

บทคัดย่อ

มะเกี๋ยงเป็นพืชพื้นบ้านภาคเหนือที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cleistocalyx nervosum* (DC.) Kost. var. *paniala* (Roxb.) Parm. & Chant. ผลและเปลือกต้นมีสรรพคุณในการใช้เพื่อรักษาอาการปากเปื่อย ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเนื้อผลสดและสารสกัดจากเมล็ด จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเนื้อผล (ที่เตรียมสารสกัดในปีที่ 1) ไปเตรียมผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี เนื้อผลสดและเมล็ดแห้งของมะเกี๋ยงนำไปเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการหมักโดยใช้ 95 % เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดส่วนเนื้อผลและเมล็ดได้ปริมาณสารสกัดหยาบเอทานอลเท่ากับ 5.85-9.06 และ 10.56 % w/w ตามลำดับ สารสกัดแต่ละส่วนที่ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (ทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง) และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเมล็ดให้ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่สูงกว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของส่วนเนื้อผล ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเมล็ดให้ฤทธิ์ที่ดีกว่าเช่นกัน ด้วยค่า TEAC = 745.69 - 884.50 มก./ก. ของตัวอย่าง สารสกัดทั้งสองส่วนพบว่ามีสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง ซึ่งเป็นสารที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และจากผลการศึกษา จะเห็นว่าทั้งสารสกัดมะเกี๋ยงส่วนเนื้อผลและส่วนเมล็ด สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี โดยสารสกัดส่วนเมล็ดแสดงฤทธิ์ใกล้เคียงกับ กรดโคจิก ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน

สารสกัดจากเนื้อผลมะเกี๋ยงนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ เครื่องสำอาง 5 รูปแบบ (สบู่อ่อน เจลล้างหน้า ครีมบำรุงมือและเล็บ โลชั่น และซีรัม) เครื่องดื่มสมุนไพร 3 รูปแบบ (ชาชง แกรนูลฟองฟู และเครื่องดื่มเข้มข้น) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร 1 รูปแบบ (เม็ดเคี้ยว) การผลิตผลิตภัณฑ์ที่ใช้หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตในทุกขั้นตอน ผลในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากมะเกี๋ยง พบว่าโลชั่นและครีมผสมสารสกัดมะเกี๋ยงให้ผลในการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังมากที่สุด ซีรัมมะเกี๋ยงให้ผลในการลดริ้วรอยแต่ผลในการลดริ้วรอยยังไม่ชัดเจนอาจเนื่องมาจากการใช้ผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาน้อยเกินไป ซึ่งมีแนวโน้มที่จะทำให้ริ้วรอยลดลงเมื่อใช้ไปในระยะเวลายาวนานขึ้น และทุกผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาไม่มีผลในการก่อระคายเคืองและการแพ้ในอาสาสมัคร

จากผลการศึกษา จะเห็นได้ว่ามะเกี๋ยงเป็นพืชที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เครื่องดื่ม และอาหารเสริมสุขภาพ นอกจากนี้จากผลการศึกษาในส่วนเมล็ดพบว่า มีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรืออาจจะพัฒนาเป็นเวชสำอางได้ต่อไป

Abstract

Cleistocalyx nervosum (DC.) Kost. var. *paniala* (Roxb.) Parn. & Chant. (Ma-Kiang) is an indigenous plant in Northern Thailand. The fruit and bark have been used to treat canker sore. This research aimed to investigate the biological activities of the extracts of flesh fruit and seeds of Ma-Kiang. Then, the extract of flesh fruit (prepared in the the first year's research) was formulated for healthy products and evaluated their physical and chemical properties. The flesh fruit and dried seeds were separately extracted with maceration using 95 % ethanol as solvent. The obtained ethanolic crude extracts of flesh fruit and dried seeds yielded 5.85-9.06 and 10.56 % w/w, respectively. The extracts were tested for antibacterial activity by agar well diffusion method, antioxidant activity (in vitro and in vivo) and antityrosinase activity. It was found that the ethanolic extract of dried seed exhibited higher antibacterial activity against microorganisms than its flesh fruit's extract. The ethanolic extract of dried seeds also presented higher antioxidant activity in DPPH assay with TEAC = 745.69-884.50 mg/g sample. Both extracts revealed high content of phenolics and flavonoids that gave high antioxidant activity in vitro. The study of the inhibition of tyrosinase enzyme, both of the ethanolic extracts showed high activity especially the dried seeds extract exhibited similar effect with kojic acid.

Then, the extract of flesh fruit was formulated for healthy products including five items of cosmetic products (liquid soap, facial cleanser gel, hand and nail cream, lotion and serum); three items of herbal drinks (herbal tea, effervescent granules and concentrate drink) and one item of nutraceutical (chewing tablet). All production processes were followed the Good Manufacturing Practice (GMP). The results of performance test were found that skin moisture content was increased after applying Makiang lotion and Makiang cream. Makiang serum showed a trend to be anti-wrinkle with non-significant result this may be because of short period of application. All cosmetic products were proved as non-allergic products.

As results, the fruit of Makiang are potentially use as raw material for cosmetic products, beverages and health supplements. Moreover, the seeds reveal a trend to be valuable raw material for cosmeceuticals and neutraceutical products.

บทที่ 1

บทนำ

มะเกี๋ยง เป็นพืชพื้นบ้านทางภาคเหนือของประเทศไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* วงศ์ Myrtaceae ในสรรพคุณยาไทยมีการนำเปลือกต้น และผลสุกมาใช้ โดยใช้เพื่อแก้ปากเปื่อย คอเปื่อยเป็นเม็ดโดยนำเปลือกต้นมาต้มกับน้ำใซ้้อม (พิมพ์ใจ อาษา, 2551) นอกจากนี้ ผลมะเกี๋ยงยังนิยมนำมาบริโภคทั้งในรูปผลสด และผลิตภัณฑ์แปรรูป ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลมะเกี๋ยง โดยกลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ และชีวเคมี กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ใช้ตัวอย่างผลมะเกี๋ยงสด จำนวน 37 ตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักในกลุ่มของแร่ธาตุ วิตามิน และกรดอะมิโน พบว่าผลมะเกี๋ยงสดมีแร่ธาตุ วิตามิน และกรดอะมิโนหลายชนิดที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับประโยชน์ทางยาของมะเกี๋ยงโดยสถาบันวิจัยและฝึกอบรมเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พบว่าเครื่องต้มน้ำมะเกี๋ยงมีผลช่วยลดความดันโลหิตลงได้เล็กน้อย ขณะที่การศึกษาของบุษราวรรณ ศรีวรรณ และคณะ (2550) ความสามารถของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ที่ในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดมะเกี๋ยงสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของลิมโฟไซต์และยังช่วยเพิ่มการทำงานของ natural killer cell ได้

