



ความเสถียรของสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและพรอพอลลิส
ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา

THE STABILITY OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH
CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS
ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA

พิชชานันท์ พิศาลวรวัฒน์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2567

ความเสถียรของสูตรน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและพรวพอลิส
ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา



ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซ์ซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2567
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE STABILITY OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH
CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS
ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA



PITCHANUN PISARNVORAWAT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Master of Science Program in Oral and Maxillofacial Sciences)
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2024

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ความเสถียรของสูตรน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและพวอพอลิส
ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา

ของ

พิชชานันท์ พิศาลวรรณ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์จัตตราชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.สรสัณห์ รังสิยานนท์) (ศาสตราจารย์ ดร.สมบุญ ธนาสุภาวัฒน์)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.มาลัย ทวีโชติภัทร์) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินีภัทร์ ตลิ่งจิตร)

ชื่อเรื่อง	ความเสถียรของสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและ พรอพอลิส
	ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโคโรซิสแพคเตอร์อัลฟา
ผู้วิจัย	พิชชานันท์ พิศาลวรวัฒน์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2567
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สรศักดิ์ รังสิยานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภักดิ์

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอพอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาร่วมกับพรอพอลิส ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C โดยเตรียมน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% (สูตรที่ 1) และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 10%, พรอพอลิส 5% ร่วมกับสารสกัดกัญชา (แคนนาบิไดออล, CBD) 1% (สูตรที่ 2) สูตรละ 3 ขวด และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C 1 ขวด จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30 และวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยหาค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และหาค่าความแตกต่างทางสถิติระหว่างวันที่ 0 และ วันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test โดยตั้งค่าระดับนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง, ค่าความเป็นกรด-ด่าง และประสิทธิภาพการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 ระหว่างค่าที่วัดได้ในวันที่ 0 และวันที่ 30 ในน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร ที่เก็บที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร มีความเสถียรในแง่การเปลี่ยนแปลงของสี และความเป็นกรด-ด่าง รวมถึงยังคงยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน

คำสำคัญ : ความเสถียร, น้ำยาบ้วนปาก, โพรไบโอติก, พรอพอลิส, กัญชา, ทูเมอร์เน็คโคโรติกแพคเตอร์อัลฟา

Title	THE STABILITY OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA
Author	PITCHANUN PISARNVORAWAT
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2024
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanonte
Co Advisor	Associate Professor Dr. Malai Taweechoitipatr

The objective of this research was to study the stability of probiotic mouthwash containing a combination of probiotics with propolis extract and a combination of probiotics with cannabis extract along with propolis extract, stored at temperatures of -20°C, 4°C, and 25°C. Two formulations of mouthwash were prepared: the first containing 10% probiotic solution of *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 combined with 5% propolis extract (Formulation 1), and the second containing 10% probiotic solution of *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1, 5% propolis extract, and 1% cannabis extract (cannabidiol, CBD) (Formulation 2). Three bottles of each formulation were stored at -20°C, 4°C, and 25°C. The absorbance values, indicating color changes, were measured at a wavelength of 450 nanometers using a spectrophotometer, and pH values were measured using a pH meter on days 0, 7, 14, 21, and 30. The ability to inhibit TNF- α secretion in human monocytic cell line THP-1 was assessed using the ELISA method, and the percentage inhibition of TNF- α secretion was analyzed on days 0, 7, 14, and 30. The data were statistically analyzed for means, standard deviations, and differences between days 0 and 30 using the Wilcoxon Signed Ranks Test at a 95% confidence level ($p < 0.05$). Results showed no significant differences when comparing the absorbance values, pH, and efficacy in inhibiting TNF- α secretion in the THP-1 cell line between the measurements taken on days 0 and 30 for both formulations stored at -20°C, 4°C, and 25°C ($p < 0.05$). This study demonstrates that both formulations of mouthwash are stable in terms of color changes, pH, and efficacy in inhibiting TNF- α secretion in human monocytic cell line THP-1 over a period of 30 days.

Keyword : stability, mouthwash, probiotic, propolis, cannabis, tumor necrosis factor-alpha

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. ธรศักดิ์ รังสิยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือต่างๆทำให้ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้ง 2 ท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ ประธานกรรมการสอบปริญญาานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สินีภัทร์ ตลิ่งจิตร กรรมการสอบปริญญาานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำแนวทางแก้ไข แนวคิดต่างๆ ในการทำปริญญาานิพนธ์ ตลอดจนคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล และคณาจารย์ทุกท่านที่ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลความรู้ และให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกให้ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว พี่ น้อง เพื่อนนิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียลทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนผู้วิจัยสามารถสำเร็จการศึกษาลุล่วงไปได้ด้วยดี

พิชชานันท์ พิศาลวรวัฒน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
สมมติฐานของการวิจัย.....	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	6
โพรไบโอติก (Probiotics)	6
แลคโตบาซิลไล (Lactobacilli).....	8
กระบวนการหายของแผล	8
ทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา (Tumor necrosis factor-alpha, TNF- α).....	11
กัญชา (Cannabis)	12
พรอพอลลิส (Propolis)	16
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
วัสดุและอุปกรณ์.....	21
วิธีการ.....	22
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	26
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	27
ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสี.....	27
ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง.....	34
ผลการทดสอบการยับยั้งการหลั่ง TNF- α	41
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	47
อภิปรายผล.....	47
สรุปผลการวิจัย.....	49
ข้อเสนอแนะ.....	49
บรรณานุกรม.....	49
ภาคผนวก.....	54
ประวัติผู้เขียน.....	72

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร.....	23
ตาราง 2 ส่วนผสมของกลุ่มควบคุมบวก	24
ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ วันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	27
ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95	32
ตาราง 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเป็นกรด-ด่างในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ วันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	34
ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95	39
ตาราง 7 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ วันที่ 0, 7, 14 และ 30	41
ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α วันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95	45

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 กระบวนการหายของแผล	11
ภาพประกอบ 2 บทบาทของ TNF- α ต่อการอักเสบในการเกิดแผลเรื้อรัง	12
ภาพประกอบ 3 ลักษณะใบและดอกของต้นกล้วยา	12
ภาพประกอบ 4 โครงสร้างทางเคมีของแคนนาบิไดออล	13
ภาพประกอบ 5 การออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของแคนนาบิไดออล	14
ภาพประกอบ 6 กลไกในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดกระบวนการอักเสบของแคนนาบิไดออล	15
ภาพประกอบ 7 สัดส่วนองค์ประกอบของพรอพอลิส	17
ภาพประกอบ 8 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	29
ภาพประกอบ 9 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	29
ภาพประกอบ 10 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพโรไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	30
ภาพประกอบ 11 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของพรอพอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	30
ภาพประกอบ 12 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกล้วยา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	31
ภาพประกอบ 13 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	31
ภาพประกอบ 14 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะการเก็บรักษาในวันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และ กลุ่มควบคุมลบ ($p>0.05$).....	33

ภาพประกอบ 15 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	36
ภาพประกอบ 16 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	36
ภาพประกอบ 17 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยวโพโรไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30	37
ภาพประกอบ 18 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของพรอปอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	37
ภาพประกอบ 19 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของสารสกัดกัญชา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	38
ภาพประกอบ 20 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของน้ำเกลือ 0.9% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	38
ภาพประกอบ 21 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30.....	39
ภาพประกอบ 22 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ต่างที่ระยะการเก็บรักษาในวันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และ กลุ่มควบคุมลบ ($p>0.05$).....	40
ภาพประกอบ 23 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30.....	42
ภาพประกอบ 24 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30.....	43
ภาพประกอบ 25 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยวโพโรไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30.....	43
ภาพประกอบ 26 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของพรอปอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30.....	44

ภาพประกอบ 27 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของสารสกัดกัญชา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30.....44

ภาพประกอบ 28 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำเกลือ 0.9% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30..... 45

ภาพประกอบ 29 แผนภูมิเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ที่ระยะการเก็บรักษาในวันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ($p>0.05$)..... 46



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพของโฮสต์ ในปัจจุบันมีการนำโพรไบโอติกมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และอาหารในรูปแบบต่างๆ เช่น แคปซูล หรือผง เป็นต้น โดยที่เป็นที่รู้จักที่สุดคือ โยเกิร์ต และนม โพรไบโอติกที่นิยมนำมาใช้มากที่สุด ได้แก่ แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ โดยเฉพาะกลุ่มแลคโตบาซิลลัส และไบโฟโดแบคทีเรีย ส่วนที่เป็นยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces boulardii*⁽¹⁾

แลคโตบาซิลไลเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือเรียงเป็นสายสั้น สามารถผลิตกรดแลคติกได้ และมีหลากหลายสปีชีส์⁽²⁾ มีบทบาทสำคัญในการปรับระบบภูมิคุ้มกัน โดย *Lactobacillus paracasei* เป็นสปีชีส์ที่มีความสามารถในการลดกระบวนการอักเสบ โดยการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF- α ⁽³⁾ งานวิจัยการรื้อสร้างกระดูก เป็นงานเกี่ยวกับการผ่าตัดในช่องปาก ซึ่งได้แก่ การถอนฟัน การผ่าตัดฟันคุด การตัดปุ่มกระดูก และอื่นๆ ทำให้งานวิจัยการรื้อสร้างกระดูกมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลเป็นอย่างมาก กระบวนการหายของแผลสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ ได้แก่ (1) ระยะการเกิดลิ่มเลือด และการแข็งตัวของเลือด (2) ระยะการอักเสบ (3) ระยะการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน และ (4) ระยะการปรับสมดุลโครงสร้างของแผล⁽⁴⁾ โดย TNF- α เป็นหนึ่งใน inflammatory cytokine ที่สร้างโดยโมโนไซต์ และแมคโครฟาจ⁽⁵⁾ TNF- α ถูกหลั่งจากเซลล์เยื่อเมือกของหลอดเลือดบริเวณบาดแผล ในระยะที่มีการอักเสบแบบเฉียบพลัน จะมีค่าสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงแรกที่เกิดบาดแผล และจะค่อยๆ ลดลงจนเท่าค่าปกติในภายหลัง⁽⁶⁾ บทบาทสำคัญของ TNF- α ได้แก่ กระตุ้นการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์, เหนี่ยวนำการสร้างโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin) และการแสดงออกของยีนส์คอลลาจีเนส, หลัง growth factor ต่างๆ และปรับการทำหน้าที่ของแมคโครฟาจ⁽⁵⁾

ปัจจุบันมีการนำโพรไบโอติกมาประยุกต์ใช้ในทางทันตกรรม เช่น การป้องกันฟันผุ การรักษาโรคปริทันต์ การลดกลิ่นปาก⁽⁷⁾ นอกจากนี้สุสมาและคณะ (2022) ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของ *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 ต่อระดับของ TNF- α ในน้ำเหลืองเหงือก ภายหลังจากการผ่าตัดฟันคุดข้างที่ 3 พบว่าการล้างแผลผ่าตัดด้วยน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก มีผลลดระดับ TNF- α ในน้ำเหลืองเหงือก อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม⁽⁸⁾

กัญชาเป็นพืชที่มีส่วนผสมของแคนนาบินอยด์ ซึ่งมียูทริก้านอนุมูลอิสระ และลดกระบวนการอักเสบ กัญชาได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางทันตกรรม ทั้งในการรักษาอาการปวดฟัน ภาวะแสบร้อน ในช่องปาก การต้านฟันผุ และการรักษาโรคปริทันต์โดยมีกลไกการออกฤทธิ์คือการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย⁽⁹⁾ การออกฤทธิ์ต่อ CB1 และ CB2 receptor ซึ่งจะมีผลต่อระดับของสารอนุมูลอิสระ และระดับของ TNF- α ⁽¹⁰⁾ จากการศึกษาของณัฐพลและคณะ (2022) ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดกัญชา ร้อยละ 1 และน้ำเลียงโพโรไบโอติก ร้อยละ 10 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ถึง 83.79%⁽¹¹⁾

พรอพอลิสเป็นหนึ่งในสารที่ผึ้งใช้ในการสร้างรังผึ้ง โดยพบว่ามีคุณสมบัติด้านการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และลดการอักเสบ โดยจะไปยับยั้งโปรสตาแกลนดินและเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase), จับกับสารอนุมูลอิสระ, ยับยั้งการสร้าง nitric oxide, ลดความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งรวมถึง TNF- α และกดภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องตับ ระบบประสาท ระบบหัวใจและหลอดเลือด⁽¹²⁾ รวมทั้งยังมีการนำมาใช้ในทางทันตกรรมเพื่อ รักษาโรคฟันผุ โรคปริทันต์ การปิดคลุมโพรงประสาทฟัน และที่สำคัญยังมีผลต่อการหายของแผลและกระดูกอีกด้วย⁽¹³⁾ ณัฐญาณและคณะ (2023) ได้ศึกษาโดยเติมพรอพอลิสเข้าไปในน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพโรไบโอติก และสารสกัดจากกัญชา เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α พบว่าน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลียงโพโรไบโอติก 10% และส่วนผสมจากพรอพอลิส 5% ร่วมกับสารสกัดกัญชา 1% ให้ผลยับยั้ง TNF- α มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลียงโพโรไบโอติก 10% และส่วนผสมจากพรอพอลิส 5% ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้ง TNF- α ⁽¹⁴⁾

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลียงโพโรไบโอติก สารสกัดกัญชา หรือพรอพอลิสล้วนมียูทริก้านอนุมูลอิสระที่ตีในการลดระดับ TNF- α อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพโรไบโอติกกับพรอพอลิส และส่วนผสมของโพโรไบโอติกกับสารสกัดกัญชาพร้อมกับพรอพอลิส เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ หลังทำการผสม ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการลดปริมาณ TNF- α

การศึกษานี้จึงมีเป้าหมายเพื่อศึกษาความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอพอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาพร้อมกับพรอพอลิส ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

ว่าจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการลดปริมาณ TNF- α ใน monocytic cells หรือไม่ เพื่อจะนำไปปรับอุณหภูมิในการเก็บรักษาให้มีความเหมาะสมมากยิ่งขึ้น เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปใช้ร่วมกับการทำศัลยกรรมภายในช่องปากในการลดการหลั่งสาร TNF- α และส่งผลที่ดีต่อการรักษาต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพหุพออลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาร่วมกับพหุพออลิส ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการวิจัยเพื่อศึกษาความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพหุพออลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาร่วมกับพหุพออลิส ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C เมื่อเวลาผ่านไป 0, 7, 14 และ 30 วัน โดยดูจากการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer), ค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) และผลในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α โดยทำการทดสอบกับเซลล์ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ติดตามผลโดยการวัดระดับ TNF- α ด้วย ELISA Bioassay (R&D Systems, USA)

ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้น ได้แก่

- ชนิดของน้ำยาบ้วนปาก
- อุณหภูมิที่เก็บน้ำยาบ้วนปาก

ตัวแปรตาม ได้แก่

- ค่าการดูดกลืนแสง
- ค่าความเป็นกรด - ด่าง
- ความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α

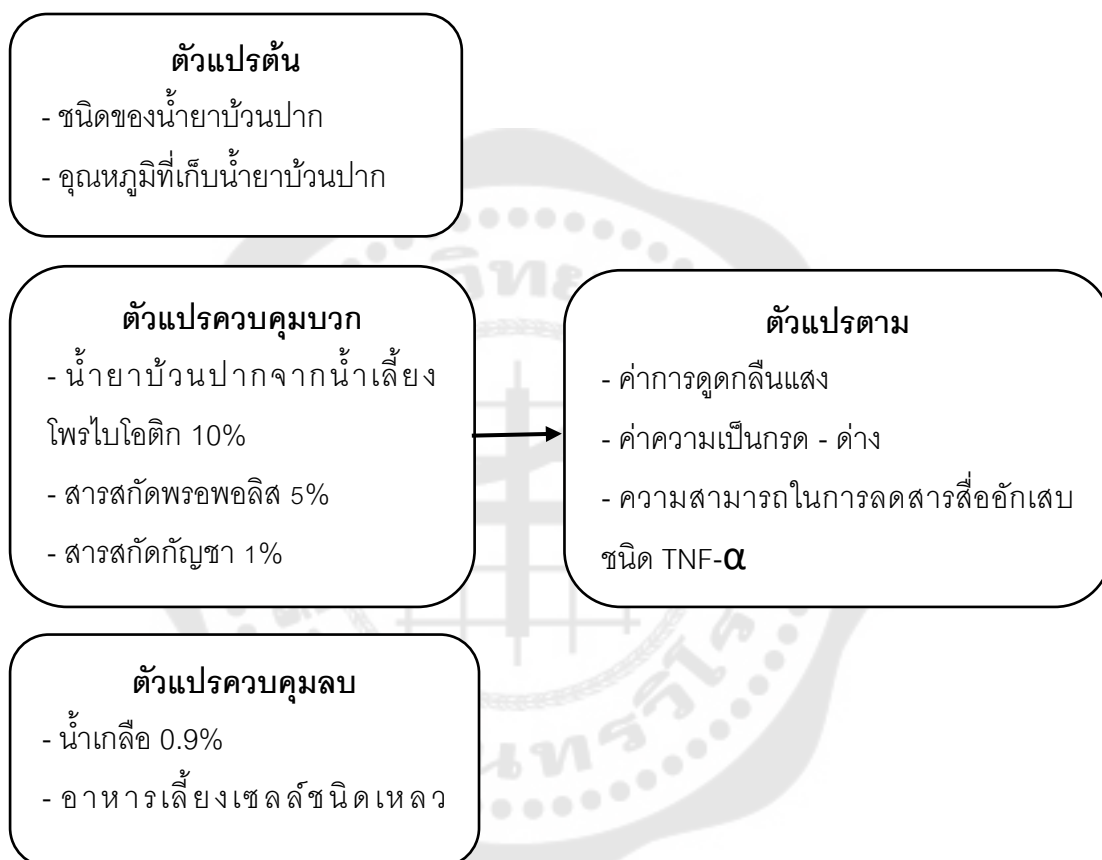
ตัวแปรควบคุมบวก ได้แก่

- น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพโรไบโอติก 10%
- สารสกัดพหุพออลิส 5%
- สารสกัดกัญชา 1%

ตัวแปรควบคุมลบ ได้แก่

- น้ำเกลือ 0.9%
- อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640)

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอพอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาพร้อมกับพรอพอลิส ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C

สมมติฐานของการวิจัย

H0 : ความเสถียรของน้ำยاب้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอปอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาพร้อมกับพรอปอลิสที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ไม่มีความแตกต่างกัน

H1 : ความเสถียรของน้ำยاب้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอปอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาพร้อมกับพรอปอลิส ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C มีความแตกต่างกัน



บทที่ 2

บททวนวรรณกรรม

โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพของโฮสต์ คำว่าโพรไบโอติกถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี 1960 โดยมาจากภาษากรีก ซึ่งมีความหมายว่า เพื่อชีวิต⁽¹⁾

มีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในอาหารเพื่อสุขภาพ และอาหารในรูปแบบต่างๆ เช่น แคนตาลูปหรือผง เป็นต้น โดยที่เป็นที่รู้จักที่สุดคือ โยเกิร์ต และนม ผลิตภัณฑ์จากโพรไบโอติกอาจมีจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว หรือหลายชนิดก็ได้ โดยที่นิยมใช้มากที่สุด ได้แก่ แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ โดยเฉพาะกลุ่มแลคโตบาซิลลัส และ โยไฟโดแบคทีเรีย ส่วนที่เป็นยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces boulardii*⁽¹⁾

