เด็กสามารถใช้งานได้ โดยได้ลดปริมาณ alcohol, 70% ในตำรับลงจาก 5 mL เหลือ 2.5 mL เนื่องจาก FDA ได้กำหนดให้มีปริมาณ alcohol ในตำรับไม่เกิน 5% ของตำรับ และลดปริมาณของ menthol และ peppermint spirit ลงเหลืออย่างละ 1 หยด พบว่าตำรับที่

ออกมามีลักษณะเป็นสารละลายใส สีน้ำตาล ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวหน้า โดยตำรับนี้จะมีรสชาติที่หวานกว่า และมีความเย็นที่น้อยกว่าในสูตรที่ 6

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่ง

คุณสมบัติ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
ความใส	ขุ่น	ใส มีน้ำมันลอยที่ผิวหน้า	ใส มีน้ำมันลอยที่ผิวหน้า	ใส	ใส	ใส
สี	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล
รสชาติ	ฝาด หวาน กลิ่นมิ้นท์ ร้อนลิ้น	ฝาด หวาน ขม กลิ่นมิ้นท์ ร้อนลิ้น	ฝาด หวาน กลิ่นมิ้นท์ ร้อนลิ้น	ฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็น (+)ไม่รู้สึกร้อนลิ้น	ฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็น (+++) ไม่รู้สึกร้อนลิ้น	ฝาดเล็กน้อย หวาน กลิ่นมิ้นท์ ความรู้สึกเย็น (++) ไม่รู้สึกร้อนลิ้น
pH	-	-	-	6.7	6.8	6.7

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาสูตรตำรับทั้ง 6 สูตร พบว่าตำรับสูตรที่ 1 เมื่อผสมสารละลายใบฝรั่งใน 70% sorbitol, glycerin และน้ำ จะเกิดการขุ่นขึ้น จึงได้ทำการเพิ่ม PEG 400 เข้าไป ซึ่งทำให้ใสขึ้น แต่ตำรับที่ได้มีรสชาติค่อนข้างขม จึงลดปริมาณของ PEG 400 ลงจาก 2.5 mL เป็น 2 mL ซึ่งยังคงทำให้สารละลายใสได้อยู่

โดยตำรับสูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 3 เมื่อเตรียมเสร็จได้เป็นสารละลายใสสีน้ำตาล แต่มีหยดน้ำมันของ peppermint oil ลอยอยู่ที่ผิวหน้า รวมไปถึงมีรสชาติที่แสบร้อน และยังขาดความเย็นในตำรับอยู่ ผู้วิจัยจึงทำการเปลี่ยนจาก peppermint oil เป็น 10% peppermint spirit แทน และเปลี่ยนความเข้มข้นของ alcohol จาก 95% เป็น 70% พบว่าได้สารละลายที่ใสเช่นเดิม ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวหน้า และมีความร้อนลิ้นที่น้อยกว่า อย่างไรก็ตาม จึงได้ทำการเพิ่ม menthol ลงในตำรับ โดยจะใช้ในรูปแบบของสารละลายเช่นกัน พบว่าได้สารละลายใสสีน้ำตาล ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ และมีรสชาติที่ดีขึ้น โดยมีความรู้สึกเย็น และไม่รู้สึกร้อนลิ้น

จากนั้นผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาสูตรตำรับเพื่อให้เด็กสามารถใช้งานได้ โดยได้ลดปริมาณ alcohol 70% ในตำรับลงจาก 5 mL เหลือ 2.5 mL เนื่องจาก FDA ได้กำหนดให้มีปริมาณ alcohol ในตำรับไม่เกิน 5% ของตำรับ และลดปริมาณของ menthol และ peppermint spirit ลงเหลืออย่างละ 1 หยด พบว่าตำรับที่ออกมามีลักษณะเป็นสารละลายใส สีน้ำตาล ไม่มีหยดน้ำมันลอยอยู่ที่ผิวหน้า โดยตำรับนี้จะมีรสชาติหวานกว่า และมีความเย็นที่น้อยกว่าในสูตรที่ 5

ค่า pH ที่วัดได้ในตำรับที่ 4, 5 และ 6 มีค่าเท่ากับ 6.7, 6.8 และ 6.7 ตามลำดับ โดยค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับ PH ในช่องปากจะอยู่ในช่วง 6.2 - 7.72 [17] เหมาะสมกับช่องปาก

โดยน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งที่ได้พัฒนาขึ้นทั้ง 6 ตำรับ พบว่าตำรับที่ดีที่สุดคือตำรับที่ 5 ที่มีรสชาติเย็นกำลังดี และไม่ได้ร้อนลิ้นมาก และตำรับที่ 6 ได้พัฒนาเพื่อให้เหมาะกับการใช้งานสำหรับเด็ก โดยมีสูตรตำรับดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สูตรตำรับของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดใบฝรั่งที่เหมาะสมที่สุด