จากรายงานการวิจัยของทวีพร อุณจักร (2530) วิเคราะห์ผลมะเกี๋ยงสุกโดยตรวจสอบ กรดอินทรีย์และสารสีแดง พบว่า สารสีแดง คือ cyanidin 3-glucoside และการตรวจสอบสารสกัดจากส่วนเนื้อของผลสุกโดยวิธีทางโครมาโทกราฟี พบว่า มีกรดอินทรีย์ 2 ชนิด คือ กรดซิตริกและกรดมาลิก เป็น 1.69 % และ 0.17 % ตามลำดับ นอกจากนี้ เฉลิม จันทรสม (2551) รายงานถึงสารสีในผลมะเกี๋ยงพบว่า cyanidine-3-glucoside เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในกลุ่มแอนโทไซยานิน

สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงในสัตว์ทดลอง สิริญา ทายะ และคณะ (2551, 2552) พบว่างานวิจัยของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงด้วยน้ำ ไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันในหนูขาว และยังมีฤทธิ์เหนี่ยวนำระบบต้านอนุมูลอิสระในตับหนู

จากข้อมูลดังกล่าวมะเกี๋ยงเป็นพืชพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เพื่อชะลอความชรา (antiaging) ซึ่งในปัจจุบันพบว่าตลาดโลกของผลิตภัณฑ์สมุนไพรกำลังได้รับความนิยมมากขึ้นอย่างรวดเร็ว มีอัตราการเติบโต 10-12 % ต่อปี โดยมีมูลค่าสูงมากถึง 120 ล้าน ล้านบาท ในปี พ.ศ.2549 และธนาคารโลกคาดว่าจะเพิ่มเป็น 200 ล้าน ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2593 สำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรในแนวอายุวัฒนะ หรือชะลอวัย กำลังได้รับความนิยมสูงต่อผู้บริโภคและการป้องกันโรคและการรักษาสุขภาพ เนื่องจากสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบมีข้อมูลในการช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นโรคเรื้อรังและปัญหาสุขภาพต่าง ๆ มากมาย ในปัจจุบันมีข้อมูลว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดมะเร็ง และยังเป็นสาเหตุทำให้เซลล์ของร่างกายเสื่อมเร็วขึ้นหรือแก่ ด้วยเหตุนี้จึงมีการบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระเสริมเพื่อลดอนุมูลอิสระที่ได้รับเข้าไปใน

ร่างกายทุกวัน ไม่ว่าจะจากสารพิษต่าง ๆ ที่ปนในอาหารและจากสิ่งแวดล้อม นอกจากนั้นปัญหาอีกอย่างหนึ่งคือ การอักเสบในร่างกายที่เกิดจากการสร้างสารก่ออักเสบเช่น prostaglandin เป็นที่ทราบกันว่าเมื่อเกิดการอักเสบแล้วจะทำให้มีความเสี่ยงสูงของการเป็นโรคเรื้อรังหลายโรค เช่น มะเร็ง ไชข้ออักเสบ อัลไซเมอร์ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้การบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในรูปแบบของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของผู้ที่สนใจดูแลสุขภาพในปัจจุบัน (สุรพจน์ วงศ์ใหญ่ ,2552) และนอกจากนั้นการใช้เครื่องสำอางที่มีสารสำคัญที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอาการอักเสบ ก็เป็นส่วนหนึ่งในการชะลอความแก่ของผิวหนัง รวมทั้งในปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทำให้ผิวขาวกำลังได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ซึ่งจากที่กล่าวมานั้น มะเร็งมีศักยภาพจะนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อบริโภคเสริมสุขภาพและเครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิวพรรณ ชะลอความแก่ แต่หากมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีข้อมูลสนับสนุนการนำไปใช้ น่าจะเป็นประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ยังขาดสำหรับสนับสนุนในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ได้แก่ มาตรฐานของสารสกัดซึ่งจะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางฤทธิ์ทางชีวภาพเกี่ยวข้อง (เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหนูทดลอง ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส) ตลอดจนแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ การศึกษาความคงตัวรวมทั้งประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาข้อมูลเหล่านี้เพิ่มเติมเพื่อส่งเสริมการใช้ประโยชน์ในมะเข็ญให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และเป็นข้อมูลในการส่งเสริมการพัฒนาการใช้ประโยชน์มะเข็ญในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดของมะเข็ญ
2. เพื่อศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ทดสอบความพึงพอใจในผู้บริโภค
3. เพื่อทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดมะเข็ญ
4. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 มะเกี๋ยง

มะเกี๋ยง เป็นพืชในอันดับ Myrtales จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cleistocalyx nervosum* (DC.) Kost. var. *paniala* (Roxb.) Parn. & Chant. ชื่อวิทยาศาสตร์เดิมของมะเกี๋ยงคือ *Eugenia paniala* ซึ่งเป็นชื่อที่ใช้กันมาตั้งแต่ พ.ศ. 2375 จากการศึกษาทบทวนพรรณไม้ในสกุล *Eugenia* และ *Cleistocalyx* ใน พ.ศ. 2536 โดย ดร. ประนอม จันทรโนทัย ได้เสนอให้จัดพืช *E. paniala* Roxb. มารวมอยู่ในสกุล *Cleistocalyx* และกำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ของมะเกี๋ยงเป็น *C. operculatus* เช่นเดียวกับต้นหว้าขาว (หว้าน้ำหรือหว้าส้ม) โดยจำแนกออกเป็นสองชนิดพันธุ์ คือ *C. operculatus* var. *operculatus* (หว้าขาว) และ *C. operculatus* var. *paniala* (มะเกี๋ยง) ต่อมาใน พ.ศ. 2539 ได้มีการศึกษาทบทวนพืชในวงศ์ Myrtaceae ใหม่อีกครั้ง และได้เสนอให้เปลี่ยนชื่อวิทยาศาสตร์ของหว้าขาวและมะเกี๋ยงเป็น *C. nervosum* โดยจำแนกออกเป็นสองชนิดพันธุ์ คือ *C. nervosum* var. *operculatus* (หว้าขาว) และ *C. nervosum* var. *paniala* (มะเกี๋ยง) ความแตกต่างระหว่างพืชสองชนิดพันธุ์นี้อยู่ที่การจัดเรียงหรือจำนวนดอกในช่อดอกย่อย ขนาดของฐานรองดอกรูปถ้วย (hypanthium) รวมทั้งขนาดและรูปร่างของผล โดยที่มะเกี๋ยงมักมีดอกจำนวน 3 ดอก ติดอยู่รวมกัน เป็นกลุ่มช่อดอกย่อย มีฐานดอกรูปถ้วยขนาดใหญ่กว่า 0.4 เซนติเมตร ผลรูปไข่ขอบขนาน (oval-oblong) และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผลมากกว่า 1.5 เซนติเมตร ส่วนหว้าขาวมักมีจำนวนดอกในแต่ละช่อดอกย่อยมากกว่า 4 ดอก ฐานรองดอกรูปถ้วยมีขนาดเล็กกว่า 0.4 เซนติเมตร ผลรูปกลม (globoes) และเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 1.5 เซนติเมตร (Chantaranothai, P., 1994 และ พิมพ์ใจ อาษา, 2551)