กลไกการทำงานของโพรไบโอติกมีหลากหลายกลไก โดยจะช่วยเกี่ยวกับการปรับสมดุลระหว่างเชื้อที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายและเชื้อก่อโรค⁽¹⁾ กลไกการทำงานหลักของโพรไบโอติกได้แก่ เพิ่มการป้องกันของเยื่อเมือก สร้างสารต้านจุลินทรีย์ ปรับสมดุลของระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹⁵⁾ และป้องกันการยึดติดของเชื้อก่อโรคใช้วิธีการยับยั้งแบบแข่งขัน⁽¹⁶⁾

โพรไบโอติกกับการแพทย์

โพรไบโอติกถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์ทั้งในแง่ของการป้องกัน และการรักษา โพรไบโอติกถูกนำมาใช้กับความเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารต่างๆ⁽¹⁶⁾ อาทิ

- โรคลำไส้อักเสบ ได้แก่ โรคลำไส้ใหญ่อักเสบเรื้อรัง และโรคโครห์น โดยพบว่าโพรไบโอติกมีผลช่วยลดการแสดงออกของสารสื่ออักเสบ เพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มการทำหน้าที่ปกป้องตัวเองของลำไส้⁽¹⁶⁾

- โรคมะเร็งลำไส้ มีการศึกษาพบว่าแลคโตบาซิลลัส สามารถช่วยป้องกัน และชะลอการเติบโตของมะเร็งได้ โดยจับกับบริเวณที่เกิดการกลายพันธุ์ในลำไส้ กดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ปรับจุลินทรีย์ในลำไส้ และลดระดับของเอนไซม์เบต้ากลูคูโรนิเดสลงได้⁽¹⁶⁾

นอกจากนี้ยังมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาโรคอื่นๆ เช่น การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ โดยไม่โครโบโอมที่ผิดปกติของช่องคลอด เป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อในช่องคลอดหรือระบบทางเดินปัสสาวะได้ *Lactobacillus GG* และ *Lactobacillus rhamnosus*

GR-1 มีประสิทธิภาพในการป้องกันระบบทางเดินปัสสาวะ โดยผลผลิตจากกระบวนการเมทาบอลิซึม มีผลยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ทั้งในแง่ยับยั้งการยึดติด และยับยั้งการเจริญเติบโต⁽¹⁶⁾

โพรไบโอติกกับงานทางทันตกรรม

ช่องปากเป็นบริเวณที่มีแบคทีเรียค่อนข้างมาก โดยส่วนประกอบของไมโครไบโอมจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมภายในช่องปาก ซึ่งภาวะความไม่สมดุลของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดโรคภายในช่องปากได้⁽¹⁷⁾

- โรคฟันผุ: โพรไบโอติกมีผลในการป้องกันฟันผุ มีการสันนิษฐานว่าเกิดจากการรบกวนและยับยั้งเชื้อก่อโรค โดยโพรไบโอติกจะสร้างสารไฮโดรเจนเพอออกไซด์ แบคทีเรียโพรซิโนและกรดออร์แกนิก กรดออร์แกนิกจะทำให้มีค่าความเป็นกรดมากขึ้น ส่งเสริมการโตของแบคทีเรียที่ทนต่อกรดได้ ส่วนแบคทีเรียโพรซิโนจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคชนิดอื่น นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการปรับเปลี่ยนการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยจะมีความเกี่ยวข้องกับการหลั่งไซโตไคน์ต่างๆ เพิ่มการสร้างอิมมูโนโกลบูลินเอ กระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ และเพิ่มการเกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิส รวมทั้งส่งผลต่อความสามารถในการป้องกันของเยื่อบุผิวอีกด้วย โดยชนิดของจุลินทรีย์ที่ถูกนำมาศึกษาเกี่ยวกับการป้องกันฟันผุ เช่น *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* และ *Lactobacillus paracasei* เป็นต้น⁽¹⁷⁾

- โรคปริทันต์: เป็นโรคที่เกิดได้จากหลายสาเหตุทั้งโฮสต์ สิ่งแวดล้อม และเชื้อแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องเป็นหลัก ได้แก่ *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* และ *Tannerella forsythia*⁽⁷⁾ มีการศึกษาโดยการใช้ โพรไบโอติกชนิดต่างๆ เป็นส่วนเสริมในการรักษาโรคปริทันต์ พบว่ากลไกที่เกี่ยวข้องคือ การปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของไบโอฟิล์ม โดยโพรไบโอติกสามารถยึดติดกับเยื่อของปากได้ดีกว่าเชื้อก่อโรค การลดระดับของไซโตไคน์ที่มีผลต่อการอักเสบ เอนไซม์คอลลาจีเนส อีลาสเตส และโปรสตาแกลนดินอี 2⁽¹⁸⁾

- กลิ่นปาก: เป็นผลจากการย่อยสลายน้ำลายและโปรตีนในอาหารของแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้ได้สารระเหยซึ่งมีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ H₂S และ CH₄S ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นปาก ได้มีการศึกษาพบว่า *L. salivarius* มีผลในการช่วยลดความเข้มข้นของสารระเหยดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁷⁾

- การติดเชื้อรา: โพรไบโอติกสามารถลดการเกิด hyphae และลดการสร้างไบโอฟิล์มของ *Candida albicans* ซึ่งเป็นสปิซิสที่ก่อให้เกิดโรคมากที่สุด รวมถึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา และเสริมฤทธิ์กับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อรา⁽¹⁹⁾

- การรักษารากฟัน: เมื่อนำโพรไบโอติกมาใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันขณะรักษารากพบว่าเชื้อ *Enterococcus faecalis* ซึ่งเป็นเชื้อที่มักพบเมื่อมีการติดเชื้อที่ปลายรากฟันลดลง และยังทำให้มีสารสื่ออักเสบลดลง เป็นผลให้การอักเสบบริเวณรอบปลายรากฟันลดลงด้วย⁽²⁰⁾

แลคโตบาซิลไล (Lactobacilli)

แลคโตบาซิลไลเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือสายสั้น มีคุณสมบัติทนต่อกรดและน้ำดี สามารถผลิตกรดแลคติกได้ และมีหลากหลายสายพันธุ์ เช่น *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* และ *Lactobacillus paracasei* ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน⁽²⁾ แลคโตบาซิลไลมีบทบาทสำคัญในการปรับระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีการศึกษาพบว่ามีความสามารถในการลดกระบวนการอักเสบ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF- α ได้⁽³⁾ โดยพบว่า *Lactobacillus paracasei* ทั้งที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต สามารถยับยั้งการปล่อย TNF- α และ IL-6 ได้ โดยจะกีดกันเหนี่ยวนำของ LPS ทำให้เกิด I-KB α phosphorylation และยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ NF-KB จากไซโตซอลไปยังนิวเคลียสใน NF-KB pathway ซึ่งควบคุมการแสดงออกของสารตัวกลางสำคัญในกระบวนการอักเสบ เช่น IL-1, IL-6, IL-8 และ TNF- α ทำให้ลดการปล่อย proinflammatory cytokines และช่วยลดกระบวนการอักเสบได้⁽³⁾

มีการศึกษาพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 ที่คัดแยกจากอุจจาระเด็กทารกแรกเกิดในประเทศไทย มีความสามารถในการยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 ได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽²¹⁾ และยังมีการศึกษาพบว่า *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 สามารถลดการอักเสบในสัตว์ทดลอง รวมถึงลดการอักเสบในตับ และลดการเกิดพังผืดในตับ (liver fibrosis) ได้⁽²²⁾

กระบวนการหายของแผล

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ⁽⁴⁾ ดังนี้

1. ระยะการเกิดลิ่มเลือด และการแข็งตัวของเลือด (Coagulation and hemostasis phase)

ระยะนี้เกิดขึ้นทันทีหลังเกิดการบาดเจ็บ โดยจะมีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือดเพื่อลดการไหลออกสู่ภายนอกของเลือด พร้อมกันนั้น

เมื่อองค์ประกอบในเลือดและเกล็ดเลือดมาสัมผัสกับบริเวณที่มีการเฉยของคอลลาเจน กระตุ้นให้เกิดเลือดหลังปัจจัยการแข็งตัวของเลือด และเกิดกระบวนการแข็งตัวของเลือดทั้งเส้นทางภายนอก (Extrinsic pathway) และเส้นทางภายใน (Intrinsic pathway) ส่งผลให้เกิดการรวมตัวของเกล็ดเลือด และเกิดลิ่มเลือดขึ้น นอกจากนี้เกล็ดเลือดยังสามารถหลั่ง Growth factor และไซโตไคน์ต่างๆ เช่น platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor และ insulin-like growth factors โดยจะทำหน้าที่ช่วยเหนี่ยวนำนิวโทรฟิลล์ แมคโครฟาจ เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด และไฟโบรบลาสต์ ซึ่งจะมียบทบาทในการช่วยส่งเสริมการหายของแผล⁽⁴⁾

2. ระยะเวลาอักเสบ (Inflammatory phase)

2.1 การอักเสบระยะเริ่มต้น (Early inflammatory phase)

ระยะนี้เริ่มต้นขึ้นในช่วงท้ายของ coagulation phase โดยจะมีการกระตุ้นให้เกิดการเข้ามาของนิวโทรฟิลล์ที่บริเวณแผลเพื่อป้องกันการติดเชื้อ โดยจะเข้ามาเพื่อกำจัดแบคทีเรีย สิ่งแปลกปลอม และเนื้อเยื่อที่เสียหายด้วยกระบวนการฟาโกไซโตซิส นิวโทรฟิลล์จะมีบทบาทสำคัญในช่วง 24-36 ชั่วโมงแรกหลังเกิดการบาดเจ็บ สารที่มีบทบาทในการเหนี่ยวนำนิวโทรฟิลล์ ได้แก่ TGF- β , complement components และ formylmethionyl peptides เมื่อแบคทีเรียทั้งหมดถูกกำจัด นิวโทรฟิลล์จะค่อยๆลดบทบาทลง โดยจะมีการเกิดการตายของเซลล์ และถูกกำจัดโดยแมคโครฟาจในเวลาต่อมา⁽⁴⁾

2.2 การอักเสบระยะหลัง (Late inflammatory phase)

ระยะนี้จะเกิดใน 48-72 ชั่วโมงหลังเกิดการบาดเจ็บ โดยการเข้ามามีบทบาทของแมคโครฟาจ ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากโมโนไซต์ โดยจะถูกดึงดูดมาที่บริเวณแผลด้วย Chemoattractive agents ต่างๆ เช่น PDGF, TGF- β , leukotriene B4 และ platelet factor IV เป็นต้น แมคโครฟาจเป็นแหล่งของ growth factors สำคัญต่างๆ การขาดโมโนไซต์และแมคโครฟาจจะส่งผลให้การหายของแผลช้าลง และอ่อนแอกว่าปกติ

ในเวลาต่อมาภายหลังเกิดการบาดเจ็บประมาณ 72 ชั่วโมง จะเกิดการดึงดูดให้ลิมโฟไซต์เข้ามาที่บริเวณแผลโดย interleukin-1 (IL-1), complement components และ immunoglobulin G (IgG)⁽⁴⁾

3. ระยะการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน (Proliferative phase)

ระยะนี้จะเริ่มในวันที่ 3 และจะคงอยู่ประมาณ 2 สัปดาห์ โดยจะมีการเคลื่อนย้ายของไฟโบรบลาสต์เข้ามา เกิดการสร้างใหม่ของเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ และมีการสร้าง granulation tissue⁽⁴⁾ โดยกระบวนการที่เกิดขึ้นในระยะนี้ มีดังต่อไปนี้

3.1 การเคลื่อนตัวของไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast migration)

เมื่อมีการบาดเจ็บไฟโบรบลาสต์จะถูกกระตุ้นให้มีการแบ่งตัวในช่วง 3 วันแรก แล้วจึงเคลื่อนย้ายมาที่บริเวณแผลด้วยการเหนี่ยวนำของ TGF- β และ PDGF ในวันที่ 3 โดยไฟโบรบลาสต์จะทำหน้าที่สร้างโปรตีนต่างๆ ได้แก่ ไฮยาลูรอน, ไฟโบรเนคติน, โปรตีโอไกลแคน และ คอลลาเจนชนิดที่ 1 และ 3 ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ หลังจากนั้นจะเกิดการหดตัวของแผล ทำให้ขอบแผลเข้ามาใกล้กัน เมื่อไฟโบรบลาสต์ทำหน้าที่แล้วก็จะเกิดการตายในเวลาต่อมา⁽⁴⁾

3.2 การสังเคราะห์คอลลาเจน (Collagen synthesis)

คอลลาเจนถูกสร้างโดยไฟโบรบลาสต์ เป็นส่วนประกอบสำคัญในกระบวนการหายของแผล โดยชนิดที่พบในแผลจะเป็นชนิดที่ 1 และ 3⁽⁴⁾

3.3 การสร้างหลอดเลือดใหม่และการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (Angiogenesis and granulation tissue formation)

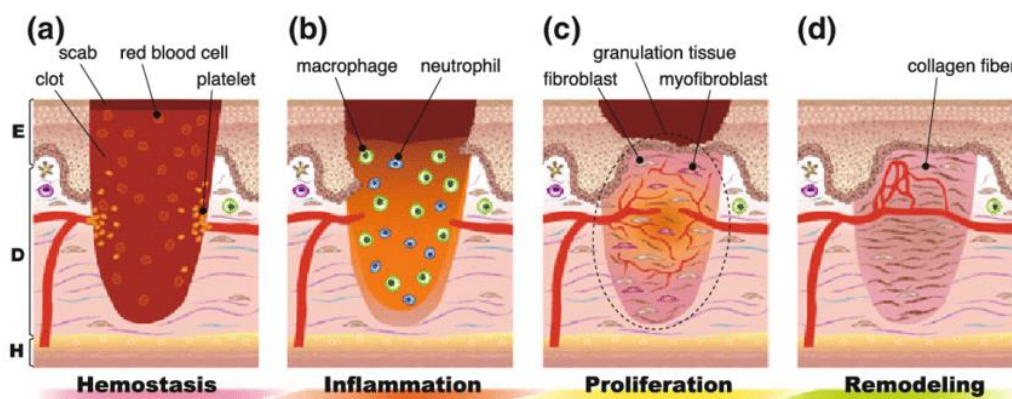
เป็นขั้นตอนการสร้างหลอดเลือดใหม่ โดยมีสารที่มีบทบาทสำคัญ คือ Fibroblast growth factor (FGF) และ vascular endothelial growth factor (VEGF)⁽⁴⁾

3.4 การสร้างเยื่อบุผิว (Epithelialization)

การเคลื่อนย้ายของเซลล์เยื่อบุผิวเริ่มต้นจากบริเวณขอบแผล ภายหลังการสร้างหลอดเลือดเสร็จเรียบร้อยแล้ว โดยจะเกิดการแบ่งตัว เคลื่อนย้าย และสร้างฐานรองเนื้อเยื่อในเวลาต่อมา⁽⁴⁾

4. ระยะปรับสมดุลโครงสร้างของแผล (Remodeling phase)

เป็นระยะสุดท้ายในการหายของแผล โดยจะเกี่ยวข้องกับการสร้างเยื่อบุผิว และการเกิดแผลเป็น ระยะนี้อาจใช้เวลาประมาณ 1-2 ปี หรือนานกว่านั้น โดยในระยะนี้จะต้องมีความสมดุลระหว่างการสร้างและการทำลายเพื่อให้เกิดการหายของแผลที่ปกติในที่สุด⁽⁴⁾



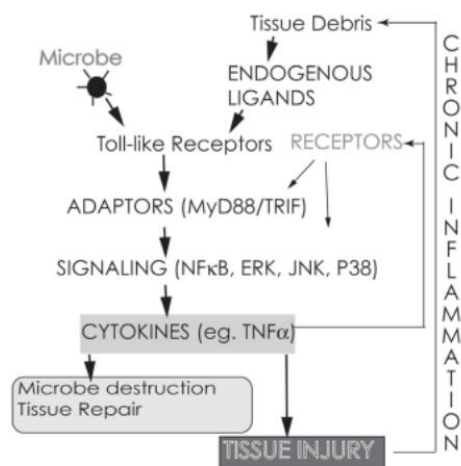
ภาพประกอบ 1 กระบวนการหายของแผล

ที่ มา : Kawasumi A, Sagawa N, Hayashi S, Yokoyama H, Tamura K. Wound healing in mammals and amphibians: Toward limb regeneration in mammals. *Current topics in microbiology and immunology*. 20 12;367.

ทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา (Tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)

TNF- α เป็น proinflammatory cytokine สร้างโดยโมโนไซต์ และแมคโครฟาจในระยะที่มีการอักเสบแบบเฉียบพลันเกิดขึ้น⁽⁵⁾ โดยเป็นสารตัวแรกๆ ที่ถูกหลั่งออกมาภายหลังเกิดการบาดเจ็บ การติดเชื้อ หรือการกระตุ้นของไลโปโพลีแซคคาไรด์ของแบคทีเรีย การแสดงออกของยีนส์ TNF- α จะถูกควบคุมในขั้นตอน translation ด้วย nuclear factor kappa b (NF-kB) และ nuclear factor T cells (NF-AT) TNF- α ถือเป็นตัวควบคุมหลักในการสร้าง proinflammatory cytokine⁽²³⁾ และยังมีบทบาทสำคัญอื่นๆ อีกมากมาย ได้แก่ กระตุ้นการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์, เหนี่ยวนำการสร้างโพสตาแกลอนดิน และการแสดงออกของยีนส์คอลลาจีเนส, หลัง growth factor ต่างๆ และปรับการทำหน้าที่ของแมคโครฟาจ⁽⁵⁾ นอกจากนี้ TNF- α ยังมีความสำคัญต่อการหายของแผลโดยจะช่วยในกระบวนการกำจัดเซลล์ที่ตายแล้วของแมคโครฟาจ, กระตุ้น bone morphogenetic protein (BMP) และช่วยเกี่ยวกับการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อ⁽²³⁾

ปกติ TNF- α จะถูกหลั่งจากเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดบริเวณบาดแผล โดยจะมีค่าสูงตั้งแต่ช่วงแรกที่เกิดบาดแผล และจะค่อยๆ ลดลงจนเท่าค่าปกติภายหลังระยะการอักเสบ⁽⁶⁾ มีการพบว่า TNF- α มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดแผลเรื้อรัง โดยมักจะมีระดับสูงขึ้นทั้งในบริเวณบาดแผลและทั่วร่างกายเมื่อเกิดแผลเรื้อรัง จึงมีหลากหลายการศึกษาที่มุ่งเน้นไปที่การจัดการกับ TNF- α เพื่อรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของกระบวนการอักเสบของร่างกาย⁽²³⁾



ภาพประกอบ 2 บทบาทของ TNF- α ต่อการอักเสบในการเกิดแผลเรื้อรัง

ที่ ม ๑ : Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103.

กัญชา (Cannabis)

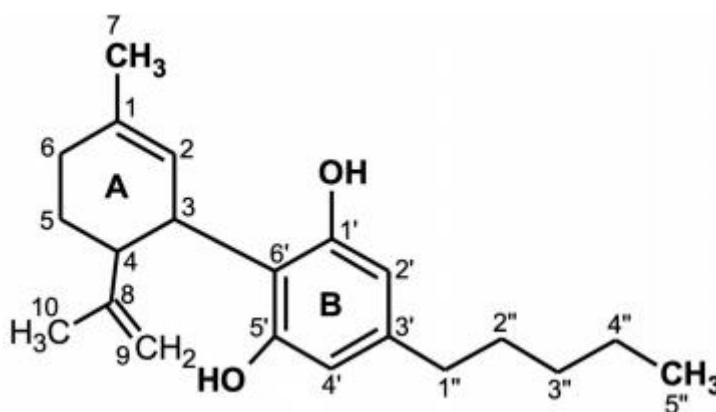
กัญชามีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Cannabis sativa* L. เป็นพืชในตระกูล Cannabaceae⁽²⁴⁾ ต้นกัญชาสามารถสูงได้ถึง 3 เมตรหรืออาจเล็กกว่า ขึ้นกับความหลากหลายและสถานะในการเติบโต ใบมีลักษณะแผ่คล้ายนิ้วมือ โดยมีใบอ่อนประมาณ 5-7 ใบ โดยสารออกฤทธิ์ของกัญชาจะอยู่ในดอกเพศเมีย⁽²⁵⁾



ภาพประกอบ 3 ลักษณะใบและดอกของต้นกัญชา

ที่ ม ๑ : Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The cannabis terpenes. Molecules. 2020;25(24). eng. 2020/12/12.