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6	หน้าที่ในตำรับ
1%w/v GLE solution	5 mL	5 mL	Active ingredients
70% Sorbitol	5 mL	5 mL	Sweetening agent
Glycerin	1 mL	1 mL	Sweetening agent
PEG 400	2 mL	2 mL	Cosolvent
Paraben concentrate	0.5 mL (12 drops)	0.5 mL (12 drops)	Preservative
10% Menthol in alcohol	0.09 mL (3 drops)	0.06 mL (2 drops)	Flavoring agent
10% Peppermint spirit	0.1 mL (3 drops)	0.03 mL (1 drop)	Flavoring agent
Ethanol, 70%	5 mL	2.5 mL	Cosolvent
Purified water qs to	50 mL	50 mL	Solvent

หลังจากที่ได้สูตรตำรับที่เหมาะสมแล้ว ผู้วิจัยจึงได้ทำการเตรียมตำรับ และบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์พร้อมทั้งติดฉลากขนาด 3 x 5.5 cm โดยใช้ชื่อยี่ห้อว่า ใบสีดา สำหรับสูตรที่ 5 และ ใบสีดาจูเนียร์ สำหรับสูตรที่ 6 ได้ออกมาดังรูปที่ 1 และรูปที่ 2

ข้อเสอแนะ

1. ในการสกัดใบฝรั่ง มีข้อจำกัดในขั้นตอนการระเหยแห้ง ทำให้ได้ %yield ที่มากกว่าในงานวิจัยที่ได้ทบทวนวรรณกรรมมา และถ้าหากทำให้สารสกัดอยู่ในรูปของผงยาได้ จะทำให้สามารถเตรียมตำรับยาได้ง่ายขึ้น
2. ควรมีการตรวจสอบองค์ประกอบของตำรับสารสกัดด้วยเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของ quercetin ในสารสกัดใบฝรั่งที่อยู่ในตำรับ
3. ควรมีการทดสอบ anti-microbial activity เพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลการทอสอบว่าตำรับน้ำยาบ้วนปากนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้
4. เนื่องด้วยระยะเวลาที่จำกัด ทำให้ไม่สามารถศึกษาความคงตัวในระยะยาวเป็นเวลา 6 เดือน ถึง 1 ปีได้

เอกสารอ้างอิง

1. พวงทอง ไกรพิบูลย์. โรคของช่องปากและฟัน. กรุงเทพฯ: อมรินทร์สุขภาพ อมรินทร์พรินติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, 2556.
2. วรางคณา ชิดช่วงชัย. การตรวจและวินิจฉัยโรคช่องปาก. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มิสเตอร์ก๊อปปี้ (ประเทศไทย), 2558.
3. Anonymous. ฝรั่ง. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร [Cited July 19, 2019]. Available from: http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/psidium.html.
4. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. *J Appl Oral Sci*. 2010; 18(5):515–521.
5. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine - is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative?. J Hosp Infect. 2016 Nov; 94(3):213-227.
6. Nield-Gehrig JS, Willman DE. Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist, 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2008.
7. Kafle A, Mohapatra SS, Reddy I, Chapagain M. A Review on Medicinal Properties of Psidium guajava. Journal of Medicinal Plants Studies2. 2018;6(4):44–7.
8. Sripanidkulchai B, Tattawasart A, et al. Development of mouthwas formula from guava leaf extract. IJIPS. 2006; 2(1):35-42.
9. เอมมนัส อัตตวิชญ์, ปราณี ชวลิตดำรง, พัช รักษามั่น, ปราณี จันทเพ็ชร. การศึกษาพิษของใบฝรั่ง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2538; 37(4):289-305.
10. Biswas B, Rogers K, et al. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Microbiology. 2013; 2013:1-7.
11. Shetty SY, Shankarapillai R, et al. Evaluation of the efficacy of guava extracts as an antimicrobial agent on periodontal pathogens. The journal of contemporary dental practice, June 2018; 19(6):690-697.
12. Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, Machado AJT, Sales DL, dos Santos ATL, Boligon AA, et al. Phenolic composition and medicinal usage of Psidium guajava Linn.: Antifungal activity or inhibition of virulence? Saudi Journal of Biological Sciences. 2017;24(2): 302–13.

13. Fathilah AR WNHW. Plant Extracts of Psidium guajava, Mangifera and Mentha sp. Inhibit the Growth of the Population of Single-species Oral Biofilm. Alternative & Integrative Medicine. 2013;02(01).
14. Razak FA, Othman RY, Rahim ZHA. The effect of Piper betle and Psidium guajava extracts on the cell-surface hydrophobicity of selected early settlers of dental plaque. Journal of Oral Science. 2006;48(2):71–5.
15. Saraya S, Kanta J, Sarisuta N, Temsiririrkkul R, Suvathi Y, Samranri K, et al. Development of Guava Extract Chewable Tablets for Anticariogenic Activity against Streptococcus mutans. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences. 2008;35(4):18–23.
16. Metwally AM, Omar AA, Ghazy NM, Harraz FM, El Sohafy SM. Monograph of Psidium guajava L. leaves. Pharmacognosy Journal. 2011;3(21):89–104.
17. Gashe F, Belete A, Gebre-mariam T. Evaluation of Antimicrobial and Anti-inflammatory Activities and Formulation Studies on the Leaf Extracts of Psidium gaujava L . 2012;(July):131–42.