มะเกี๋ยงเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งส่วนของผล เมล็ด และลำต้น การใช้ประโยชน์จากผลมะเกี๋ยงในด้านอาหาร พบว่า ผลมะเกี๋ยงนิยมนำมาบริโภคทั้งรูปผลสด และผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป เช่น น้ำมะเกี๋ยง ไวน์มะเกี๋ยง เนคต้ามะเกี๋ยง (nectar) แยมมะเกี๋ยง มะเกี๋ยงดอง มะเกี๋ยงแช่อิ่มแห้ง มะเกี๋ยงหยี ชามะเกี๋ยง โยเกิร์ตมะเกี๋ยง นอกจากการใช้ประโยชน์ในลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารแล้ว จากคุณสมบัติและลักษณะเด่นของผลมะเกี๋ยงในด้านสี พบว่าสารสีแดงในส่วนเปลือกของลูกมะเกี๋ยงสุกเป็นสารประกอบประเภทแอนโทไซยานินเหมาะสำหรับนำไปใช้กับอาหารที่มีสภาพเป็นกรดสูง เช่น น้ำผลไม้ แยมผลไม้ ผลมะเกี๋ยงนอกจากสามารถนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแล้ว เมล็ดมะเกี๋ยงยังสามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยได้ องค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันเมล็ดมะเกี๋ยง คือ linalool, *R*-terpinene, *R*-ionone, caryophyllene, terpinene-4-ol, limonene นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อผลสุกมีกรดซิตริก และกรดมาลิก ซึ่งให้รสเปรี้ยว มะเกี๋ยงจึงมีการใช้ประโยชน์เพื่อใช้เป็นสารแต่งรสเปรี้ยว และแต่งสีในผลิตภัณฑ์อาหารหรือยาได้ (ทวีพร อุณจักร, 2530 ; สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง, 2545)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของมะเกี๋ยง พบว่า มีรายงานการศึกษาในผลมะเกี๋ยงสุกโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี พบว่าสีของเปลือกผลมีสารกลุ่ม anthocyanin โดยสารองค์ประกอบหลัก คือ cyanidin 3-glucoside ส่วนเนื้อผลสุกพบว่ามีกรดซิตริก (citric acid) และกรดมาลิก (malic acid) ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่ให้รสเปรี้ยว (ทวิพร อุณจักร, 2530) และสารสกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยง โดยสกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยงบดแห้ง ด้วยวิธีหมักในเอทานอล 95 % จากการทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้นพบว่ามีองค์ประกอบของสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และแอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (พิมพร สีลาพรพิสิฐ, 2547)

พิมพร สีลาพรพิสิฐ และคณะ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยง ในการศึกษาได้ทำการสกัดสารจากเมล็ดมะเกี๋ยงบดแห้ง ด้วยวิธีหมักในเอทานอล 95 % จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Assays พบว่า สารสกัดส่วนเอทิลอะซิเตต และบิวทานอล เป็นส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดส่วนเฮกเซน และคลอโรฟอร์ม โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 1.5108 และ 1.3943 กรัม/กรัม ตามลำดับ (พิมพร สีลาพรพิสิฐ และคณะ, 2547) จากการศึกษาของธนธร รจนาบุญกุล เกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยจากสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง ในรูปแบบครีมและเจลที่ผสมสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงความเข้มข้นร้อยละ 1.25 โดยน้ำหนัก ระบุว่าผลิตภัณฑ์ทั้งสองรูปแบบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่าย จากการทดสอบในอาสาสมัคร 15 คน พบว่าครีมมะเกี๋ยงและเจลมะเกี๋ยงมีประสิทธิภาพลดริ้วรอย และมีความคงตัวที่ดี (ธนธร รจนาบุญกุล, 2549)

พิมพ์ใจ อาษา ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes* ของสารสกัดและน้ำหมักชีวภาพจากพืชสมุนไพร พบว่าสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงแห้ง และ สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงสดที่สกัดโดยการ reflux ด้วยเอทานอล 50 % และหมักด้วยเอทานอล 95 % มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnes* ดีกว่า benzoyl peroxide ในความเข้มข้นที่เท่ากัน คือ 10 % , 5 % และ 1 % w/v และจากการหาค่า MIC โดยวิธี agar well diffusion ซึ่งเตรียมความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 10 % w/v พบว่าสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงสดที่สกัดโดยการ reflux มีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้อ *P. acnes* ต่ำสุด คือ 0.625 % w/v หรือ 6.25 mg/ml (พิมพ์ใจ อาษา, 2549) สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงในสัตว์ทดลอง สิริญญา ทายะ และคณะ พบว่างานวิจัยของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงด้วยน้ำ ไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันในหนูขาว และยังมีฤทธิ์เหนี่ยวนำระบบต้านอนุมูลอิสระในตับหนู (สิริญญา ทายะ และคณะ 2551, 2552)

จากการศึกษาคุณภาพผลมะเกี๋ยงแช่เยือกแข็งที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมะเกี๋ยงบรรจุขวด ของบริษัทมหาชนซี่งใหม่ จำกัด พบว่าผลมะเกี๋ยงแช่เยือกแข็งที่มีอายุการเก็บรักษา 6 และ 17 เดือน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง 3.8 CFU/กรัม ถึง TNTC (ระดับความเจือจาง 10⁻¹) ปริมาณยีสต์และราอยู่ระหว่าง 0-4 CFU/กรัม ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 2.9-3.1 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 3.2-6.0 องศาบริกซ์ (ดรินญา เสนาบุญกุล, 2547)