แคนนาบิไดโอด (Cannabidiol หรือ CBD) เป็นสารออกฤทธิ์ของกัญชา โดยมีฤทธิ์ลดกระบวนการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ แคนนาบิไดโอดเป็นสารประกอบ terpenophenol ประกอบไปด้วยอะตอมคาร์บอน 21 ตัว โดยมีสูตรคือ $C_{21}H_{30}O_2$ มีน้ำหนักโมเลกุล 314.464 กรัม/โมล การออกฤทธิ์ทางเคมีของแคนนาบิไดโอดเกิดที่บริเวณ phenolic ring ที่ตำแหน่ง c-1' และ c-5'⁽¹⁰⁾

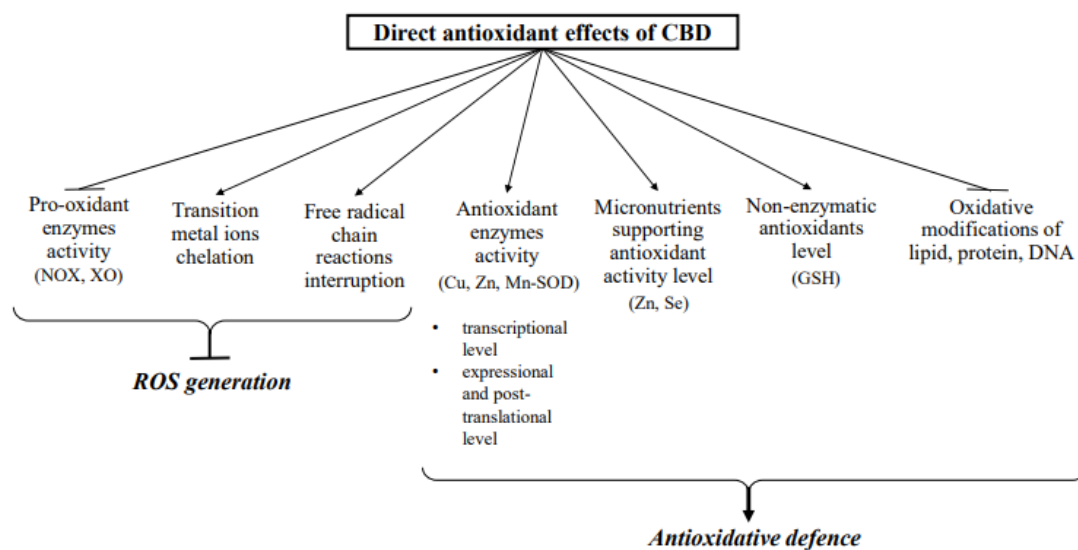


ภาพประกอบ 4 โครงสร้างทางเคมีของแคนนาบิไดโอด

ที่มา: Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants* (Basel). 2019;9(1). 20191225.

การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดกระบวนการอักเสบของแคนนาบิไดโอด

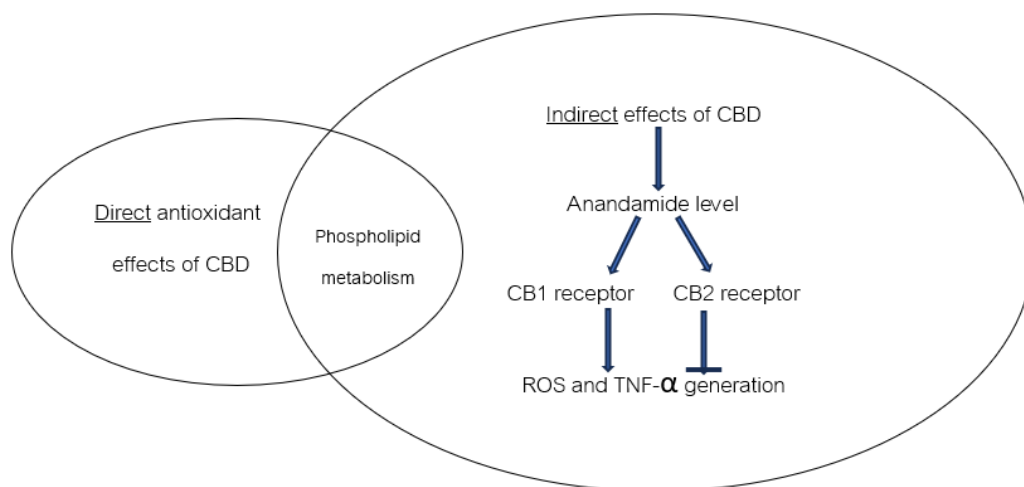
CBD มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยจะมีผลต่อปฏิกิริยารีดอกซ์ ป้องกันการสร้างของ superoxide radicals ซึ่งปกติจะถูกสร้างโดย xanthine oxidase (XO) และ NADPH oxidase นอกจากนี้ CBD ยังสามารถเปลี่ยนแปลงระดับ และการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระได้ โดยมีผลตั้งแต่กระบวนการถอดรหัสของโปรตีน การเพิ่มระดับของเอนไซม์ที่มีผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึม superoxide radicals รวมทั้งเข้าจับกับอนุมูลอิสระ หรือเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ไม่ออกฤทธิ์⁽¹⁰⁾



ภาพประกอบ 5 การออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของแคนนาบิไดออล

ที่มา : Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants (Basel)*. 2019;9(1). 20191225.

แคนนาบิไดออลเป็น weak agonist ต่อ CB1 receptor เมื่อ CB1 ถูกกระตุ้นจะเพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ และการตอบสนองของกระบวนการอักเสบผ่านการสร้าง TNF- α โดยมีการพบว่า แคนนาบิไดออลสามารถควบคุมและยับยั้ง CB1 receptor ได้ นอกจากนี้ CBD ยังสามารถจับกับ CB2 receptor ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นจะมีผลลดอนุมูลอิสระ และระดับของ TNF- α ส่งผลให้ oxidative stress และกระบวนการอักเสบลดลง มีการศึกษายืนยันว่าแคนนาบิไดออลสามารถลดระดับของสารสื่ออักเสบ, ยับยั้ง T cell proliferation, เหนี่ยววนำการตายของ T cell และลดการเคลื่อนย้าย การยึดติดของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹⁰⁾



ภาพประกอบ 6 กลไกในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดกระบวนการอักเสบของ
แคนนาบิไดออล

อ้างอิงจาก: Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants* (Basel). 2019;9(1). 20191225.

การออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแคนนาบิไดออล

มีการศึกษาพบว่าแคนนาบิไดออล มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับสูง โดยสามารถต้านได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ⁽²⁶⁾ โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไลโปโพลีแซคคาไรด์ยับยั้งการสร้างโปรตีน ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และเพปทิโดไกลแคนของแบคทีเรีย⁽²⁷⁾ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยยับยั้งการเกิดไบโอฟิล์ม เสริมฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะ และสามารถต้านเชื้อราได้ในระดับอ่อนๆ ได้อีกด้วย⁽²⁶⁾

กัญชากับการแพทย์

ในปัจจุบันกัญชาเป็นพืชถูกกฎหมายในหลายประเทศ ทำให้มีการนำมาใช้ในการทางการแพทย์อย่างแพร่หลายมากขึ้น โดยมีการนำกัญชามาใช้ในหลายๆด้าน เช่น การรักษาอาการปวดเรื้อรัง และอาการปวดจากระบบประสาท, ภาวะกล้ามเนื้อหดเกร็งซึ่งเกี่ยวข้องกับโรค multiple sclerosis และภาวะชัก เป็นต้น⁽²⁸⁾ โดยการออกฤทธิ์ของกัญชาจะขึ้นกับขนาดที่ได้รับ หากได้รับในระดับต่ำจะออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท และหากระดับกลางถึงมากจะออกฤทธิ์ทำให้เกิดความผ่อนคลาย⁽²⁹⁾

กัญชากับงานทันตกรรม

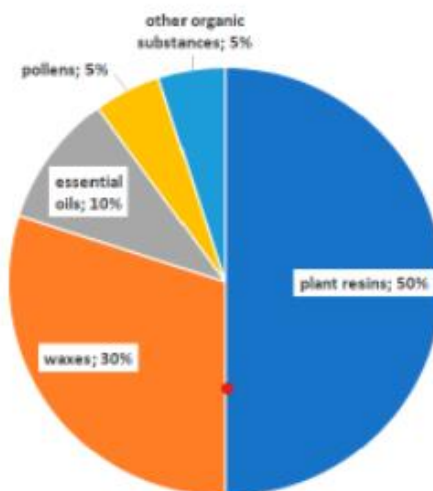
ในปัจจุบันกัญชาถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางทันตกรรม ทั้งในรูปแบบของการผสมลงไปใต้น้ำยาบ้วนปาก ยาสีฟัน สเปรย์ และหมากฝรั่ง เป็นต้น โดยมุ่งหวังผลในการลดความเจ็บปวดจากฟัน และเหงือก การออกฤทธิ์ด้านจุลชีพ รวมทั้งลดการอักเสบของเหงือก มีการศึกษาพบว่าการใช้แคนนาบิไดออลในยาสีฟัน มีผลในการช่วยลดโคโลนิของแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ และน้ำยาบ้วนปากที่ทำจากแคนนาบิไดออล มีประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรียเทียบเท่ากับ 0.2% คลอเฮกซีดีน นอกจากนี้ยังพบว่า มี Cannabinoid receptor ในต่อมน้ำลาย ซึ่งมีผลต่อการควบคุมการไหล และองค์ประกอบของน้ำลาย ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการรักษาภาวะน้ำลายน้อยได้⁽⁹⁾

ตัวอย่างการนำแคนนาบิไดออลมาใช้ในทางทันตกรรม ได้แก่

- อาการปวดฟัน: แคนนาบิไดออลมีผลลดอาการปวดได้ จึงมีการนำมาใช้ในการควบคุมความเจ็บปวดภายหลังการถอนฟัน⁽⁹⁾
- ภาวะแสบร้อนในช่องปาก: มีการศึกษาพบว่าแคนนาบิไดออลเป็นสารที่มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะแสบร้อนในช่องปาก โดยเมื่อเกิดภาวะนี้จะมี CB2 เพิ่มขึ้น และ CB1 ลดลง⁽⁹⁾
- ฟันผุ: แคนนาบิไดออลมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในคราบจุลินทรีย์ได้ จึงมีการนำมาผสมใต้น้ำยาบ้วนปาก ยาสีฟัน และผงขัดฟัน⁽⁹⁾
- ความกังวลในการเข้ารักษาทางทันตกรรม: พบว่าการให้แคนนาบิไดออล 15-30 มิลลิกรัมทางใต้ลิ้นก่อนทำหัตถการ มีผลในการลดความเจ็บปวด และความกังวลจากการรักษาทางทันตกรรมได้⁽⁹⁾
- โรคปริทันต์: แคนนาบิไดออล มีผลในการควบคุม/ลดกระบวนการอักเสบของเซลล์เอ็นดोปริทันต์ซึ่งส่งผลต่อการดำเนินของโรคปริทันต์⁽⁹⁾

พรอพอลิส (Propolis)

พรอพอลิสเป็นสารที่ผึ้งใช้ในการสร้างรังผึ้ง โดยมีส่วนช่วยในการลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส การระบายอากาศ และการกันน้ำ โดยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสมีมากกว่า 300 องค์ประกอบ โดยองค์ประกอบหลัก ได้แก่ เรซิน, ขี้ผึ้ง, polyphenols และ terpenoids⁽³⁰⁾



ภาพประกอบ 7 สัดส่วนองค์ประกอบของพรอพอลิส

ที่ ม ๑ : Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. *Molecules*. 2019;24(11). eng. 2019/05/31.

พรอพอลิสกับการแพทย์

พรอพอลิสสามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์ได้หลากหลาย โดยมีคุณสมบัติทางการแพทย์ ดังต่อไปนี้

- ด้านการติดเชื้อ

พรอพอลิสมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย โดยแบ่งออกเป็น 2 ระดับ ระดับที่ 1 คือ การส่งผลต่อเชื้อโดยตรง และระดับที่ 2 คือการส่งผลผ่านการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน พรอพอลิสจะมีผลเพิ่ม permeability ของเซลล์เมมเบรน ของเชื้อแบคทีเรีย ขัดขวางการสร้างพลังงาน รวมทั้งลดการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย โดยพบว่าจะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากส่วนประกอบของ outer membrane ในแบคทีเรียแกรมลบ การสร้าง hydrolytic enzyme มาทำลายพรอพอลิส⁽³⁰⁾ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและไวรัสได้อีกด้วย⁽¹²⁾

- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และลดการอักเสบ

พรอพอลิสมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสาร phenolics ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบอยู่ปริมาณมาก⁽³¹⁾ นอกจากนี้พรอพอลิสยังมีส่วนในการต้านกระบวนการอักเสบ เนื่องจากสารอนุมูลอิสระเป็นหนึ่งในปัจจัยที่กระตุ้นให้เกิดการทำลาย

เนื้อเยื่อ และเกิดกระบวนการอักเสบ⁽³²⁾ โดยกลไกต้านการอักเสบของพรอพอลิส ได้แก่ ยับยั้ง เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนสและโพรตาแกลนดิน, จับกับสารอนุมูลอิสระ, ยับยั้งการสร้าง nitric oxide, ลดความเข้มข้นของไซโตไคน์สื่ออักเสบ และกดภูมิคุ้มกัน⁽³³⁾

นอกจากนี้ Pinocembrin ในพรอพอลิสยังมีส่วนช่วย ในการลดระดับของ proinflammatory cytokines (TNF- α , interleukin-1beta) และเหนี่ยวนำเอนไซม์ nitric oxide synthase⁽³³⁾

- การปกป้องตับ

มีการศึกษาพบว่าพรอพอลิสมีฤทธิ์ hepatoprotective โดยทำให้เกิดการฟื้นตัวของเซลล์ตับ และป้องกันการเพิ่มของ cytochrome P-450 enzymes ในตับที่เกิดการบาดเจ็บ⁽¹²⁾

- การปกป้องระบบประสาท

มีรายงานว่าพรอพอลิสมีส่วนช่วยในการปกป้องระบบประสาทผ่านฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ และการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน อีกทั้งยังช่วยป้องกันความเสื่อมตามอายุของระบบความจำ และการเกิดพยาธิสภาพของสมอง เช่น โรคอัลไซเมอร์⁽¹²⁾

- ระบบหัวใจและหลอดเลือด

มีการสันนิษฐานว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิสส่งผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยส่งเสริมฤทธิ์ของยาลดไขมัน, ลดระดับคอเลสเตอรอล และเพิ่มปริมาณคอเลสเตอรอลชนิดดี (high density lipoprotein), ช่วยในการป้องกันและรักษาโรคความดันโลหิตสูง และช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (Atherosclerosis)⁽¹²⁾

พรอพอลิสกับงานทันตกรรม

ในปัจจุบันมีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ทางทันตกรรมมากขึ้น โดยพรอพอลิสมีผลในการป้องกัน และการรักษาโรคฟันผุ เนื่องจากฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย โดยมีประสิทธิภาพในการลด และ/หรือยับยั้งการโตของ *Streptococcus mutans* และแบคทีเรียก่อโรคฟันผุนชนิดอื่นๆ โดยมีกลไกคือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยตรง, ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคซิลทานสเฟอเรส และยับยั้งการสร้างกรดของแบคทีเรีย มีการศึกษาพบว่าเมื่อบ้วนปากด้วยน้ำยาบ้วนปากจาก มีผลช่วยลดจำนวนของ *S. mutans* และ *Lactobacillus* spp. ในน้ำลาย หมากฝรั่งที่มีพรอพอลิสเป็นองค์ประกอบก็มีผลช่วยลดปริมาณแบคทีเรียด้วยเช่นกัน มีการใช้พรอพอลิสเป็นวานิชที่มีการปลดปล่อยอย่างช้าๆ พบว่ามีผลต้านแบคทีเรียในช่องปากได้⁽¹³⁾

ในการรักษาโรคปริทันต์ จากคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และลดการอักเสบ พรอพอลิสมีผลในการลดการสะสมตัวของคราบจุลินทรีย์ และการเกิดโรคเหงือก น้ำยาบ้วนปาก พรอพอลิสมีผลลดคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือก ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) และ ดัชนีสภาพเหงือก (gingival index) ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้น้ำยาบ้วนปาก และหมากฝรั่งที่มีพรอพอลิสเป็นส่วนประกอบ พบว่ามีผลส่งเสริมการรักษาโรคปริทันต์เช่นกัน⁽¹³⁾

พรอพอลิสถูกนำมาใช้ในการปิดคลุมโพรงประสาทฟัน พบว่าโพรงประสาทฟันที่รักษาด้วยพรอพอลิส มีการอักเสบที่ต่ำกว่า โดยพรอพอลิสมีผลลดการแสดงออกของ LPS-induced inflammatory mediators และกรดสารสื่ออักเสบ เช่น IL-1 α , IL-6 และ TNF- α ⁽¹³⁾

นอกจากนี้พรอพอลิสยังส่งผลต่อการหายของแผลและกระดูกอีกด้วย โดยพบว่าพรอพอลิสสามารถช่วยกระตุ้นการซ่อมแซมของเยื่อเมือ ลดการอักเสบภายหลังทำศัลยกรรมยับยั้งการสร้างเซลล์ทำลายกระดูก (osteoclast) และ RANKL-related signaling pathways⁽¹³⁾

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- สุสุมาและคณะ (2022) ได้ทำการศึกษาผลของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับ ของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF- α ในน้ำเหลืองเหงือก อาการปวด อาการบวม ภาวะอ้าปากลำบาก และระยะเวลาอ้าปากในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุดการผ่าฟันคุดล่างซี่ที่ 3 พบว่าการล้างแผลผ่าฟันคุดด้วยน้ำเกลือผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกสามารถลดระดับ TNF- α ในน้ำเหลืองเหงือกอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน Visual analog scale score ของอาการปวด อาการบวม และภาวะการอ้าปากลำบากในกลุ่ม ทดลองนั้นมีค่าน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลา อ้าปากของกลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาอ้าปากของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ทำให้สามารถสรุปผลการทดลองได้ว่าน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* สามารถลดระดับของสารสื่ออักเสบ TNF- α ในน้ำเหลืองเหงือกได้ และมีผลเชิงบวกต่อการลดภาวะแทรกซ้อน อาการปวด อาการบวม และภาวะการอ้าปากลำบากที่เกิดขึ้นภายหลังการผ่าฟันคุดล่างซี่ที่ 3⁽⁸⁾

- ญัฐพลและคณะ (2022) ได้มีการใส่สารสกัดกัญชา (แคนนาบิไดโอด) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* เพื่อศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดจากต่อมการลดระดับของทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟา (TNF- α) โดยทำการทดลองใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 และวัดความสามารถ

ในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ด้วยวิธี ELISA พบว่าน้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติกผสมสารสกัดจาก
 กล้วยงาที่มีความสามารถในการลดระดับ TNF- α ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยความเข้มข้นที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการลดระดับ TNF- α
 ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสารสกัดกล้วยงาร้อยละ 1 และน้ำเลี้ยงโพโรไบโอติก ร้อยละ 10
 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ถึง 83.79%⁽¹¹⁾

- ญัฐญาณ์ และคณะ (2023) ได้มีการใส่พรอพอลิสที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงใน
 น้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติก และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพโรไบโอติกและสารสกัดกล้วยงา
 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α โดยทำ การทดลอง
 ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 และวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α
 ด้วยวิธี ELISA พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของพรอพอลิส และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสม
 ของสารสกัดกล้วยงาและพรอพอลิสทุกสูตร มีความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ดีกว่า
 น้ำยาบ้วนปากโพโรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยน้ำยาบ้วนปากสูตร
 ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมจากน้ำเลี้ยงโพโรไบโอติก 10% และ
 พรอพอลิส 5% โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหลั่ง TNF- α เท่ากับ 92.96% และสูตรที่มีประสิทธิภาพ
 เป็นลำดับที่ 2 ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมจากน้ำเลี้ยงโพโรไบโอติก 10% และพรอพอลิส 5%
 ร่วมกับสารสกัดกล้วยงา 1% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหลั่ง TNF- α เท่ากับ 92.35%⁽¹⁴⁾

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. Propolis extracts
2. Cannabidiol (CBD)
3. Sodium saccharine (commercial grade)
4. MRS broth (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)
5. Lipopolysaccharide from *E. coli* (Sigma, USA)
6. Cell lines: THP-1 monocytic cells (ATCC, TIB 202)
7. Fetal bovine serum (Gibco-Invitrogen, USA)
8. Bovine serum album (BSA: Sigma, USA)
9. RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA)
10. Hemocytometer (Hausser Scientific, USA)
11. ELISA plate: 96-well plate : High binding (Corning, USA)
12. ELISA kits (R&D Systems, USA)
13. Recombinant human TNF- α (R&D Systems, USA)
14. BioTek®Synergy™ HT (Multi-Detection Microplate Reader, USA)
15. Spectrophotometer
16. pH meter

วิธีการ

วิธีการทดลองจะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (Probiotic supernatant) *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1

- เพาะเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C ในอาหารเหลว (MRS broth (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

- นำเชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่เพาะเลี้ยงไว้ มาเจือจาง ในอาหารเหลว ให้ได้ปริมาณ 10^9 เซลล์/มิลลิลิตร และทำการเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอีก 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ (supernatant) โดยนำไปกรองด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดกรอง 0.22 μm (Sigma, USA) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาใช้

ขั้นตอนที่ 2 เตรียมสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1, ส่วนผสมจากกัญชา และส่วนผสมจากพรอพอลิส

2.1 เตรียมน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากพรอพอลิส ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชนิด

- นำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่เก็บไว้มาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง

- ปรับความเข้มข้นของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก โดยเจือจางกับน้ำเกลือ 0.9% ให้ได้ความเข้มข้น 10% v/v

- เตรียมพรอพอลิสที่ความเข้มข้น 5% v/v

- เตรียมโซเดียม แคลคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.9% v/v

- ตวงส่วนผสมข้างต้นเข้าด้วยกัน และเติมน้ำเกลือ ให้ได้ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จะได้น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่มีความเข้มข้นของพรอพอลิส 5%

2.2 เตรียมน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากพรอพอลิสร่วมกับสารสกัดกัญชา ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2 และเพิ่มแคนนาบิไดโอด (Cannabidiol, CBD) 1%

ตาราง 1 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร

ส่วนประกอบ	ปริมาณในน้ำยาบ้วนปาก		หน้าที่ของสาร
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	
พรอพอลิส (ml)	0.5	0.5	สารออกฤทธิ์
สารสกัดกัญชา 5% CBD (ml)	-	0.1	สารออกฤทธิ์
น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% (ml)	1	1	สารออกฤทธิ์
โซเดียม แซคคาริน 0.9% (ml)	0.33	0.33	สารแต่งรส
น้ำเกลือ ปรับปริมาณให้ได้ (ml)	10	10	ตัวทำละลาย

หลังจากเตรียมน้ำยาบ้วนปากทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว นำน้ำยาแต่ละสูตรที่เตรียมไว้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20°C 1 ขวด, เก็บที่อุณหภูมิ 4°C 1 ขวด และเก็บที่อุณหภูมิ 25°C 1 ขวด จัดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อทดสอบกับ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ได้แก่ กลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมลบ และกลุ่มควบคุมบวก ดังนี้

กลุ่มทดลอง

สูตรที่ 1 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และส่วนผสมพรอพอลิส 5% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C

สูตรที่ 2 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และส่วนผสมจากพรอพอลิส 5% ร่วมกับสารสกัดกัญชา 1% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C

กลุ่มควบคุมบวก

น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลียงโพโรไบโอติก 10% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

สารสกัดพรอพออลิส 5% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

สารสกัดกัญชา 1% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

กลุ่มควบคุมลบ

น้ำเกลือ 0.9% เก็บที่อุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640) เก็บที่อุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C

ตาราง 2 ส่วนผสมของกลุ่มควบคุมบวก

ส่วนประกอบ	ปริมาณในน้ำยาบ้วนปาก			หน้าที่ของสาร
	น้ำยาบ้วนปาก ที่มีส่วนผสม ของน้ำเลียง โพโรไบโอติก 10%	สารสกัด พรอพออลิส 5%	สารสกัด กัญชา 1%	
พรอพออลิส (ml)	-	0.5	-	สารออกฤทธิ์
สารสกัดกัญชา 5% CBD (ml)	-	-	0.1	สารออกฤทธิ์
น้ำเลียงโพโรไบโอติก 10% (ml)	1	-	-	สารออกฤทธิ์
โซเดียม แซคคาริน 0.9% (ml)	0.33	-	-	สารแต่งรส
น้ำเกลือ ปรับปริมาณให้ ได้ (ml)	10	10	10	ตัวทำละลาย

ขั้นตอนที่ 3 เพาะเลี้ยง human monocytic cell line ชนิด THP-1

เพาะเลี้ยง human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1: เลี้ยง human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ด้วย RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA) เสริมด้วย 10% heat-inactive fetal bovine serum (FBS; Gibco-Invitrogen, USA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO₂ จากนั้น ทำการเจือจางให้ได้ 5 x 10⁵ เซลล์/ มิลลิลิตร ทำการเพาะลงในภาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ก้นแบน (Corning, USA) โดยทำการนับเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (Inverted microscope (Nikon TMS No.300679; Nikon, Japan))

ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบความเสถียรของน้ำยาบ้วนสูตรที่ 1 และ 2

4.1 วัดค่าการดูดกลืนแสง

นำน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรที่เก็บไว้ในทั้ง 3 อุณหภูมิ รวมถึงกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และบันทึกผลในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

4.2 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

นำน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรที่เก็บไว้ในทั้ง 3 อุณหภูมิ รวมถึงกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกผลในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

4.3 การกระตุ้นการหลั่ง TNF- α และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30

เติม Lipopolysaccharide (LPS) บริสุทธิ์ ที่ได้จาก *Escherichia coli* ชนิด O127:B8 (Sigma, USA) ปริมาณ 5 μ l (ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ng/ml) และน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรที่เก็บไว้ในทั้ง 3 อุณหภูมิ รวมถึงกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ใส่ลงใน human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 สูตรละ 3 หลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อไปตรวจระดับของ TNF- α โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และนำไปวัดปริมาณ TNF- α ด้วย ELISA ต่อไป โดยใช้วิธีตามคู่มือของบริษัท (R&D Systems, USA)

วิธีวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α

ใช้ TNF- α เป็นสารละลายมาตรฐาน (standard diluted) โดยการเจือจางด้วย PBS (reagent diluent) ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 15.625, 31.5, 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 pg/ml หลังจากนั้นใส่สารละลายมาตรฐาน หรือสารตัวอย่างลงไปในห้อง ปริมาณหลอดละ 100 μ l ทิ้งไว้ในตู้บ่มข้ามคืน แล้วนำออกมาล้างด้วย PBST อีก 3 รอบ แล้วเติม streptavidin-horseradish peroxidase หลอดละ 100 μ l ทิ้งไว้ 20 นาที ล้างออกด้วย PBST 3 รอบ เติม TMB (tetramethyl benzidine) ปริมาณหลอดละ 100 μ l เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการ เปลี่ยนสี ทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย H₂SO₄ หลอดละ 50 μ l แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง BioTek® Synergy™ HT (Multi-Detection Microplate Reader, USA) ที่ความยาวคลื่น 450 nm นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟค่ามาตรฐาน (standard curve) และคำนวณหา ปริมาณสารตัวอย่างต่อไป โดยกระบวนการทั้งหมดทำภายใต้อุณหภูมิห้อง

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-}\alpha = 100 \times (1 - (\text{สารละลายตัวอย่าง} \div \text{ตัวควบคุมลบ}))$$

เมื่อสารละลายตัวอย่าง คือ ปริมาณ TNF- α จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำยา - บ้วนปากแต่ละสูตร (pg/ml) และตัวควบคุมลบ คือ ปริมาณ TNF- α จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุมลบ (pg/ml) โดยในการศึกษานี้กำหนดให้กลุ่มควบคุมลบในสูตร คือ RPMI 1640

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ดังนี้

1. หาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. หาค่าความแตกต่างทางสถิติระหว่างวันที่ 0 และ วันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test โดยตั้งค่าระดับนัยสำคัญ (significant level) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

บทที่ 4 ผลการศึกษา

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเสถียรของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมกับพรอพอลิส และส่วนผสมกับสารสกัดกัญชาร่วมกับพรอพอลิส ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีโดย การวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง, ค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และการยับยั้งการหลั่ง TNF- α โดยศึกษาในหลอดทดลอง ทดสอบกับ human monocytic cell line ชนิด THP-1 แล้ววัดผลด้วยวิธี ELISA ได้ผลดังนี้

ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสี

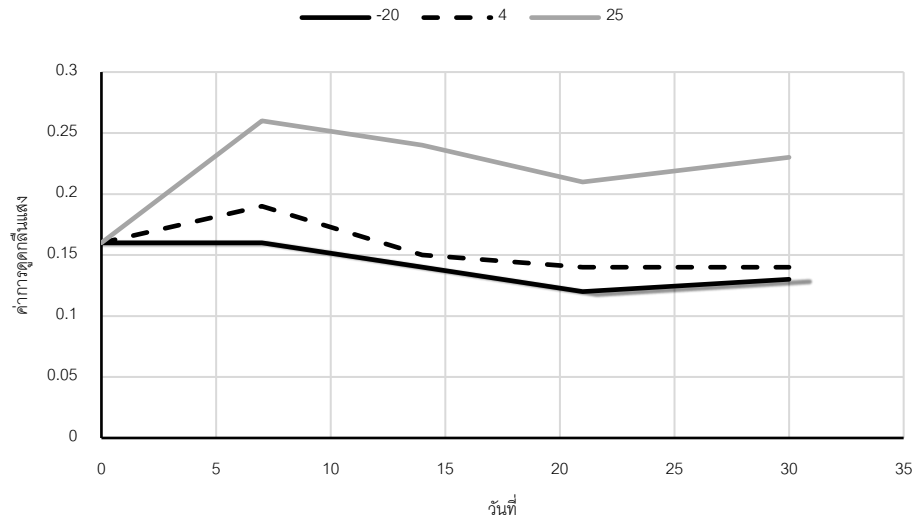
จากการทดสอบวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าวัดได้ในกลุ่มการทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30 ดังในตารางที่ 3 และภาพประกอบที่ 8-13

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

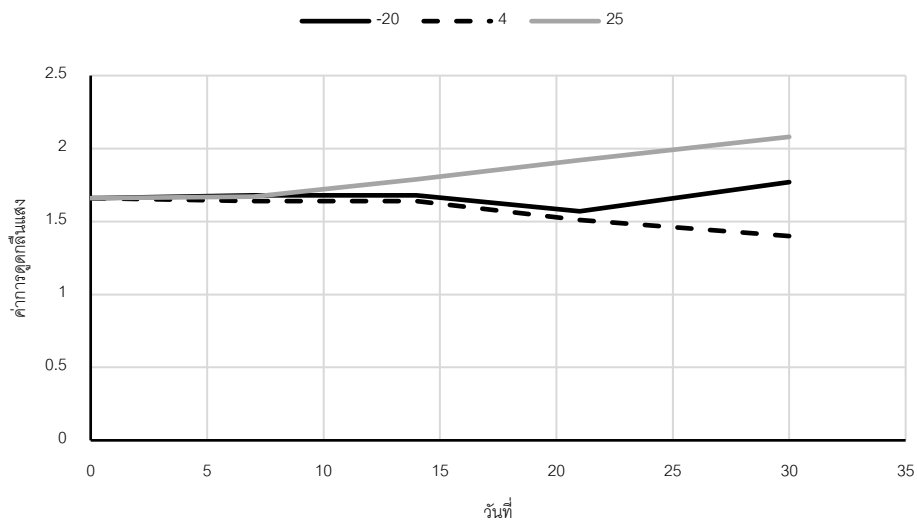
สาร/ อุณหภูมิ	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 30	
1. 10% probiotic + 5% propolis	-20°C	0.16 ±	0.16 ±	0.14 ±	0.12 ±	0.13 ±
		0.00	0.0	0.00	0.00	0.00
	4°C	0.16 ±	0.19 ±	0.15 ±	0.14 ±	0.14 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	25°C	0.16 ±	0.26 ±	0.24 ±	0.21 ±	0.23 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	-20°C	1.66 ±	1.68 ±	1.68 ±	1.57 ±	1.77 ±
		0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
	4°C	1.66 ±	1.64 ±	1.64 ±	1.51 ±	1.4 ±
		0.04	0.00	0.01	0.01	0.02

ตาราง 3 (ต่อ)

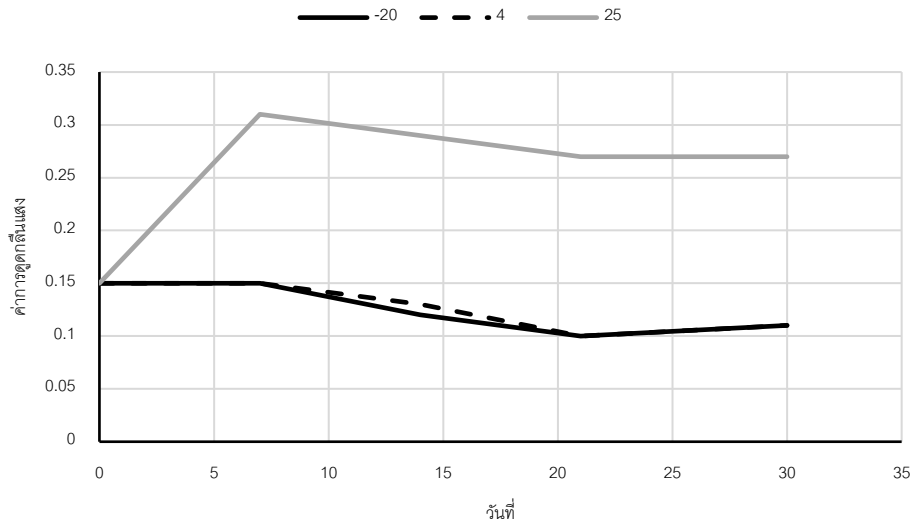
3. 10% probiotic	25°C	1.66 ±	1.67 ±	1.79 ±	1.92 ±	2.08 ±
		0.04	0.01	0.00	0.02	0.00
	-20°C	0.15 ±	0.15 ±	0.12 ±	0.11 ±	0.11 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4°C	0.15 ±	0.15 ±	0.13 ±	0.11 ±	0.11 ±	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
4. 5% propolis	25°C	0.15 ±	0.31 ±	0.28 ±	0.27 ±	0.27 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	-20°C	0.02 ±	0.02 ±	0.03 ±	0.04 ±	0.01 ±
		0.00	0.00	0.00	0.05	0.00
4°C	0.02 ±	0.02 ±	0.02 ±	0.01 ±	0.01 ±	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
5. 1% CBD	25°C	0.02 ±	0.02 ±	0.02 ±	0.01 ±	0.01 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	-20°C	0.28 ±	0.21 ±	0.35 ±	0.34 ±	0.32 ±
		0.00	0.11	0.05	0.04	0.03
4°C	0.28 ±	0.24 ±	0.27 ±	0.56 ±	1.06 ±	
	0.00	0.02	0.02	0.02	0.10	
6. NSS	25°C	0.28 ±	0.27 ±	0.18 ±	0.62 ±	0.51 ±
		0.00	0.00	0.03	0.08	0.06
	-20°C	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4°C	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
7. RPMI	-20°C	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±	0 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	4°C	0.16 ±	0.14 ±	0.15 ±	0.12 ±	0.14 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25 °C	0.16 ±	0.16 ±	0.14 ±	0.15 ±	0.15 ±	
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
7. RPMI	25 °C	0.16 ±	0.17 ±	0.14 ±	0.13 ±	0.11 ±
		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



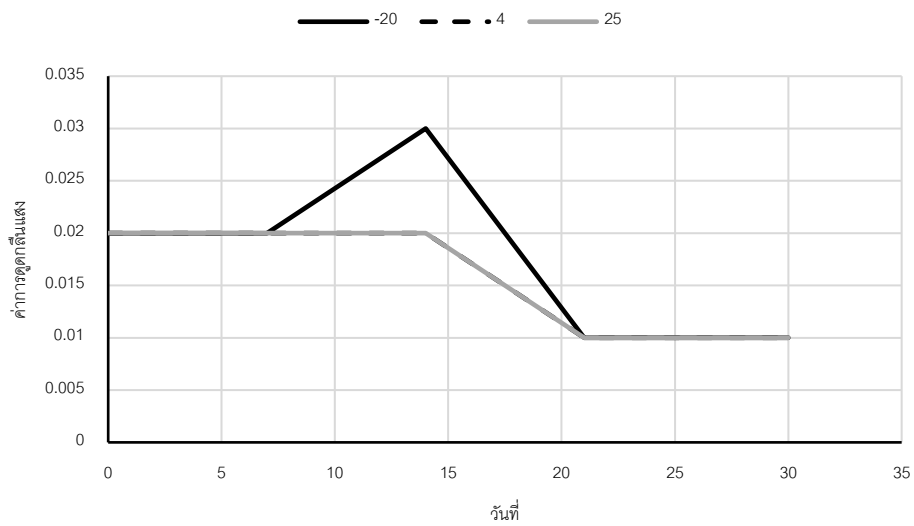
ภาพประกอบ 8 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



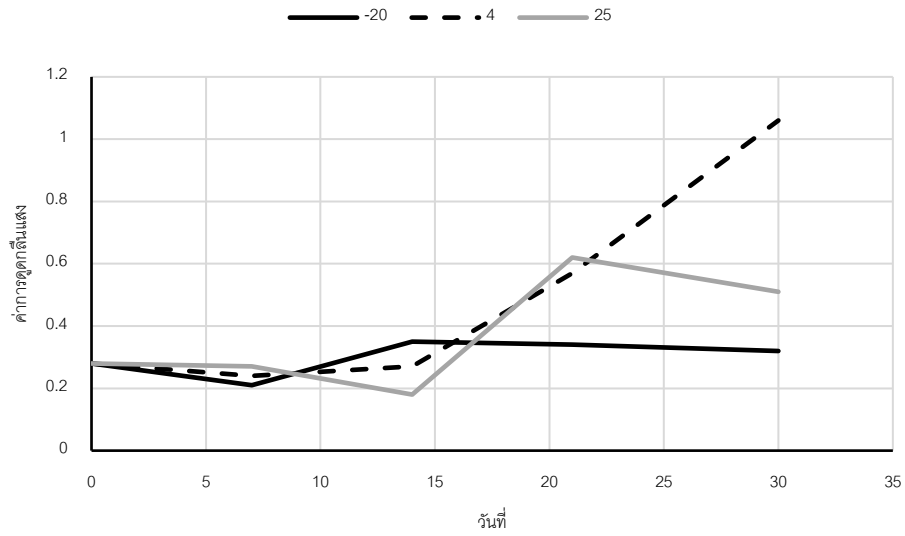
ภาพประกอบ 9 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