ในการเก็บรักษามะเกี๋ยงโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 , 4 และ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 11 วัน เมื่อทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าปริมาณแอนโทไซยานิน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการรีดิวซ์เพิ่มขึ้นมาก

ที่สุดที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส แต่พบการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกสภาวะ (วงศ์ศิริ เข็มสวัสดิ์, 2549)

2.2 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่ในวงนอกสุดของอะตอมหรือโมเลกุล ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน เช่น hydroxyl radical, superoxide anion, peroxy radical, nitric oxide และ singlet oxygen เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นผลพลอยได้มาจากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ของเซลล์ที่เกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ยังมีปัจจัยจากภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV-ray) และสารเคมีอื่น ๆ จากสิ่งแวดล้อมที่สามารถเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นได้อีกด้วย สารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนั้นมีความไม่คงตัวและว่องไวในการทำปฏิกิริยาจึงสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่รอบข้าง จนเป็นผลนำไปสู่ความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ ไม่ว่าจะเป็นการเกิดความเสียหายต่อโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA oxidative damage) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้เกิดความผิดปกติของการทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้น ๆ อย่างไรก็ตามในสิ่งมีชีวิตก็จะมีระบบต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant system) เพื่อรักษาสมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกายเอาไว้ ซึ่งระบบต่อต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวเกิดจากการทำงานของสารต่าง ๆ รวมเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase และ superoxide dismutase หรือโปรตีนบางอย่างเช่น glutathione, bilirubin, albumin และ transferrin เป็นต้น ในสภาวะที่ร่างกายเกิดอนุมูลอิสระในปริมาณมากเกินไปที่ระบบต่อต้านอนุมูลอิสระจะยับยั้งได้หมด ทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคพาร์กินสัน (parkinson) และภาวะชราก่อนวัยอันควร เป็นต้น ดังนั้นการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกจึงเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมและป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ อย่างไรก็ตามสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นนั้นแม้จะมีประสิทธิภาพสูงแต่ก็ยังมีข้อจำกัดในการใช้และยังมีปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค จึงทำให้เกิดการแสวงหาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ในปัจจุบัน

จากที่มีรายงานว่า สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งพบได้ในพืช ผลไม้ นานาชนิดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง ประกอบกับประเทศไทยเป็นแหล่งอุดมสมบูรณ์ด้วยพรรณไม้หลายชนิดที่มีศักยภาพในการใช้รักษาโรคต่าง ๆ อันเนื่องมาจากต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้มีการศึกษาหาสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้ไทยที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนอย่างแพร่หลาย ซึ่งนับเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง

มะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) เป็นพืชพื้นเมือง พบมากในเขตภาคเหนือ ผลสุกจะมีสีแดงจัด รสชาติเปรี้ยวอมหวานและมีกลิ่นหอม จัดอยู่ในตระกูลเดียวกับลูกหว้า (*Cleistocalyx*

operculatus) มีรายงานหลายฉบับเกี่ยวกับมะเข็ญที่กล่าวถึงการมีคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพ แต่อย่างไรก็ตามการนอกจากนี้ยังพบว่าพบว่ามีสารสกัดมะเข็ญในส่วนน้ำประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก(phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) หลายชนิดที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในสัตว์ทดลอง (in vivo) และยังมีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของมะเข็ญที่สกัดด้วย 95 % เอทานอล ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเนื้อมะเข็ญด้วย 95 % เอทานอลทั้งในโมเดลหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง

2.3 เมลานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เมลานิน (melanins) เป็นเม็ดสีที่สร้างขึ้นและเก็บไว้ใน melanosome ซึ่งอยู่ใน melanocyte เมื่อ melanosome เจริญเต็มที่ ก็จะถูกส่งมาเก็บไว้ที่ keratinocyte ซึ่งเป็นเซลล์ในชั้นผิวที่ให้สีของผิวหนัง ผม และตา เป็นต้น melanin สามารถถูกจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ eumelanin ซึ่งมีสีแดง หรือน้ำตาล และ pheomelanin ซึ่งมีสีเหลืองหรือน้ำตาลแดง โดยกระบวนการสร้าง eumelanin แบ่งได้เป็น 2 ระยะ ดังนี้ ในระยะแรก L-tyrosine หรือ 3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) ถูกเปลี่ยนเป็น dopaquinone โดยปฏิกิริยา oxidation ซึ่งมีเอนไซม์ tyrosinase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนกำหนดปฏิกิริยา (rate-limiting step) ของการสร้างเมลานิน ต่อมา dopaquinone ที่สร้างขึ้นนี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น dopachrome ซึ่งในระยะที่สอง dopachrome จะสูญเสีย CO₂ แล้วถูกเปลี่ยนเป็น 5,6-dihydroxyindole (DHI) และต่อไปเป็น 5,6-indolequinone (IQ) ในอีกทางหนึ่ง dopachrome อาจเกิดปฏิกิริยา tautomerization ได้เป็น 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น indole-2-carboxylic acid-5,6-quinone (ICAQ) โครงสร้าง IQ และ ICAQ จัดเป็นหน่วยย่อย ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยา polymerization ต่อไปได้เป็น eumelanin ที่มีสีดำหรือน้ำตาล ส่วนในกระบวนการสร้าง pheomelanin นั้น หลังจาก L-tyrosine หรือ L-DOPA ถูกเปลี่ยนเป็น dopaquinone แล้ว จะเกิดปฏิกิริยากับหมู่ SH ของ cysteine หรือ glutathione ได้เป็น 5-cysteinyldopa ซึ่งเกิดปฏิกิริยา oxidation ต่อไปเป็น 5-cysteinyldopaquinone จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา cyclization และ decarboxylation ได้เป็น 1,4-benzothiazinylalanine ซึ่งต่อมาเกิดปฏิกิริยา polymerization ได้เป็น pheomelanin ซึ่งมีสีเหลืองแดง (กิตติศักดิ์ 2551 และ Ohguchi K.2003)

เนื่องจากการสร้างเมลานินทั้งสองชนิดจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขั้นตอนการทำงานของเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ตั้งแต่ แบคทีเรีย รา พืชชั้นสูง และสัตว์ ในมนุษย์เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสีของผิวหนังหรือผมดังกล่าวข้างต้น ส่วนในพืช tyrosinase ช่วยเร่งปฏิกิริยาการสร้างสารสีน้ำตาลดำ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการหมองคล้ำของสีผิวผักและผลไม้ ในสัตว์จำพวกแมลงบางชนิด เอนไซม์นี้มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย ดังนั้น การวิจัยศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เพราะเชื่อว่าสารที่มีฤทธิ์ดังกล่าว อาจนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น นำมาใช้เป็นสารถนอมอาหารจำพวกผักผลไม้สดไม่ให้มีสีหมองคล้ำ หรืออาจ

พัฒนาใช้เป็นสารควบคุมการเจริญของแมลง นอกจากนี้ ยังอาจนำมาใช้เป็นสารช่วยให้ผิวขาว (whitening agent) ในตำรับยาหรือเครื่องสำอางได้ด้วย (กิตติศักดิ์ 2551)

สารยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase (tyrosinase inhibitor) ที่มาจากแหล่งธรรมชาตินั้น สามารถได้จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ตั้งแต่รา เช่น azelaic acid (1,7-heptanedicarboxylic acid), kojic acid (5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)- γ -pyrone) และ metallothionein จนถึงพืชชั้นสูง ซึ่งสารส่วนใหญ่จากพืชที่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์นี้ มักเป็นสารกลุ่ม polyphenols ซึ่งจัดเป็น aromatic tyrosinase inhibitors เช่น stilbenes และ flavonoids นอกจากนี้ ในปัจจุบันพบมีรายงานการวิจัยที่พบสารสำคัญกลุ่มอื่น (non-aromatic tyrosinase inhibitors) จากพืชที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ได้เช่น สารกลุ่ม triterpenes เป็นต้น (Likhitwitayawuid K.2008, Khan MTH *et al* 2006 และ Casanola – Martin GM *et al* 2006)

2.4 การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดหยาบมะเข็งด้วยวิธีทดสอบของเอมส์

การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้แบคทีเรีย เป็นการทดสอบการกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* เนื่องจากแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ได้ถูกทำให้กลายพันธุ์ไปจนไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน histidine ได้ ทำให้ไม่สามารถเจริญในตัวกลางที่ขาดกรดอะมิโนชนิดนี้ได้ เรียกว่า "Histidine dependent" (His-) สารทดสอบที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะทำให้แบคทีเรียชนิดนี้เกิดการกลายพันธุ์ ย้อนกลับ สามารถสร้าง histidine ได้เองเป็น "Histidine independent" (His+) และเนื่องจากสารเคมีบางชนิดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ในรูปที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ (promutagen) เมื่อเข้าไปสู่ร่างกายจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดย อาศัยเอนไซม์จากตับเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ (ultimate mutagen) ดังนั้น ในการทดสอบของเอมส์ ได้เพิ่มการกระตุ้นด้วยเอนไซม์ที่ได้จากตับหนู (S9) คล้ายกับเป็นการจำลองการเกิด metabolism ในร่างกายเปลี่ยน promutagen ให้เป็น ultimate mutagen

การทดสอบการกลายพันธุ์ ใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 เป็นการทดสอบการกลายพันธุ์แบบ Frame shift และ Base-pair substitutive ตามลำดับ ทั้งในสภาวะที่ถูกกระตุ้นและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ (S9 mix) ตามวิธีของ Maron และ Ames เพื่อทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดมะเข็งในสภาวะที่ถูกกระตุ้นและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ โดยใช้ DMSO (Dimethyl sulfoxide) เป็น negative control ส่วน positive control ใช้สารก่อกลายพันธุ์มาตรฐาน 2-aminoanthracene (2-AA) และ 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ตามลำดับ หลังจาก incubate ครบ 48 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งดู killing effect ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากสารสกัดที่ใช้มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย โดยพบว่า โคโลนีแบคทีเรียที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้ออาจมี 2 ลักษณะ คือ โคโลนีมีขนาดเล็กกระจายทั่วจานเลี้ยงเชื้อ หรือโคโลนีมีสีดำ และฝ่อไป

2.5 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบมะกึ่งต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด peripheral blood mononuclear cell (PBMC)

สารสกัดหยาบมะกึ่งไม่ควรจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ในการทดลองนี้จะศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบมะกึ่งต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PBMC ด้วยวิธี MTT assay โดยมีหลักการคือ 3 - (4,5 dimethylthiazol - 2 -yl) - 2 , 5 diphenyltetrazolium bromide หรือ MTT dye solution เป็นสารประเภทเกลือ tetrazolium ซึ่งเป็นสารที่ใช้วัดการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ โดยวัดการทำงานของเอนไซม์ไมโทคอนเดรีย คือ mitochondrial reductase ที่อยู่ในวัฏจักรเครบส์ของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ โดยมี NADH ที่ได้จากวัฏจักรดังกล่าว เป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) สามารถเปลี่ยนสีของ MTT ซึ่งปกติมีสีเหลืองให้เป็นผลึกฟอร์มาแซน (formazan) ที่เป็นผลึกสีฟ้า จากนั้นละลายผลึกที่ได้ด้วยสารละลาย DMSO หลังจากบ่ม 4 ชั่วโมงจะได้สารละลายมีสีม่วง และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 630 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาเขียนกราฟร่วมกับค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่แตกต่างกันออกไป

2.6 แกรนูลฟองฟู (Effervescent granules)

แกรนูลฟองฟู (Effervescent granules) เป็นแกรนูลชนิดที่ไม่เคลือบ โดยทั่วไปจะประกอบด้วยสารที่เป็นกรดและสารคาร์บอเนตหรือไฮโดรเจนคาร์บอเนต ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากันทันทีที่มีน้ำอยู่ ทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในการใช้จะต้องนำแกรนูลฟองฟูมาละลายหรือกระจายตัวในน้ำก่อนรับประทาน (European Pharmacopoea 5.0)

แกรนูลฟองฟูเป็นส่วนผสมที่มีการใช้ในทางเภสัชกรรมมาเป็นระยะเวลาอันยาวนานแล้ว โดยมีการนำมาใช้เป็นยาระบายตั้งแต่ศตวรรษที่ 18 โดยปรากฏอยู่ในเภสัชตำรับในชื่อของ Seidlitz powders รูปแบบแกรนูลฟองฟูนอกจากจะให้ฤทธิ์ในการรักษาแล้ว ลักษณะการเตรียมตัวยาก่อนใช้จะมีความน่าสนใจต่อผู้ใช้เป็นอย่างยิ่ง จึงทำให้เป็นที่นิยมรับต่อผู้เข้ามาโดยตลอดจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ ยังมีรสชาติที่ดีเนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะช่วยกลบรสชาติที่ไม่ดีของตัวยาได้อีกด้วย (Lieberman HA *et al* 1993)