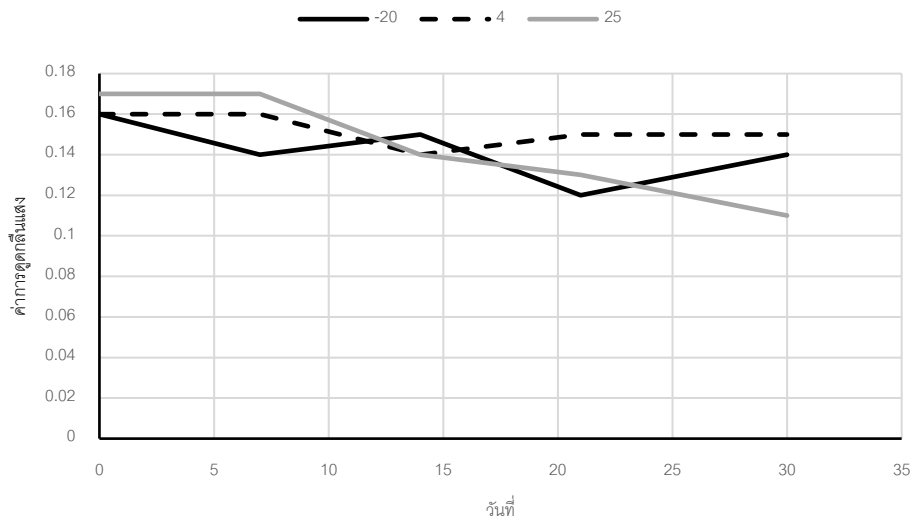
ภาพประกอบ 10 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลียงโพไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



ภาพประกอบ 11 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของพอร์พอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



ภาพประกอบ 12 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกัญชา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

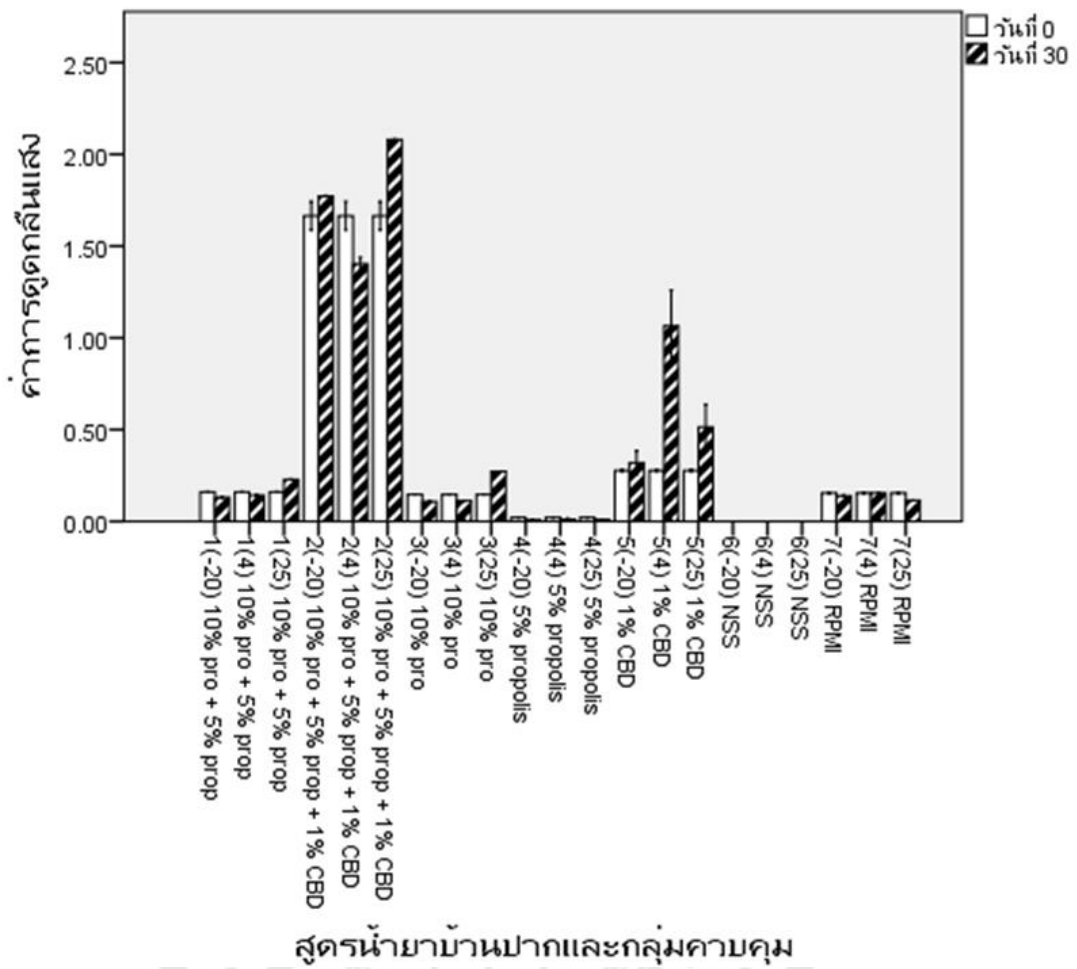


ภาพประกอบ 13 แผนภูมิแสดงค่าการดูดกลืนแสงของอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0 และ วันที่ 30 มาเปรียบเทียบกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตาราง 4 และ ภาพประกอบ 14)

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรนำยาบ้วนปากและกลุ่มควบคุม	-20°C	4°C	25°C
1. 10% probiotic + 5% propolis	0.109	0.109	0.102
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	0.109	0.109	0.109
3. 10% probiotic	0.109	0.102	0.102
4. 5% propolis	0.083	0.109	0.102
5. 1% CBD	0.109	0.109	0.109
6. NSS	1	1	1
7. RPMI	0.102	0.317	0.102



ภาพประกอบ 14 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะการเก็บรักษาในวันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และ กลุ่มควบคุมลบ ($p > 0.05$)

ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

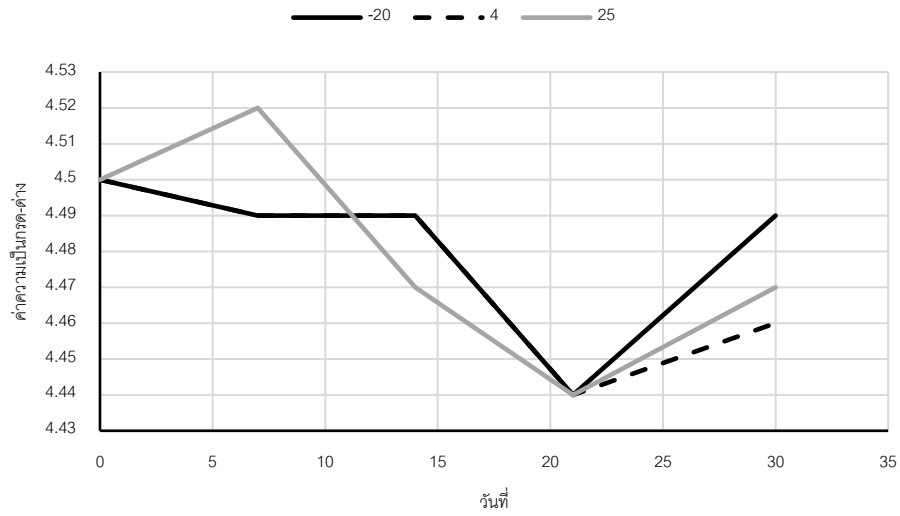
จากการทดสอบวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่ามีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าที่วัดได้ ในกลุ่มการทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30 ดังในตารางที่ 5 และภาพประกอบที่ 15-21

ตาราง 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเป็นกรด-ด่างในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

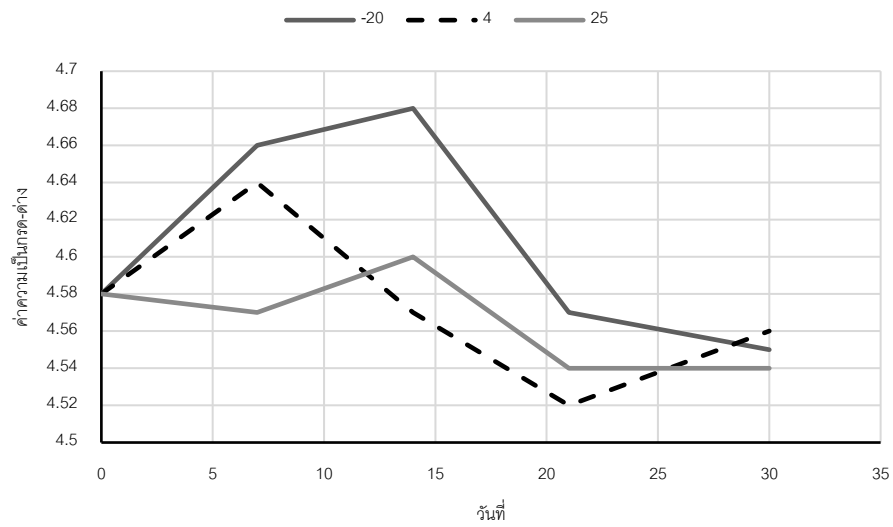
สาร/ อุณหภูมิ	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 30	
1. 10% probiotic + 5% propolis	-20°C	4.5 ±	4.49 ±	4.49 ±	4.44 ±	4.49 ±
		0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	4°C	4.5 ±	4.49 ±	4.49 ±	4.44 ±	4.46 ±
		0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
	25°C	4.5 ±	4.52 ±	4.47 ±	4.44 ±	4.47 ±
		0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	-20°C	4.58 ±	4.66 ±	4.68 ±	4.56 ±	4.55 ±
		0.02	0.01	0.01	0.02	0.01
	4°C	4.58 ±	4.64 ±	4.57 ±	4.52 ±	4.56 ±
		0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	25°C	4.58 ±	4.57 ±	4.6 ±	4.54 ±	4.54 ±
		0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
3. 10% probiotic	-20°C	3.84 ±	3.85 ±	3.86 ±	3.74 ±	3.83 ±
		0.02	0.01	0.00	0.01	0.01
	4°C	3.84 ±	3.84 ±	3.83 ±	3.69 ±	3.83 ±
		0.02	0.01	0.00	0.01	0.01
	25°C	3.84 ±	3.84 ±	3.86 ±	3.71 ±	3.82 ±
		0.02	0.01	0.01	0.00	0.02
4. 5% propolis	-20°C	5.9 ±	4.69 ±	5.32 ±	4.96 ±	4.84 ±
		0.09	0.01	0.01	0.01	0.01
	4°C	5.9 ±	5.4 ±	5.21 ±	4.92 ±	4.64 ±
		0.09	0.01	0.01	0.00	0.01
	25°C	5.9 ±	4.79 ±	5.21 ±	4.95 ±	4.77 ±
		0.09	0.04	0.02	0.01	0.02

ตาราง 5 (ต่อ)

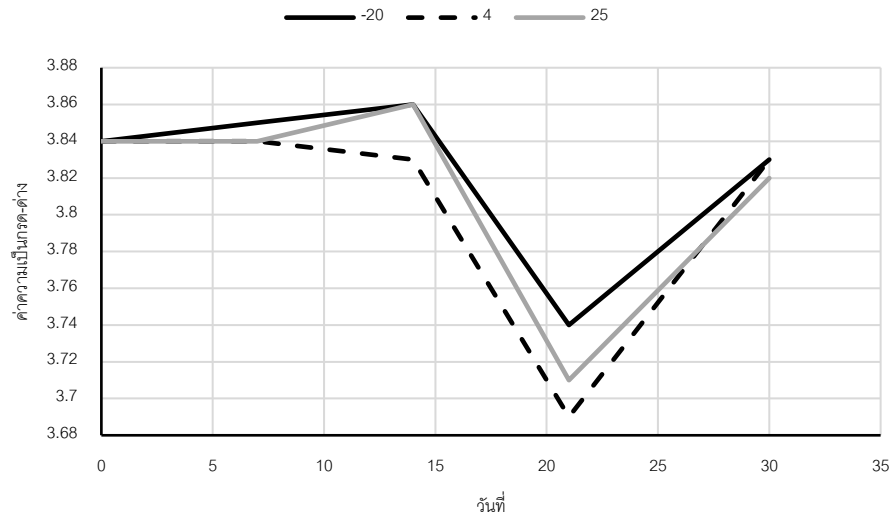
5. 1% CBD	-20°C	5.21 ±	4.86 ±	5.06 ±	5.02 ±	5.07 ±
		0.02	0.01	0.00	0.01	0.01
	4°C	5.21 ±	4.83 ±	4.84 ±	4.75 ±	4.61 ±
		0.02	0.03	0.06	0.01	0.01
	25°C	5.21 ±	5.15 ±	5.11 ±	5.13 ±	4.98 ±
		0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
6. NSS	-20°C	5.99 ±	5.89 ±	5.78 ±	5.76 ±	5.83 ±
		0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	4°C	5.99 ±	5.87 ±	5.55 ±	5.47 ±	5.46 ±
		0.02	0.01	0.02	0.01	0.02
	25°C	5.99 ±	5.85 ±	5.72 ±	5.77 ±	5.83 ±
		0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
7. RPMI	-20°C	8.34 ±	8.7 ±	8.71 ±	8.82 ±	8.85 ±
		0.02	0.00	0.01	0.00	0.01
	4°C	8.34 ±	8.42 ±	8.42 ±	8.58 ±	8.67 ±
		0.02	0.01	0.01	0.02	0.01
	25°C	8.34 ±	8.23 ±	8.15 ±	8.2 ±	8.52 ±
		0.02	0.01	0.01	0.00	0.01



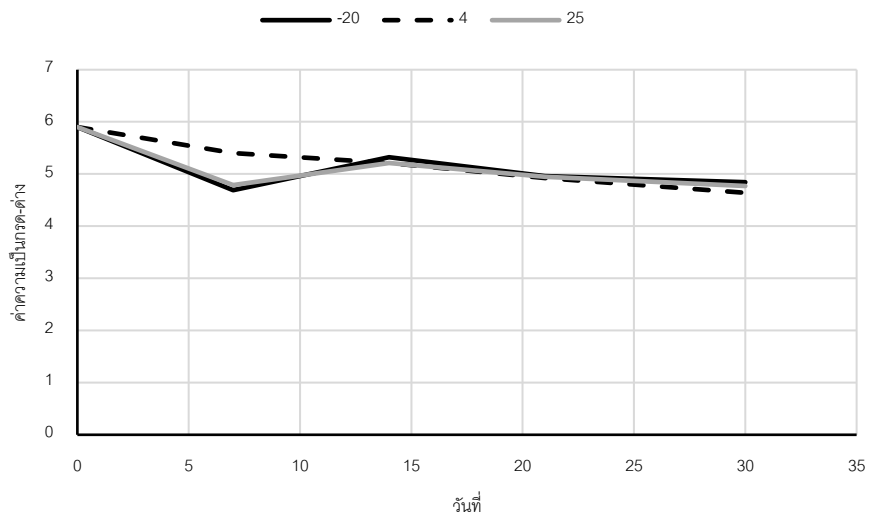
ภาพประกอบ 15 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



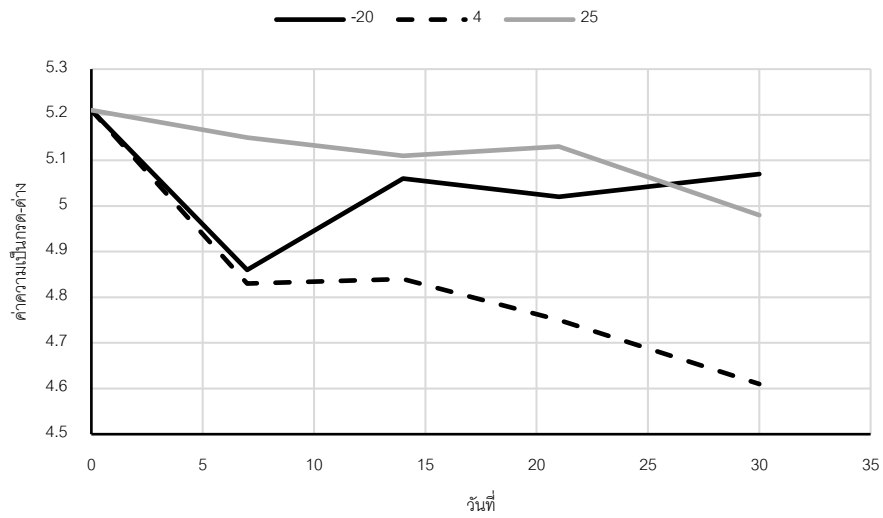
ภาพประกอบ 16 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



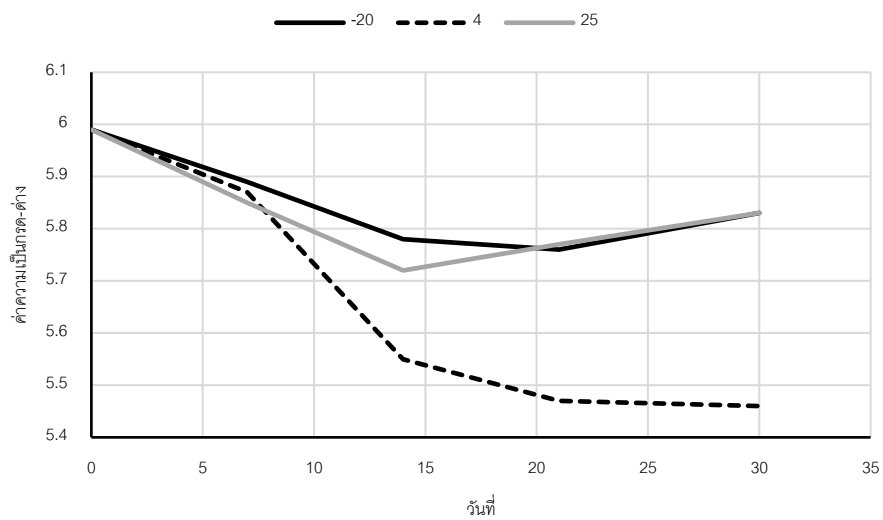
ภาพประกอบ 17 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลียงโพโรไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



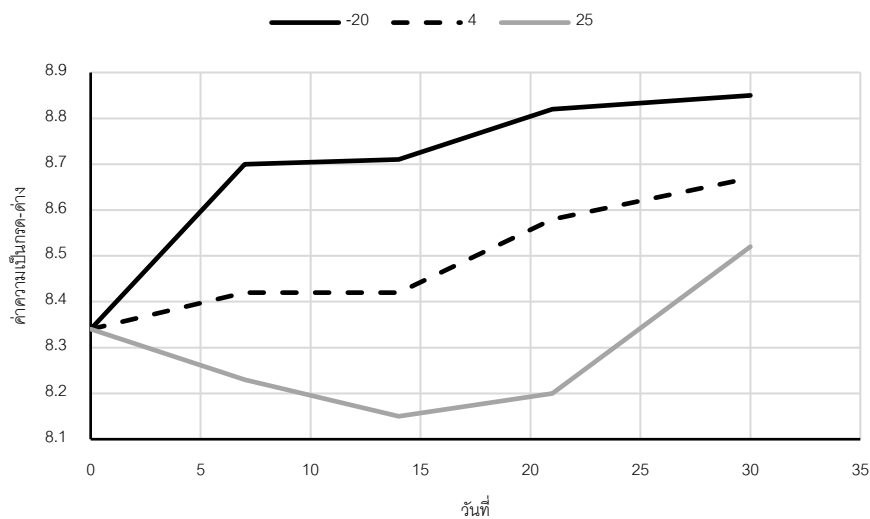
ภาพประกอบ 18 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของพรอปอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