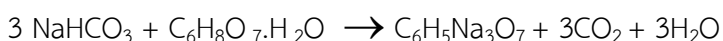
แกรนูลฟองฟูส่วนใหญ่จะเตรียมจากส่วนผสมของกรดซิตริกและกรดทาร์ทาริก เนื่องจากถ้าใช้กรดทาร์ทาริกตัวเดียวจะทำให้ได้แกรนูลที่ร่วนไม่แข็ง แต่ถ้าใช้กรดซิตริกก็จะมีส่วนผสมที่เหนียวยากต่อการทำแกรนูล ส่วนต่างที่ใช้ก็คือ โซเดียมไบคาร์บอเนต โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมของส่วนประกอบของแกรนูลฟองฟูที่นิยมใช้ มีดังนี้ กรดซิตริก : กรดทาร์ทาริก : โซเดียมไบคาร์บอเนต = 1 : 2 : 3.44 (Ansel HC *et al* 1999)

วิธีเตรียม effervescent granules การเตรียม effervescent granules สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้:-

ก. Fusion method

นำตัวยาทั้งหมดยกเว้นกรดซิตริกมาผ่านแรงเบอร์ 60 แล้วนำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ

100 °C - 110 °C กรดซิตริกที่ใช้จะต้องเป็น uneffloresced เนื่องจากน้ำผลึกของกรดซิตริก จะเป็นแหล่งของความชื้นในการเตรียมแกรนูล จากนั้นจึงนำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาใส่ใน fusion pan หรือ evaporating dish ขนาดใหญ่ วางในตู้อบ หรือแหล่งให้ความร้อนอื่นที่เหมาะสม ให้มีอุณหภูมิประมาณ 95 °C - 105 °C ความร้อนจะทำให้เกิดการปลดปล่อยของน้ำผลึกหนึ่งโมเลกุลที่มีอยู่ในกรดซิตริก หรือ 8.75 % ของน้ำหนักกรดซิตริก ก่อให้เกิดภาวะเปียกชื้น จึงเกิดปฏิกิริยาของกรดกับด่างบางส่วน ทำให้เกิดน้ำมากขึ้น ดังสมการ



น้ำผลึกจากกรดซิตริกและน้ำที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างกรดกับด่าง จะทำให้ผงยาเกาะกันเป็นก้อน คนผงยาให้ทั่ว แล้วนำมาผ่านร่อนเบอร์ 4 ถ้าต้องการแกรนูลขนาดใหญ่, ผ่านร่อนเบอร์ 8 ถ้าต้องการแกรนูลขนาดกลาง และผ่านร่อนเบอร์ 10 ถ้าต้องการแกรนูลขนาดเล็ก จากนั้นจึงนำแกรนูลที่ได้มาทำให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 54 °C แล้วบรรจุในภาชนะบรรจุที่เหมาะสมพร้อมปิดผนึกทันที

ในการเตรียมแกรนูลพองฟูโดยวิธีนี้จะมีน้ำหนักหายไป เนื่องจากการระเหยของไอน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีค่าประมาณหนึ่งในเจ็ดของน้ำหนักผงยาที่ใช้ ดังนั้นในทางปฏิบัติจะต้องมีการคำนวณเพื่อน้ำหนักส่วนที่หายไปนี้ด้วย

อนึ่งเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการเตรียมจะต้องทำมาจาก เหล็กกล้าไร้สนิม หรือสารชนิดอื่น ที่สามารถทนกรดได้เท่านั้น

ข. Wet method

วิธีนี้ต่างจาก fusion method คือ สารที่ทำให้เกิดการยึดเกาะของผงยาไม่ใช่มาจากน้ำผลึกของกรดซิตริก แต่ได้มาจากน้ำที่เติมลงไปในตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น alcohol ซึ่งใช้เป็นสารให้ความชื้นแก่ผงยาก็จะทำให้ได้ผงยาที่เปียกพอเหมาะ พร้อมทั้งจะนำไปทำเป็นแกรนูลได้เหมือนกับวิธีเตรียมโดย fusion method วิธีนี้สามารถใช้สารในตำรับที่เป็น anhydrous ทุกตัวได้

ค. Dry granulation

วิธีนี้ทำโดยนำส่วนผสมทั้งหมดมาตอกเป็นเม็ดยาขนาดใหญ่ที่เรียกว่า slug โดยเครื่องตอกเม็ดชนิดพิเศษ แล้วนำ slug ที่ได้มาลดขนาด ก็จะทำให้ได้แกรนูล วิธีนี้มีข้อดี คือ ตัวยาจะไม่สัมผัสกับความชื้นและความร้อนในกระบวนการผลิตเลย จึงเหมาะกับการเตรียมตัวยาที่เสื่อมสลายง่าย

ใน patents 6,350,470 (2002) และ 6,509,306 (2003) โดย Cima Labs Inc ได้อธิบายถึงกลไกของการใช้ยาพองฟูเพื่อเพิ่มการดูดซึมของตัวยาที่มีชีวประสิทธิผลต่ำ ในระบบทางเดินอาหาร ดังนี้

1. ลดความหนาและ/หรือความหนืดของชั้นเมือกที่เคลือบ gastrointestinal mucosa
2. ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ tight junction ระหว่างเซลล์ จึงเพิ่มการดูดซึมผ่านทาง paracellular route
3. ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใน cell membrane ทำให้ส่งเสริมการดูดซึมแบบ transcellular

4. เพิ่มสถานะ hydrophobic ใน cellular membrane

ดังนั้นการเตรียมสารสกัดจากผลมะเกี๋ยงให้อยู่ในรูปแบบของยาแกรนูลฟองฟู จะทำให้มีความสะดวกในการใช้ สารสำคัญที่มีอยู่ในสารสกัดมะเกี๋ยงมีความคงตัวดีในการเก็บรักษา และถูกดูดซึมได้อย่างสมบูรณ์ในระบบทางเดินอาหาร

2.7 ยาเม็ดเคี้ยว (Chewable tablets)

ยาเม็ดเคี้ยว (Chewable tablets) เป็นยาเม็ดที่เคี้ยวก่อนกลืน (ไม่กลืนทันที) ยาเม็ดชนิดนี้ทำขึ้นเพื่อให้ได้ยาที่รับประทานง่ายสำหรับเด็กหรือคนแก่ที่กลืนยาก ยาที่นิยมทำแบบนี้ได้แก่ยาเม็ดแอสไพรินสำหรับเด็ก ยาเม็ดวิตามินรวม ยาปฏิชีวนะบางตัว และยาเม็ดลดกรด ซึ่งตามปกติยาเม็ดลดกรด จะมีขนาดเม็ดใหญ่กลืนยาก การเคี้ยวก่อนกลืนจะทำให้กลืนง่าย และยังเป็น การลดขนาดของอนุภาค ทำให้ยาออกฤทธิ์ดีขึ้น ยาที่มีรสขม หรือรสไม่ดีไม่เหมาะที่ ทำแบบนี้ การผลิตใช้วิธีการทำแกรนูลเปียก ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้สารเพิ่มปริมาณที่เป็น mannitol, sorbitol หรือ sucrose ทำหน้าที่เป็นทั้งสารยึดเกาะและสารเพิ่มปริมาณ แล้วแต่งสีและกลิ่นรสให้รับประทาน (Ansel HC 1999)

การเตรียมสารสกัดมะเกี๋ยงให้อยู่ในรูปแบบของยาเม็ดเคี้ยว จึงช่วยให้รับประทานได้ง่ายเหมาะกับทุกเพศทุกวัย และได้รับสารสำคัญที่มีอยู่ในสารสกัดมะเกี๋ยงอย่างสมบูรณ์อีกด้วย

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ก. วัสดุ-อุปกรณ์-สารเคมี

1. AB 55 (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
2. AD 25 (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
3. Allantoin (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
4. Aluminium Chloride (AlCl₃) (Ajax, Australia)
5. Aminon (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
6. Anhydrous calcium carbonate
7. L- Ascorbic acid (Fluka, USA); Standard
8. ABTS (2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))
9. Butylated hydroxytoluene (BHT)
10. Bronidox (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
11. Cab-O-Sil
12. Carbopol 2% (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
13. Carbopol 941 (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
14. Castor oil (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
15. Cetiol (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
16. Cetomacrogol 1000 (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
17. Cetyl alcohol (บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด)
18. Cetostearyl alcohol (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
19. Citric acid (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
20. Coconut oil (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
21. Corn starch (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
22. DI water
23. 2,6-Dichlorophenol-indophenol (Merck, England)
24. DMSO (Dimethyl sulfoxide)
25. EDTA (บริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด)
26. Ethanol (องค์การสรรพสามิต ประเทศไทย)
27. Ethanol (C₂H₅OH) (Scharlau Chemie SA., Spain)
28. Eucalybtus oil (บริษัท ยูโนเต็ค เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)

29. Folin - Ciocalteu' phenol reagent (Fluka, USA)
30. Gallic acid (Fluka, USA)
31. Glacial acetic acid (HOAc) (Scharlau Chemie SA., Spain)
32. Glycerin (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
33. Glyceryl monostearate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
34. Gum acacia (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
35. Hydrochloric acid (HCl) (JT. Baker, USA)
36. Honey (บริษัท เวชพงศ์โอสถ (ฮกอันตั้ง) จำกัด)
37. Icing sugar
38. Isopropyl myristate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
39. Isopropyl palmitate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
40. Inulin (บริษัท ดีพีโอ (ไทยแลนด์) จำกัด)
41. Jojoba oil (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
42. Kaolin light (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
43. Kojic acid (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
44. Lactic acid (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
45. Lactose (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
46. Lactose monohydrate USP (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
47. Lanolin oil (บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด)
48. Lauryl sulfate tryptose broth (LST) (Merck, Germany)
49. Liquid paraffin (Mineral oil) (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
50. Maltodextrin (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
51. Methanol (บริษัท อาร์ซีไอ แล็บสแกน จำกัด)
52. Manitol (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
53. Magnesium carbonate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
54. Magnesium stearate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
55. Metaphosphoric acid (HPO₃) (Scharlau Chemie SA., Spain)
56. Methyl cellulose (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
57. Methyl paraben (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
58. Minerol oil (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
59. Modified starch (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
60. Mushroom Tyrosinase enzyme (Sigma company)
61. Na₂HPO₄

62. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
63. Conc. Paraben (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
64. Paraffin wax (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
65. PEG 40 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
66. PEG 40 stearate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
67. Peppermint oil (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
68. Petrolatum (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
69. Phenolphthalein (Merck, England)
70. Phosphomolybdic acid
71. Phosphoric acid
72. Plantacare (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
73. Polyvinylpyrrolidone K90 (PVP K90)
74. Potassium Acetate (CH_3COOK) (Ajax, Australia)
75. Potassium persulfate
76. Potato dextrose agar (PDA) (Merck, Germany)
77. Propylene glycol (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
78. Propyl paraben (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
79. Purified talcum
80. PVP K 90 (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรตติ้ง จำกัด)
81. Quercetin (Sigma, Germany)
82. Silicone oil (Ajax Finechem, Australia)
83. Silicon oil 350 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
84. Sodium bicarbonate (NaHCO_3) (Merck, England)
85. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Merck, England)
86. Sodium lauryl sulphate
87. Sodium hydroxide (NaOH) (Merck, England)
88. Sodium tungstate
89. Sorbitol (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
90. Span 20 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
91. Span 60 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
92. Span 80 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
93. Squalane (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
94. Sucralose (บริษัท ดีพีโอ (ไทยแลนด์) จำกัด)

95. Sodium cocyl isethionate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
96. Sodium chloride (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
97. Stearic acid (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
98. Stearylalcohol (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
99. Tartaric acid
100. Texapon N40 (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรดิง จำกัด)
101. Titanium dioxide (บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด)
102. Triethanolamine (บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ จำกัด)
103. Trolox
104. Tween 20 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
105. Tween 60 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
106. Tween 80 (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
107. L-Tyrosine (Sigma company) (บริษัท ยูไนเต็ด เคมีคอล แอนด์ เทรดิง จำกัด)
108. Vitamin E acetate (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
109. White bee wax (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
110. Xanthan gum (บริษัท ยูเนียน ซายน์ จำกัด)
111. Xyletol
112. ผลมะเกี๋ยงสุกแช่แข็ง (ไม่มีเมล็ด)
113. กล้วยหวานอบแห้ง (ร้านสมุนไพรลานนา ตลาดโรรอส)
114. เกลือปรงรส ตราปรงทิพย์ (บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด)
115. สารสกัดมะเกี๋ยง
116. เนื้อมะเกี๋ยงแห้งบดละเอียด(ผ่านร่งเบอร์ 60)
117. ซองลามิเนต
118. สติกเกอร์ฉลาก
119. ถุงพลาสติก
120. กระดาษสีน้ำตาล