ภาพประกอบ 19 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดกัญชา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30



ภาพประกอบ 20 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเกลือ 0.9% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

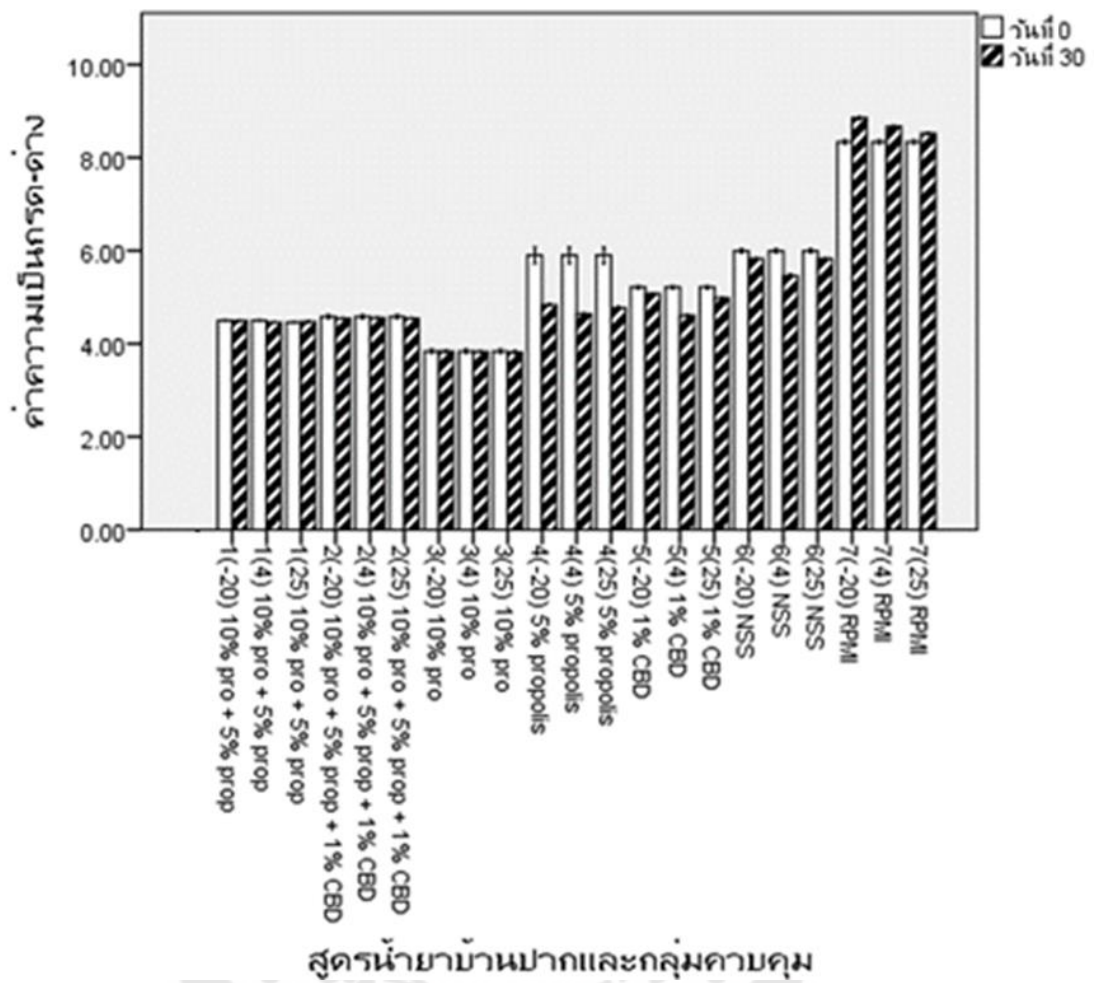


ภาพประกอบ 21 แผนภูมิแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวที่เก็บไว้ในอุณหภูมิตั้งที่ -20°C , 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30

เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0 และ วันที่ 30 มาเปรียบเทียบกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตาราง 6 และภาพประกอบ 22)

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างวันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรนำยาบ้วนปากและกลุ่มควบคุม	-20°C	4°C	25°C
1. 10% probiotic + 5% propolis	0.564	0.102	0.083
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	0.109	0.109	0.109
3. 10% probiotic	1	0.109	0.157
4. 5% propolis	0.109	0.109	0.109
5. 1% CBD	0.102	0.109	0.109
6. NSS	0.109	0.102	0.109
7. RPMI	0.109	0.109	0.109



ภาพประกอบ 22 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระยะการเก็บรักษาใน วันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และ กลุ่มควบคุมลบ ($p > 0.05$)

ผลการทดสอบการยับยั้งการหลั่ง TNF- α

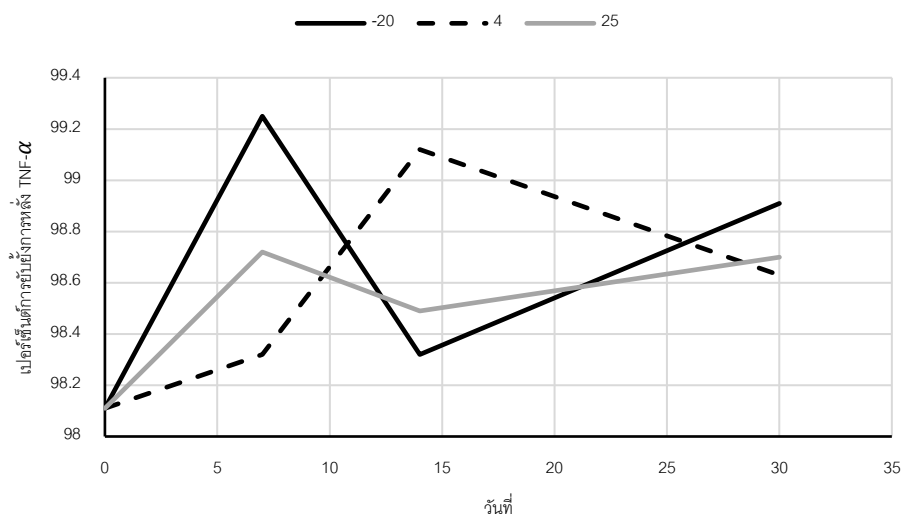
จากการทดสอบการยับยั้งการหลั่ง TNF- α โดยทดสอบกับ human monocytic cell line ชนิด THP-1 แล้ววัดผลด้วยวิธี ELISA มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของกลุ่มการทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30 ดังในตารางที่ 7 และภาพประกอบ 23-28

ตาราง 7 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ วันที่ 0, 7, 14 และ 30

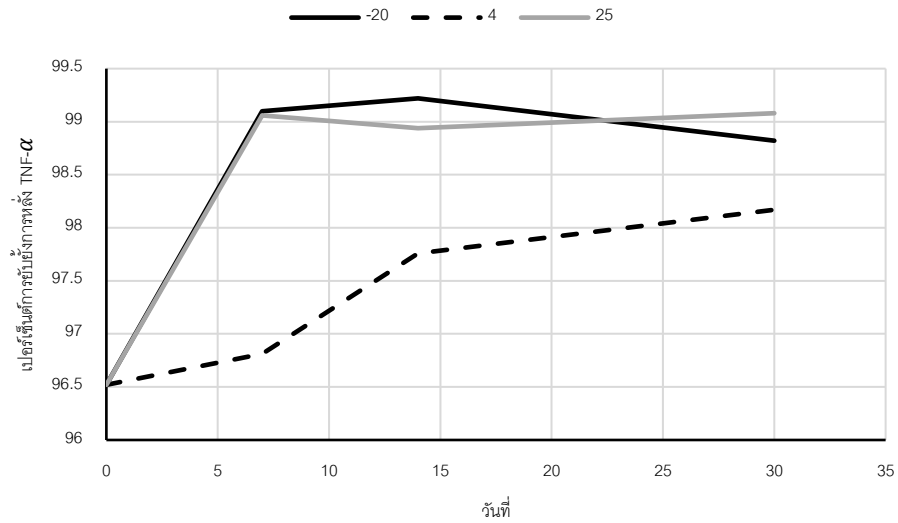
สาร/ อุณหภูมิ	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 30	
1. 10% probiotic + 5% propolis	-20°C	98.11 ±	99.25 ±	98.32 ±	98.91 ±
		1.59	0.41	1.22	0.75
	4°C	98.11 ±	98.32 ±	99.12 ±	98.63 ±
		1.59	1.26	0.39	0.73
	25°C	98.11 ±	98.72 ±	98.49 ±	98.7 ±
		1.59	0.67	1.03	0.22
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	-20°C	96.52 ±	99.1 ±	99.22 ±	98.82 ±
		3.89	0.56	0.56	0.9
	4°C	96.52 ±	96.81 ±	97.76 ±	98.17 ±
		3.89	3.75	2.62	1.38
	25°C	96.52 ±	99.06 ±	98.94 ±	99.08 ±
		3.89	0.47	0.81	1.33
3. 10% probiotic	-20°C	96.6 ±	95.87 ±	99.71 ±	98.65 ±
		3.89	1.79	0.12	1.1
	4°C	96.6 ±	95.47 ±	92.62 ±	96.24 ±
		3.89	2.38	3.88	2.34
	25°C	96.6 ±	82.16 ±	83.35 ±	85.04 ±
		3.89	0.00	2.93	2.93
4. 5% propolis	-20°C	96.88 ±	96.1 ±	98.7 ±	98.82 ±
		2.78	4.68	0.82	0.79
	4°C	96.88 ±	96.18 ±	99.19 ±	99.05 ±
		2.78	4.81	0.39	0.97

ตาราง 7 (ต่อ)

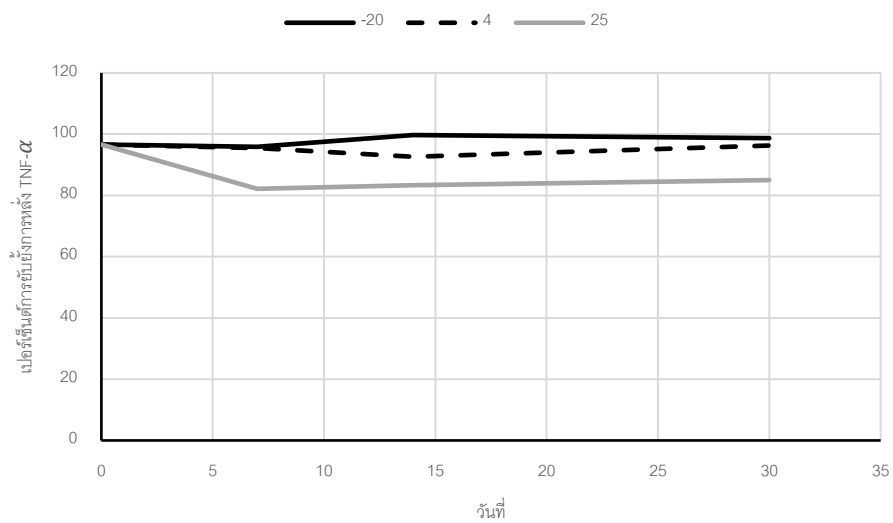
5. 1% CBD	25°C	96.88 ±	98.39 ±	98.94 ±	98.72 ±
		2.78	0.63	0.75	0.96
	-20°C	15.76 ±	48.69 ±	33.25 ±	53.31 ±
		0.00	2.09	11.93	5.1
	4°C	15.76 ±	26.75 ±	35.27 ±	43.84 ±
		0.00	13.87	8.75	6.25
6. NSS	25°C	15.76 ±	43.06 ±	29.39 ±	33.9 ±
		0.00	18.91	13.3	15.47
	-20°C	46.99 ±	31.91 ±	43.78 ±	52 ±
		9.68	0.00	5.67	0.00
	4°C	46.99 ±	43.96 ±	49.71 ±	38.52 ±
		9.68	0.36	0.00	0.00
25°C	46.99 ±	41.16 ±	42.29 ±	42.51 ±	
	9.68	0.00	2.14	1.04	



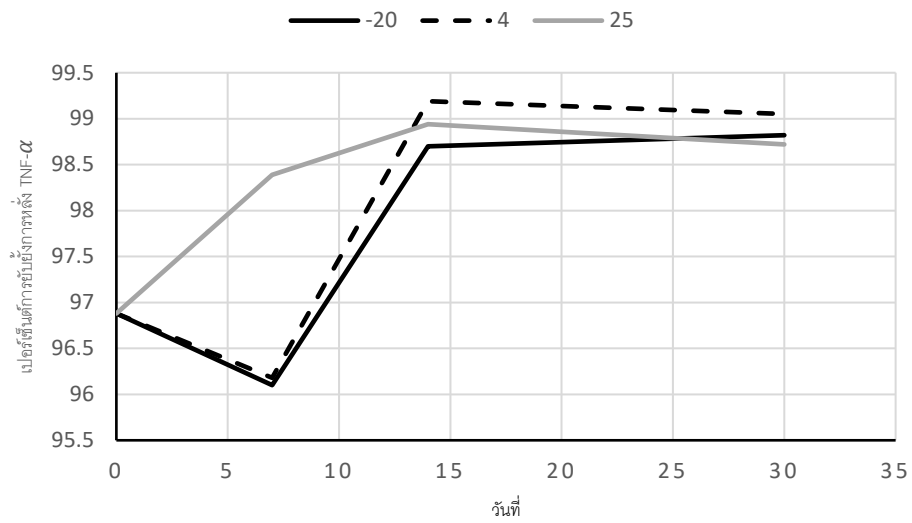
ภาพประกอบ 23 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30



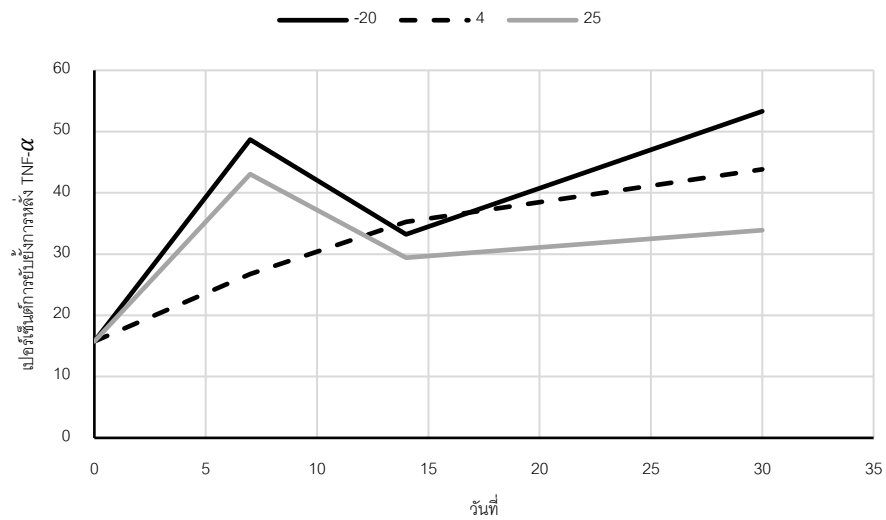
ภาพประกอบ 24 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบัวนปาก สูตรที่ 2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30



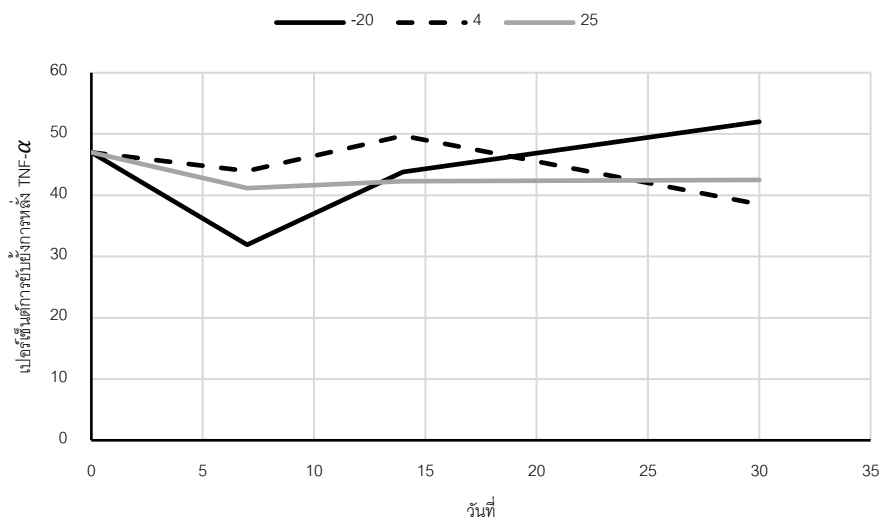
ภาพประกอบ 25 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำยาบัวนปาก ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30



ภาพประกอบ 26 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของพอลอลิส 5% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30



ภาพประกอบ 27 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของสารสกัด กัญชา 1% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30

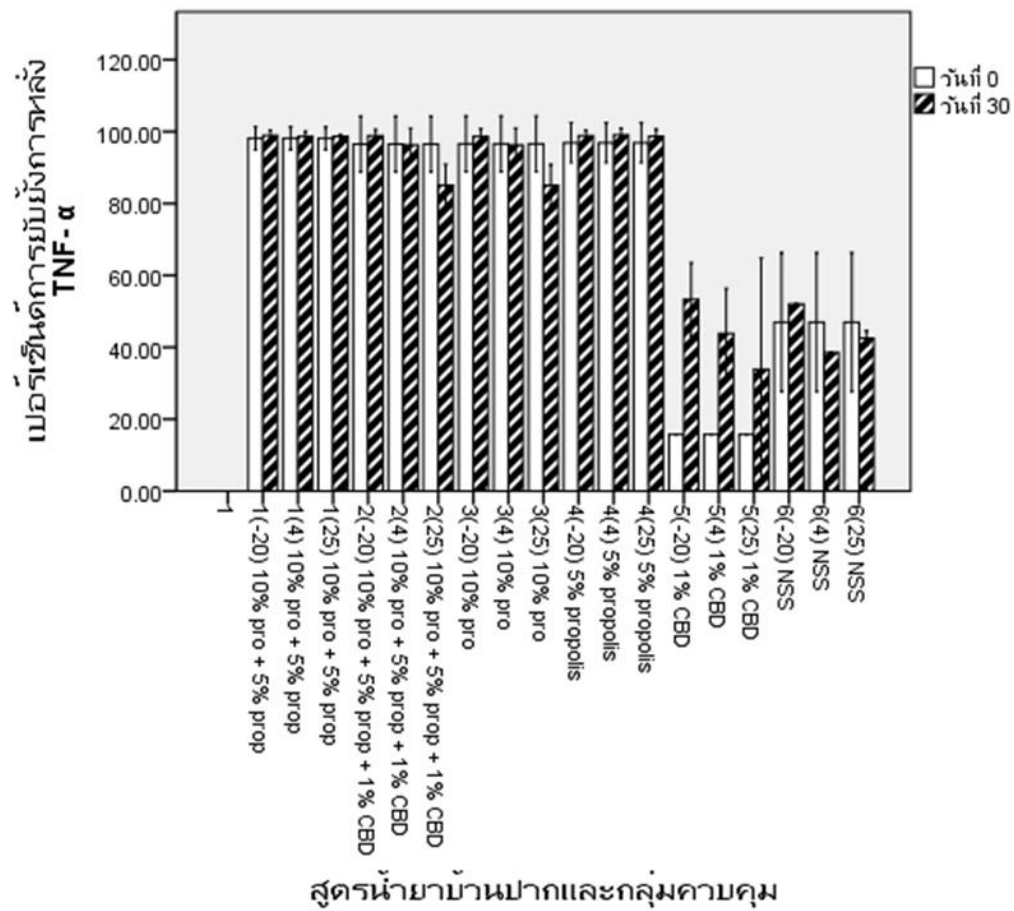


ภาพประกอบ 28 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ของน้ำเกลือ 0.9% ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20°C, 4°C และ 25°C ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30

เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ในวันที่ 0 และ วันที่ 30 มาเปรียบเทียบกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตาราง 8 และ ภาพประกอบ 10)

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (p-value) เปรียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในวันที่ 0 และวันที่ 30 ด้วย Wilcoxon Signed Ranks Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรนำยาบ้วนปากและกลุ่มควบคุม	-20°C	4°C	25°C
1. 10% probiotic + 5% propolis	0.109	1	0.655
2. 10% probiotic + 5% propolis + 1% CBD	0.109	1	0.109
3. 10% probiotic	0.285	1	0.109
4. 5% propolis	0.109	0.109	0.109
5. 1% CBD	0.109	0.109	0.109
6. NSS	0.285	0.109	0.593



ภาพประกอบ 29 แผนภูมิเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ที่ระยะการเก็บรักษาในวันที่ 0 และวันที่ 30 ของกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ($p > 0.05$)

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

จากการศึกษานี้ เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของสี, วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30 และวัดการยับยั้งการหลั่ง TNF- α โดยทดสอบกับ human monocytic cell line ชนิด THP-1 วัดผลด้วยวิธี ELISA แล้วคำนวณค่าเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ในวันที่ 0, 7, 14 และ 30 พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าที่วัดได้ในวันที่ 0 และวันที่ 30 ในน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% (สูตรที่ 1), น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก 10% กับพรอพอลิส 5% ร่วมกับสารสกัดกัญชา 1% (สูตรที่ 2), กลุ่มควบคุมบวก (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5% และ สารสกัดกัญชา 1%) และกลุ่มควบคุมลบ (น้ำเกลือ 0.9% และอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว) ที่เก็บที่อุณหภูมิ -20°C , 4°C และ 25°C ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

มีการศึกษาพบว่าโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 ที่คัดแยกจากเด็กทารกแรกเกิดในประเทศไทย มีความสามารถในการยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF- α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1⁽²¹⁾ รวมถึงสามารถการอักเสบในสัตว์ทดลอง ลดการอักเสบในตับ และลดการเกิดพังผืดในตับได้⁽²²⁾ นอกจากนี้สูตรมาและคณะ⁽⁸⁾ ยังได้ทำการศึกษาพบว่า การล้างแผลผิวหนังด้วยน้ำเกลือผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกชนิดเดียวกันนี้สามารถลดระดับ TNF- α ในน้ำเหลืองที่ออกอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากนั้นณัฐพลและคณะ Nisapa, Taweechoitipat⁽¹¹⁾ ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก และทดลองเติม สารสกัดกัญชาลงในสูตรน้ำยาบ้วนปาก พบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ให้ผลการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ดีที่สุด ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และสารสกัดกัญชา 1% ซึ่งสามารถยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ถึง 83.79% ต่อมาณัฐพลและคณะ⁽¹⁴⁾ ได้พัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากเพิ่มเติม โดยการเติมสารสกัดพรอพอลิสลงในสูตรน้ำยาบ้วนปาก พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% ให้ผลการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ดีที่สุด ได้แก่ 92.96% และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% และสารสกัดกัญชา

1% ให้ผลการยับยั้งการหลั่ง TNF- α รองลงมา ได้แก่ 92.35% ซึ่งมีแนวโน้มที่สอดคล้องและใกล้เคียงกับผลการศึกษานี้ คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ร่วมกับพรอพอลิส 5% และสารสกัดกัญชา 1% โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF- α ภายหลังจากผสมเสร็จ 98.11% และ 96.52% ตามลำดับ

Koohestani, Moradi ⁽³⁴⁾ ได้ศึกษาความเสถียรของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* LA5 และ *Lactobacillus casei* 431 ซึ่งล้วนเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างกรดแลคติกเช่นเดียวกับ *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 พบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาที่ 4°C และ 25°C น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกนี้ยังคงความเสถียร เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้ ซึ่งพบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% (กลุ่มควบคุมบวก) มีความเสถียรเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน

Prasertrungpanich ⁽³⁵⁾ ได้มีการศึกษาน้ำยาบ้วนปากที่ใส่พรอพอลิส มีค่าความเป็นกรด-ด่างภายหลังจากผสมเสร็จอยู่ในช่วง 5.87 - 6.15 และยังคงความเสถียรเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 6 เดือน นอกจากนี้ Khacha-ananda, Saenphet ⁽³⁶⁾ ได้ทดลองเก็บรักษาพรอพอลิสที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง ได้ศึกษาพบว่าพรอพอลิสยังคงความเสถียร เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 1 ปี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้ โดยจากการศึกษานี้พบว่าพรอพอลิส 5% (กลุ่มควบคุมบวก) มีค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.9 ± 0.09 ในตอนที่ผสมเสร็จ และค่อยๆ มีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในทั้ง 3 อุณหภูมิที่เก็บเมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน

Fraguas-Sánchez ⁽³⁷⁾ ได้ศึกษาความเสถียรของสารสกัดกัญชา (กลุ่มควบคุมบวก) พบว่ายังคงความเสถียรที่อุณหภูมิห้องเมื่อเวลาผ่านไป 117.13 วัน และยังคงความเสถียรที่อุณหภูมิ 5°C เมื่อเวลาผ่านไป 12 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้เช่นกัน โดยพบว่าสารสกัดกัญชา 1% มีความเสถียรที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 30 วัน

จากการศึกษาที่ได้กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก พรอพอลิส และสารสกัดกัญชา ซึ่งล้วนเป็นส่วนประกอบในน้ำยาบ้วนปากทั้ง 2 สูตร ยังคงความเสถียรที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง (25°C) เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน ซึ่งเป็นเหตุเป็นผลและสอดคล้องกับผลการศึกษานี้ ซึ่งพบว่าเมื่อนำสารทั้ง 3 ชนิดมาผสมกันเป็นน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร สารยังคงความเสถียรในเชิงกายภาพ ได้แก่ ค่าการดูดกลืนแสง และค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมทั้งยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1

โดยให้ผลการเปรียบเทียบค่าที่วัดได้ในวันที่ 0 และ 30 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลียงโพโรไบโอติก พรอพอลิส และ สารสกัดกัญชา ทั้ง 2 สูตร มีความเสถียรในแง่การเปลี่ยนแปลงของสี และความเป็นกรด-ด่าง รวมถึงยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน

ข้อเสนอแนะ

ทางผู้วิจัยเห็นว่าควรมีการศึกษาต่อยอด โดยทดลองเพิ่มเติมในผู้ป่วยจริง รวมถึง สอบถามความพึงพอใจภายหลังการใช้งาน เพื่อพัฒนาในการใช้ทางคลินิกต่อไป



บรรณานุกรม

1. Williams NT. Probiotics. Am J Health Syst Pharm. 2010;67(6):449-58.
2. Wattanarat O. The use of probiotics for caries prevention. Chiang Mai Dental Journal. 2017;38(2):39-51.
3. Sun KY, Xu DH, Xie C, Plummer S, Tang J, Yang XF, et al. *Lactobacillus paracasei* modulates lps-induced inflammatory cytokine release by monocyte-macrophages via the up-regulation of negative regulators of nf-kappab signaling in a tlr2-dependent manner. Cytokine. 2017;92:1-11. 20170112.
4. Velnar T. The wound healing process: An overview of cellular and molecular mechanisms. J Int Med Res. 2009;37:1528-42.
5. Chen X, Thibeault SL. Role of tumor necrosis factor-alpha in wound repair in human vocal fold fibroblasts. Laryngoscope. 2010;120(9):1819-25.
6. Mast BA. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. Wound repair and regeneration. 1996;4:411-20.
7. Bustamante M, Oomah BD, Mosi-Roa Y, Rubilar M, Burgos-Diaz C. Probiotics as an adjunct therapy for the treatment of halitosis, dental caries and periodontitis. Probiotics and antimicrobial proteins. 2020;12(2):325-34.
8. Banjonjit S, Taweechotipatr M, Rungsiyanont S. Effect of probiotic *Lactobacillus paracasei* on tumor necrosis factor-alpha level in gingival crevicular fluid of patients undergoing impacted third molar removal. J Oral Sci. 2022;64(3):185-9. 20220408.
9. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W, Nedamat K. The current and potential application of medicinal cannabis products in dentistry. Dent J (Basel). 2021;9(9). 20210910.
10. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants (Basel). 2019;9(1). 20191225.
11. . The effect of probiotic mouthwash with cannabis extracts on the reduction of inflammatory cytokine: Tumor necrosis factor alpha. The 13th Hatyai National and

- International Conference; 2022; Hatyai university.
12. Bhargava P, Mahanta D, Kaul A, Ishida Y, Terao K, Wadhwa R, et al. Experimental evidence for therapeutic potentials of propolis. *Nutrients*. 2021;13(8). 20210724.
 13. Zulhendri F, Felitti R, Fearnley J, Ravalía M. The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. *J Oral Biosci*. 2021;63(1):23-34. 20210116.
 14. . The effectiveness comparison of probiotic mouthwash formulation with cannabis extracts and propolis on the reduction of tumor necrosis factor-alpha. 25th National Graduate Conference; 2023; Sripatum university.
 15. Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab*. 2012;61(2):160-74. 20121002.
 16. Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian J Med Microbiol*. 2009;27(3):202-9.
 17. Hasslof P, Stecksén-Blicks C. Chapter 10: Probiotic bacteria and dental caries. *Monogr Oral Sci*. 2020;28:99-107. 20191107.
 18. Seminario-Amez M, Lopez-Lopez J, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Jane-Salas E. Probiotics and oral health: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(3):e282-e8. 20170501.
 19. Matsubara VH, Bandara HM, Mayer MP, Samaranayake LP. Probiotics as antifungals in mucosal candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2016;62(9):1143-53. 20160129.
 20. Bohora A, Kokate S. Evaluation of the role of probiotics in endodontic treatment: A preliminary study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017;7(1):46-51. 20170221.
 21. Ladda B, Theparee T, Chimchang J, Tanasupawat S, Taweechotipatr M. In vitro modulation of tumor necrosis factor α production in thp-1 cells by lactic acid bacteria isolated from healthy human infants. *Anaerobe*. 2015;33:109-16. eng. 20150307.
 22. Ladda B, Jantararussamee C, Pradidarcheep W, Kasorn A, Matsathit U, Taweechotipatr M. Anti-inflammatory and gut microbiota modulating effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* msmc39-1 on dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Nutrients*. 2023;15(6). eng. 20230313.
 23. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit*

- Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103. eng.
24. McPartland JM. Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species. Cannabis Cannabinoid Res. 2018;3(1):203-12. 20181001.
25. Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The cannabis terpenes. Molecules. 2020;25(24). 20201208.
26. Schofs L, Sparo MD, Sanchez Bruni SF. The antimicrobial effect behind cannabis sativa. Pharmacol Res Perspect. 2021;9(2):e00761.
27. Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zhang B, Ramu S, Amado M, et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. Commun Biol. 2021;4(1):7. 20210119.
28. Hill KP, Palastro MD. Medical cannabis for the treatment of chronic pain and other disorders: Misconceptions and facts. Pol Arch Intern Med. 2017;127(11):785-9. eng. 20171025.
29. Lafaye G, Karila L, Blecha L, Benyamina A. Cannabis, cannabinoids, and health. Dialogues Clin Neurosci. 2017;19(3):309-16. eng.
30. Przybyłek I, Karpinski TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules. 2019;24(11). 20190529.
31. Stojko M, Wolny D, Włodarczyk J. Nonwoven releasing propolis as a potential new wound healing method-a review. Molecules. 2021;26(18). 20210921.
32. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. Biomed Pharmacother. 2018;98:469-83. 20171227.
33. Braakhuis A. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. Nutrients. 2019;11(11). 20191108.
34. Koohestani M, Moradi M, Tajik H, Badali A. Effects of cell-free supernatant of *Lactobacillus acidophilus* la5 and *Lactobacillus casei* 431 against planktonic form and biofilm of *staphylococcus aureus*. Vet Res Forum. 2018;9(4):301-6. eng. 20181215.
35. Prasertrungpanich P. Preparation and stability study of mouth care product from stingless bee propolis extract. Isan journal of pharmaceutical sciences. 2017;13.

36. Khacha-ananda S, Saenphet K, Saenphet S, Tragoolpua K, Chantawannakul P, Tragoolpua Y. Evaluation of the stability of propolis granule and toxicity study in wistar rats. Chiang Mai Journal of Science. 2018;45:162-76.
37. Fraguas-Sánchez AI. Stability characteristics of cannabidiol for the design of pharmacological, biochemical and pharmaceutical studies. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2020;1150:122188. eng. 20200522.





ภาคผนวก



AF19-03-03.1
August, 2023

หนังสือรับรองการยกเว้น
หนังสือฉบับนี้ไว้เพื่อแสดงว่า

ชื่อโครงการวิจัย : ความเสถียรของสูตรน้ำยาล้างปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและพริกพอลิส ในการลดสาร
สื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแอนด์คอร์ติซอล

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร. พันตแพทย์สรลัดด์ รังสิยานนท์

หน่วยงานต้นสังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

หมายเลขรับรอง : SWUJEC-661019

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้พิจารณาแล้ว
ว่าเป็นโครงการที่เข้าข่ายการพิจารณาแบบยกเว้น ตามประกาศมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ หากผู้วิจัยมีความประสงค์จะปรับปรุง
แก้ไขโครงการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระเบียบวิธีวิจัยและกลุ่มประชากรเป้าหมายจะต้องยื่นเสนอโครงการวิจัยใหม่ เพื่อขอรับการ
พิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ก่อน และหากดำเนินการเสร็จสิ้นแล้วขอให้ยื่นแจ้งปิดโครงการวิจัยพร้อม
รายงานฉบับสมบูรณ์ หรือสำเนาบทความตีพิมพ์ทางวิชาการต่อคณะกรรมการฯ ทั้งนี้ โดยหน่วยจริยธรรมและมาตรฐานการวิจัย
จะเก็บเอกสารโครงการวิจัยของท่านเป็นเวลา 3 ปี นับจากวันที่ออกหนังสือรับรอง

วันที่รับรอง : 3 ตุลาคม 2566

วันที่หมดอายุ : 2 ตุลาคม 2569

(ลงชื่อ) 

(แพทย์หญิงสุวิพร ภัทรสุวรรณ)

ประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ (ชุดที่ 1)
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



AF19-03-03.1
August, 2023

หนังสือรับรองการยกเว้น
หนังสือฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ชื่อโครงการวิจัย : ความเสถียรของสูตรน้ำยาล้างปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชาและพอลิฟอส ในการลดสาร
สื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแอนด์เคอร์ยัลฟา

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร. พันตแพทย์สรสิทธิ์ ingsিয়านนท์

หน่วยงานต้นสังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

หมายเลขรับรอง : SWUJEC-661019

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้พิจารณาแล้ว
ว่าเป็นโครงการที่เข้าข่ายการพิจารณาแบบยกเว้น ตามประกาศมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ หากผู้วิจัยมีความประสงค์จะปรับปรุง
แก้ไขโครงการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระเบียบวิธีวิจัยและกลุ่มประชากรเป้าหมายจะต้องยื่นเสนอโครงการวิจัยใหม่ เพื่อขอรับการ
พิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ก่อน และหากดำเนินการเสร็จสิ้นแล้วขอให้ยื่นแจ้งปิดโครงการวิจัยพร้อม
รายงานฉบับสมบูรณ์ หรือสำเนาบทความตีพิมพ์ทางวิชาการต่อคณะกรรมการฯ ทั้งนี้ โดยหน่วยจริยธรรมและมาตรฐานการวิจัย
จะเก็บเอกสารโครงการวิจัยของท่านเป็นเวลา 3 ปี นับจากวันที่ออกหนังสือรับรอง

วันที่รับรอง : 3 ตุลาคม 2566

วันที่หมดอายุ : 2 ตุลาคม 2569

(ลงชื่อ).....

(แพทย์หญิงสุวิพร ภัทรสุวรรณ)

ประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ (ชุดที่ 1)

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

หน่วยจริยธรรมและมาตรฐานการวิจัย

อาคารนวัตกรรม ส.ศร.ลาโรจ บัณฑิต ชั้น 17

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทร. 02-649-5000 ต่อ 17503, 17506 โทรสาร 02-204-2590



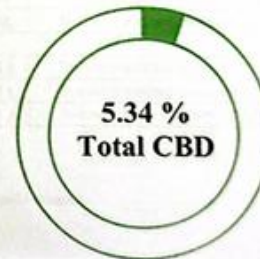
LABORATORY TEST REPORT

Name of Sample	5 %w/w CBD Oil	Sample Code	SP24006	
Type of Sample / Species	Finished Product	Batch No.	FG-CF124010901	
Manufacturing Date	09/01/2024	Material Batch No.	RIS23090401	
Expiry Date	08/01/2025	Date of Receipt	09/01/2024	
Customer Name and Address	TNR Bioscience Company Limited 789/155 Moo 1, Pinthong Industrial Estate, Nongkham, Siracha, Chonburi 20230	Date of Sampling	09/01/2024	
Detail Description and Condition	Transparent, slightly viscous, light yellow liquid packed in aluminium bottle with white plastic screw cap, store in a dry place below 30°C	Area of Sampling	PD-04	
		Sampling by	Weerachai C.	
		Date of Testing	11/01/2024	
		Date of Analysis	12/01/2024	
		Date of Issue	12/01/2024	

TESTING PARAMETER	SPECIFICATION	TEST RESULT	METHOD
PHYSICAL PROPERTIES			
Appearance	Transparent, slightly viscous, oily liquid	Conform	Visual
Color	Light yellow	Conform	Visual
Odor	Odorless	Conform	Olfactory
Foreign matter	Not detected	Conform	Visual
Specific gravity at 25°C	0.93 - 0.96	0.95	In-house method based on TIS 3173-2564 (2021)
Viscosity at 25°C, #62,100 rpm	30 - 33 cPs	32 cPs	In-house method based on TIS 3173-2564 (2021)
CANNABINOID CONTENT			
Total CBD	4.50 - 5.50 %w/w	5.34 %w/w	In-house method by HPLC Technique
Total THC	NMT 0.20 %w/w	ND	In-house method by HPLC Technique

CANNABINOID	LOQ (mg/g)	LOD (mg/g)	RESULT (mg/g)	RESULT (%w/w)
CBD	0.00008	0.00002	53.43	5.34
CBDA	0.00003	0.00001	ND	ND
D9-THC	0.00003	0.00001	ND	ND
THCA	0.00009	0.00003	ND	ND

CANNABINOID CONTENT



Remarks:

- All laboratory activities were performed by TNR Bioscience Co., Ltd., QC Laboratory inside factory facility.
- This report shall not be reproduced except in full, without the written approval of TNR Bioscience Co., Ltd., QC Laboratory.
- The test results in this report refer only to the samples tested by the Laboratory.
- If applicable, the statements of conformity (e.g., Pass/Fail) regarding the specification in this report do not include the uncertainty of measurements into account.
- References: not more than (NMT), not less than (NLT), not detected (ND), limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ).
- Total CBD and THC is calculated using following formulas:
 - Total CBD = %CBD + (%CBDA * 0.877)
 - Total THC = %D9-THC + (%THCA * 0.877)
- Calculations: 0.01 mg/g = 0.001 %w/w = 10 ppm

- End of Report -

FINAL APPROVAL

Ravin Ng
 PREPARED BY

Ramin Wongislam
 QC Analyst
 Date 12/01/2024

REVIEWED BY

Sunisa Sedkhao
 QA Pharmacist
 Date 12/01/2024



(FM-QC-FPS-01, Revision No. 01, Revision Date: 05/01/2024)

FINISHED PRODUCT SPECIFICATION

5%W/W CBD OIL

Description: Highly purified, hemp flower-derived cannabidiol (CBD) diluted in MCT oil. It contains NLT 4.5% and NMT 5.5% of CBD.

CHARACTERISTICS	SPECIFICATION	UNIT	METHOD
Physical properties			
1 Appearance	Transparent, slightly viscous, oily liquid	-	Visual
2 Color	Light yellow	-	Visual
3 Odor	Odorless	-	Olfactory
4 Foreign matter	Not detected	-	Visual
5 Specific gravity at 25°C	0.93 – 0.96	-	In-house method
6 Viscosity at 25°C, (#62, 100 rpm)	30 – 33	cPs	In-house method
Assay – Cannabinoid content			
7 - Total CBD	4.50 – 5.50	%w/w	In-house method by HPLC Technique
- Total THC	NMT 0.2	%w/w	In-house method by HPLC Technique
Microbiological analysis			
8 Microbial enumeration			
- Total Aerobic Microbial Count (TAMC)	NMT 10 ⁴	cfu/g	In-house method based on USP
- Total Yeast & Mold Count (TYMC)	NMT 10 ³	cfu/g	In-house method based on USP
9 Specified microorganism			
- <i>Escherichia coli</i>	Absent	per 1 g	In-house method based on USP
- <i>Salmonella spp.</i>	Absent	per 1 g	In-house method based on USP
- <i>Aspergillus spp.</i>	Absent	per 1 g	In-house method based on USP

Remark: - NLT: Not Less Than, NMT: Not More Than
 - CBD Extraction Method: Cryogenic Ethanol Extraction
 - CBD Extraction Ratio: 1 kilogram of dried hemp flowers to 10 Liters of cold ethanol

www.tnrbioscience.com
 789 / 155 Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
 Nong Kharm, Sriracha, Chonburi, Thailand.

+66-38-342-555
 info@tnrbioscience.com



TNR Bioscience
Extraction | Laboratory | Research

SAFETY DATA SHEET

5%w/w CBD Oil (5%w/w Cannabidiol Oil)

FM-QA-SDS-04
Revision No. 06
Revision Date: 03/07/2023

According to Regulation (EC) No. 1907/2006 as amended by (EC) No. 1272/2008

SECTION 1: IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/MIXTURE AND OF THE COMPANY/UNDERTAKING

1.1 Product identifiers

Product name: 5%w/w CBD Oil (5%w/w Cannabidiol Oil)
Quantity: 100g, 250g, 500g or 1,000g
Purity: Please refer to respective certificate of analysis of the product.
Estimate CBD content: 5.00±0.50%w/w
Brand: TNRBio
Country of origin: Thailand

1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Identified uses: Raw material, production of formulations and finished products, laboratory chemicals. Please consider the legality of the substance in the country of usage.

1.3 Details of supplier providing the safety data sheet

Company name: TNR Bioscience Co., Ltd.
Company's address: 789/155, Moo 3, Pinthong Industrial Estate 1,
Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand
Telephone: +66-38-342-555
Email address: info@tnrbioscience.com
Website address:

1.4 Emergency number

Emergency phone no.: +66-08-640-7549

SECTION 2: HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance or mixture

No dangerous substance or mixture according to Regulation (EC) No. 1272/2008.
This substance is not classified as dangerous according to Directive 67/548/EEC.

2.2 Label contents

The product is not approved according to EC directive or the respective national laws.
Required labelling: None



www.tnrbioscience.com



789 / 155, Moo 3, Pinthong industrial estate 1,
Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand



+66-38-342-555



info@tnrbioscience.com



SECTION 3: COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

3.1 Substances/ mixture of substances

Component	CAS-No.	Concentration (%)	GHS Classification
Cannabidiol (100.00±2.00%w/w)	13956-29-1	5.00%	Acute toxicity 4: H302 Reproductive 2: H361
MCT Oil (Caprylic / Capric glycerides)	73398-61-5	94.50%	N/A
Butylated hydroxytoluene	128-37-0	0.50%	Eye Irritation 2B: H320 Reproductive 2: H361 Specific target organ toxicity (Repeated): Lung, Liver 2: H373

SECTION 4: FIRST AID MEASURES

4.1 Description of first-aid measures

General advice:	Show this material safety data sheet to the doctor in attendance.
Inhalation:	Remove to fresh air. Get immediate medical attention if necessary.
Eye contact:	Hold eyelids apart and rinse out with plenty of water. Remove contact lenses. Get eye examined and tested by ophthalmologist.
Skin contact:	Immediately take off contaminated clothing, rinse skin with plenty of water/ shower, possibly with soap. Get medical attention if any symptoms occur.
Ingestion:	Wash mouth and drink plenty of water. Never give anything by mouth to an unconscious person. Get medical attention. Do not induce vomiting unless directed to do so by medical personnel.

SECTION 5: FIRE FIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

Suitable extinguishing media: Alcohol-resistant foam, carbon dioxide (CO₂), water, or dry chemical spray
 Unsuitable extinguishing media: For this substance/mixture no limitations of extinguishing agents are given.

5.2 Flammable properties and special hazards arising from the substance or mixture.

Carbon dioxide (CO₂), combustible, development of hazardous gases or vapors possible in the event of fire.

5.3 Firefighting instruction

In case of fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand (NIOSH approved or equivalent), and full protective gear to prevent contact with eyes and skin.

5.4 Further information

Prevent fire extinguishing water from contaminating surface water or the ground water system.

 www.tnrbioscience.com
 789 / 155, Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
 Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand.

 +66-38-342-555
 info@tnrbioscience.com



TNR Bioscience
Extraction | Laboratory | Research

SECTION 6: ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency and emergency procedures

Use personal protective equipment. Avoiding breathing vapors, mist or gas. Ensure adequate ventilation. Remove all sources of ignition. Evacuate personnel to safe areas. Beware of vapors accumulating to form explosive concentration. Vapors can accumulate in low areas.

6.2 Environmental precautions

Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Do not let product enter drain.

6.3 Methods and materials for containment and cleaning up

Contain spillage. Cover drains and then collect with an electrically protected vacuum cleaner or by wet-brushing and place in container for disposal according to local regulations. Avoid generation of dusts.

SECTION 7: HANDLING AND STORAGE

7.1 Precaution for safe handling

Avoiding contact with skin and eyes. Avoid inhalation of vapor or mist. Keep away from source of ignition – No smoking. Take measure to prevent the buildup of electrostatic charge.

7.2 Condition for safe storage, including any incompatibilities

Store in cool place. Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place. Containers which are opened must be carefully resealed and kept upright to prevent leakage.

7.3 Recommended storage temperature: 25-30°C

SECTION 8: EXPOSURE CONTROLS/ PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT

8.1 Personal protection equipment

Eye/face protection

Safety glasses, face shield and use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).

Protective glove

Compatible chemical-resistant gloves, nitrile rubber glove.

Other protective clothing

Lab coat.

Respiratory protection

Required when dust is generated. Recommended filtering respiratory protection on the following NIOSH approved respirator, as conditions warrant.

Control of environmental exposure

Do not let product enter drains.



www.tnrbioscience.com



789 /155, Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand.



+66-38-342-555



info@tnrbioscience.com



TNR Bioscience
Extraction | Laboratory | Research

SECTION 9: PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Physical states:	Liquid
Appearance:	Light-yellowish, transparent, slightly viscous and oily liquid
Odor:	Odorless
pH:	No data available
Melting point:	< -5°C approximately
Boiling point:	230°C approximately at 760 mmHg
Flash point:	>230°C approximately
Evaporation rate:	No data available
Flammability:	No data available
Explosive limit:	LEL: No data available, UEL: No data available
Vapor pressure (vs. Air or mmHg):	3 mbar approximately at 20°C
Vapor density (vs. Air = 1):	No data available
Specific gravity (Water = 1):	0.93 – 0.96 at 25°C
Solubility in water:	Immiscible
Solubility in oil:	Miscible, soluble
Solubility in alcohol:	Miscible, soluble
Octanol/Water partition coefficient:	No data available
Autoignition Pt:	No data available
Decomposition temperature:	No data available
Viscosity:	30 – 33 cPs at 25°C
Oxidizing properties:	No data available
9.2 Other information	
Percent volatile:	No data available

SECTION 10: STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity	No data available
10.2 Chemical stability	The product is chemically stable under standard ambient condition (room temperature)
10.3 Possibility to hazardous reactions	No data available
10.4 Conditions to avoid	Light, no information available
10.5 Incompatible materials	Strong acids, strong bases, strong oxidizing agents
10.6 Hazardous decomposition products	Carbon dioxide, carbon monoxide

SECTION 11: TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Acute toxicity	
Ingestion:	No data available
Inhalation:	No data available
Dermal:	No data available



www.tnrbioscience.com



789 / 155, Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand.



+66-38-342-555



info@tnrbioscience.com



TNR Bioscience
Extraction | Laboratory | Research

Skin corrosion/ irritation:	No data available
Serious eye damage/ eye irritation:	No data available
Respiratory or skin sensitization:	No data available
Germ cell mutagenicity:	No data available
Carcinogenicity:	No data available
Reproductive toxicity:	No data available
Specific target organ toxicity	
Single exposure:	No data available
Repeated exposure:	No data available
Aspiration hazard:	No data available

SECTION 12: ECOLOGICAL INFORMATION

12.1 Toxicity

No data available

12.2 Persistence and degradability

No data available

12.3 Bioaccumulative potential

No data available

12.4 Mobility in soil

No data available

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No data available

12.6 Endocrine disrupting properties

No data available

12.7 Other adverse effects

No data available

SECTION 13: DISPOSAL CONSIDERATION

13.1 Waste treatment methods

Product: Dispose in accordance with local, state, and federal regulations

SECTION 14: TRANSPORT INFORMATION

14.1 UN number

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -



www.tnrbioscience.com



789 / 155, Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand



+66-38-342-555



info@tnrbioscience.com



14.2 UN proper shipping name
 ADR/RID: No dangerous goods
 IMDG: No dangerous goods
 IATA: No dangerous goods

14.3 Transport hazard class(es)
 ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Packaging group
 ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Environmental hazards
 ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.6 Special precautions for user
 No data available

Further information
 Not classified as dangerous in the meaning of transport regulations

SECTION 15: REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environment regulations/ legislation specific for the substance or mixture
 This material safety data sheet complies with the requirements of Regulation (EC) No. 1907/2006 as amended by (EC) No. 1272/2008

SECTION 16: OTHER INFORMATION

16.1 Revision date: July 3rd, 2023

16.2 Compliance
 This document has been prepared in accordance with the SDS requirements of the OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200

16.3 Disclaimer
 The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. TNR Bioscience Co., Ltd and its affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes

 www.tnrbioscience.com
 789 / 155, Moo 1, Pinthong industrial estate 1,
 Nong Kham, Sriracha, Chonburi, Thailand.

 +66-38-342-555
 info@tnrbioscience.com

MySkinRecipes
a brand of Chanjao Longevity Co., Ltd.
50 Ramindra 14, Bangkok 10230, Thailand

Food Additive

myskinrecipes
beauty with smart brain
Product Specification

Bee Propolis (พรอพโพลิส) Extract (30% Flavonoids, Yellow)

TEST

Appearance
Content (HPLC, Flavonoids and Polyphenols)
Particle Size
Loss on Drying
Pesticide Residue
Total Heavy Metals
Arsenic
Lead
Total Plate Count
Total Yeast & Mold

SPECIFICATION

Fine brownish yellow powder
30% Min
100% pass through 80 Mesh
5.0% Max
Negative
10ppm Max
1ppm Max
2ppm Max
1000CFU/g Max
100CFU/g Max

Storage: 5-15C, Tightly seal. Avoid Heat & Light
Shelf Life: 24 Months from manufacturing date

The information provided in this specification, as provided by our supplier, is correct to the best of our knowledge.

End-user must understand fully the properties of the material before usage. End-users are advised to consult professionals should there be any inquiries or concerns.

This is a computer-generated document which requires no signature.

Chanjao Longevity Co., Ltd. 50 Ramindra 14, Bangkok, Bangkok 10230 Thailand - Tel. +662-002-7-002 - Fax. +662-001-7-022 - Email. care@myskinrecipes.com

SECTION 4 - FIRST AID MEASURES

First Aid responders should use equipment in Section 8 if there is a potential for exposure to product.

IF SWALLOWED: Call a poison control center or doctor immediately for treatment advice. Have person sip a glass of water if able to swallow. Do not induce vomiting unless told to do so by the poison control center or doctor. Do not give anything by mouth to an unconscious person.

IF ON SKIN OR CLOTHING: Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15-20 minutes. Call a poison control center or doctor for treatment advice.

IF IN EYES: Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15-20 minutes. Remove contact lenses, if present, after the first 5 minutes, then continue rinsing eye. Call a poison control center or doctor for treatment advice.

IF INHALED: Move person to fresh air, if person is not breathing, call 911 or an ambulance, then give artificial respiration, preferably mouth-to-mouth if possible. Call a poison control center or doctor for further treatment advice.

Have a product container or label with you when calling a poison control center or doctor.

NOTE TO PHYSICIAN: No specific antidote, treat symptomatically.

SECTION 5 - FIRE FIGHTING MEASURES

National Fire Protection Rating (NFPA)

HEALTH	1
FLAMMABILITY	0
REACTIVITY	0
4=Severe 3=Serious 2=Moderate 1=Slight 0=Minimal	

FLASHPOINT: >200°F / >100°C

EXTINGUISHING MEDIA: Use foam, dry chemical, or water spray.

FIRE AND EXPLOSION HAZARD: Can burn in fire, releasing irritating and toxic gases due to thermal decomposition or combustion.

FIRE FIGHTING INSTRUCTIONS: Evacuate area and fight fire upwind from a safe distance to avoid hazardous vapors and decomposition products. Dike and collect water used to fight fire to prevent environmental damage due to run off. Foam or dry chemical fire extinguishing systems are preferred to prevent environmental damage from excessive water runoff. Minimize use of water to prevent environmental contamination

FIRE FIGHTING EQUIPMENT: Self-contained breathing apparatus with full face piece.

SECTION 6 - ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

IN CASE OF SPILLS OR LEAKS: Clean up spills immediately, observing precautions in Section 8 of this document. Isolate hazard area. Keep unnecessary and unprotected personnel from entering.

SMALL SPILL: Absorb small spills on sand, vermiculite or other inert absorbent. Place contaminated material in appropriate container for disposal.

LARGE SPILL: Dike large spills using absorbent or impervious material such as clay or sand. Recover and contain as much free liquid as possible for reuse. Allow absorbed material to solidify, and scrape up for disposal. After removal, clean contaminated area thoroughly with water. Pick up wash liquid with additional absorbent and place in a disposable container.

This material should be prevented from contaminating soil or from entering sewage and drainage systems and bodies of water. Minimize use of water to prevent environmental contamination

SECTION 7 - HANDLING AND STORAGE

KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN!

HANDLING: Use only in a well-ventilated area. Minimize dust generation and accumulation.

STORAGE: Keep container closed when not in use. Keep away from food, feed and drinking water. Store in a well ventilated dry place away from heat. Store above 32 F.

Wear proper safety equipment specified in Section 8 when mixing, loading or otherwise handling concentrate.

SECTION 8 - EXPOSURE CONTROLS, PERSONAL PROTECTION

EXPOSURE LIMITS (8 hour TWA, ppm): Not listed

ENGINEERING CONTROLS: Proper ventilation is required when handling or using this product. Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash facility and a safety shower.

PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT:

EYE PROTECTION - Safety goggles or glasses with side shields.

CLOTHING - Long-sleeved shirt and long pants, Chemical-resistant footwear plus socks

GLOVES - Chemical-resistant gloves, such as barrier laminate, butyl rubber, nitrile rubber, neoprene rubber, natural rubber, polyvinyl chloride (PVC), viton

RESPIRATOR – Not required when handled under normal conditions. When handling in enclosed areas with inadequate ventilation, use a dust/mist filtering respirator (MSHA/NIOSH approval number prefix TC-21C)

SECTION 9 - PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

Physical State	Powder
Odor	Characteristic
Color	Yellow to brown
pH	N/A
Solubility	Most glycols
Density	N/A
Melting Point	N/A
Taste	Bitter and slightly spicy

Values above are approximate value and does not necessarily represent that of a specific batch.

SECTION 10 - STABILITY AND REACTIVITY

PRODUCT REACTIVITY: Non-reactive

CHEMICAL STABILITY: Stable under normal conditions, however may decompose if heated.

HAZARDOUS POLYMERIZATION: Product will not undergo polymerization.

CONDITIONS TO AVOID: Avoid temperatures above 40C for prolonged period of time.

INCOMPATIBLE MATERIALS: None known

HAZARDOUS DECOMPOSITION PRODUCTS: Hydrogen cyanide, Hydrogen chloride, Carbon monoxide, Nitrogen oxides.

SECTION 11 - TOXICOLOGICAL INFORMATION

Acute toxicity data from similar formulation

ACUTE TOXICITY:

Oral LD50 (rat)	more than 1g/kg
Dermal LD50 (rat)	more than 1g/kg
Inhalation LC50 (rat)	more than 1g/kg
Eye Irritation (rabbit)	Slight irritant
Skin Irritation (rabbit)	Slight irritant
Sensitization (guinea pig)	Non-sensitizer

CARCINOGEN STATUS:

OSHA	-Not listed
NTP	-Not listed
IARC	-Not listed

TERATOGENICITY: No reproductive or teratogenic (birth defect) effects at normal exposure levels.

MUTAGENICITY: Little or no evidence of mutagenic effects during in vivo or in vitro studies.

SECTION 12 - ECOLOGICAL INFORMATION

ENVIRONMENTAL SUMMARY: Avoid disposing into waterways.

SECTION 13 - DISPOSAL CONSIDERATIONS

Do not contaminate water, food or feed by storage or disposal.

WASTE: Dispose of in accordance with applicable Federal, state and local laws and regulations.

SECTION 14 - TRANSPORT INFORMATION

SHIPPING DESCRIPTION:	Not regulated by DOT for ground transport
TRANSPORT HAZARD CLASS:	N/A
UN NUMBER:	N/A
DOT PACKING GROUP:	N/A

SECTION 15 - REGULATORY INFORMATION

CERCLA REPORTABLE QUANTITY:	Not listed
SARA TITLE III STATUS:	
311/312 Hazard Categories	None known
313 Toxic Chemicals	None known
CALIFORNIA PROP 65:	Not listed
TSCA:	Not listed

SECTION 16 - OTHER INFORMATION

DISCLAIMER: The information presented herein is based on available data from reliable sources and is correct to the best of our knowledge. We make no warranty, express or implied, regarding the accuracy of the data or the results obtained from the use of this product. Nothing herein may be construed as recommending any practice or any product in violation of any law or regulations. The user is solely responsible for determining the suitability of any material or product for a specific purpose and for adopting any appropriate safety precautions.

Generated Date: 02/11/2022
Specifically for: ผนังปูนซีเมนต์

ประวัติผู้เขียน