ข. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ขวดสีชาสำหรับเก็บตัวอย่างขนาด 10 มิลลิลิตร
2. เครื่องชั่งวิเคราะห์
 - OHAUS ARC 120
 - SARTORIUS ME 2155
3. เครื่องปั่นของเหลวความเร็วสูง
4. เครื่อง spray drying
5. เครื่องวัดค่าความหนืด (Brookfield model MA 02072, LABS. INC. Stoughton, USA)
6. เครื่องวัดค่าสี (Chroma meter model CR-400, KONICA MINOLTA, Japan)
7. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer model Genesys 10 UV Scanning, USA)
8. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer, ATAGO, Japan)
9. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer, OAKTON, China)
10. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (A&D model SK-5001WP, Japan)
11. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Oertling, England)
12. เครื่องปั่นไฟฟ้า (Blender, National, Thailand)
13. เครื่องเหวี่ยงแยกแบบตะกร้า (Basket centrifuge, Thailand)
14. เครื่องทำไอศกรีม (model GAMMA 50, Corema, Canada)
15. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย
 - Condenser
 - Clevenger apparatus ชนิดเบากว่าน้ำ
 - Round bottom flask
 - Heating mantle (ELECTROMANTLE EM 0500/C MR1, ISOPAD U2/102)
16. ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม (ถ้วยชิม และ แก้วน้ำ)
17. นาฬิกาจับเวลา
18. ตู้แช่เย็น (Songserm Intercool model SDC-1000AV, Thailand)
19. ตู้แช่เยือกแข็ง (SANYO, Thailand)
20. ตู้ศึกษาความคงตัวอุณหภูมิ 30 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65% , 40 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75%
21. เครื่องวัดความแข็งของเม็ดยา
22. เครื่องวัดความกร่อนของเม็ดยา
23. เครื่องวัดการแตกกระจายตัวของเม็ดยา
24. อุปกรณ์เครื่องครัว
25. Aluminium foil
26. Beaker

27. Burette
28. Cylinder
29. Dropper
30. Gas Chromatography/Mass Spectrometry
- Shimadzu GCMS QP 2010 Plus
31. Glass cuvette
32. Hot air oven
33. Hot plate
34. Ice and ice box
35. Laminate foil
36. Micropipet
- GILSON MODEL PIPETMAN P20, P200, P1000
37. Microtube
38. Mortar and pestle
39. Multimode detector
40. Paraffin film
41. pH meter (OAKTON, China)
42. Pipette
43. Polytron[®]
44. Rotary evaporator
45. Sachet และ Sachet sealing machine
46. Spatular
47. Seive no. 8, 12, 16, 60
48. Soxhlet apparatus
49. Stirring rod
50. Thermometer
51. Test tube
52. Ultraviolet-Visible Spectrophotometer
- SPECTRONIC GENESYS2
53. Vortex mixer
- SUPER-MIXER 1291
54. Vial for headspace technique ขนาด 20 ml
55. Volumetric flask

56. Vortex mixer
57. Water bath
58. 96 Wells microplate

ค. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบสอบถาม (ดังภาคผนวก ค)

ง. โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

1. โปรแกรม Design-Expert 6.0.2 (Minneapolis, Minnesota)
2. โปรแกรม Statistix 8.1 (Analytical Software, USA)

จ. ตัวอย่างพืชสมุนไพร

ตัวอย่างผลมะเขິงเก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปางและศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงราย (ดอยยาววี)

ฉ. สัตว์ทดลอง

กระต่ายสีขาวพันธุ์ New Zealand white น้ำหนักอยู่ระหว่าง 2.0-2.5 กิโลกรัมเพศผู้อายุ 8-9 เดือน จำนวน 3 ตัว

ช. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญ 8 ชนิด มาจาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่

- *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่ผิวหนัง
- *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคที่ดื้อยาหลายชนิด
- *Salmonella enteric*
- *Vibrio cholerae*
- *Streptococcus pyogenes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากทอนซิลอักเสบ
- *Propionibacterium acnes* สายพันธุ์ก่อโรคที่แยกได้จากหนองอักเสบที่ผิวหนัง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างของผลมะเกี๋ยง จากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง และศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงราย (ตอยาวี) นำตัวอย่างผลมะเกี๋ยงที่จะใช้เตรียมสารสกัดมาทำการตรวจสอบ ดังนี้

- 1) การตรวจเอกลักษณ์ (identification) เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท (pharmacognostic characteristic) ได้แก่ ลักษณะ ทางมหภาค (macroscopic characteristic) ลักษณะทางจุลภาค (microscopic characteristic) เอกลักษณ์ทางเคมี (chemical characteristic)
- 2) สิ่งแปลกปลอม (foreign matter)
- 3) ความชื้น (moisture)
- 4) เถ้ารวม (total ash)
- 5) เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid - insoluble ash)
- 6) สารสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extractives)
- 7) การปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ (microbial contamination)
- 8) การปนเปื้อนด้วยสารพิษตกค้าง (pesticide residue contamination)
- 9) การปนเปื้อนด้วยสารหนูและโลหะหนัก (arsenic and heavy metal contamination)

2. การเตรียมสารสกัดและการควบคุมคุณภาพของสารสกัด เพื่อใช้ในการวิจัยทำการสกัดผลมะเกี๋ยงด้วยวิธีและตัวทำละลายที่เหมาะสม สารสกัดที่ได้นำไปทำให้แห้งด้วยวิธีการที่เหมาะสม จากนั้นนำมาควบคุมคุณภาพด้วยคุณสมบัติทางกายภาพเคมี โดยมีรายละเอียด ดังนี้

นำมะเกี๋ยงหรือเนื้อมะเกี๋ยงสด มาทำการคัดเลือก ลดขนาดด้วยเครื่องบดอย่างหยาบ ๆ วัตถุประสงค์บดเนื้อมะเกี๋ยงและเมล็ดมะเกี๋ยงนำมาเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) ใช้ 95 % ethanol เป็นตัวทำละลาย สกัดจนสมบูรณ์ สารสกัดที่ได้ นำไประเหยให้เข้มข้นด้วย rotary evaporator สารสกัดเข้มข้นที่ได้นำไปประเมินคุณสมบัติทางกายภาพเคมี เช่น การละลาย เทคนิคทางโครมาโทกราฟี (เช่น TLC, HPLC) ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จากนั้นนำไปศึกษาต่อไป

การหาปริมาณแอนโธไซยานิน ชนิด cyanidin-3-glucoside ด้วยวิธี HPLC

นำสกัดมะเกี๋ยง 10 มิลลิกรัม มาเติมเมธานอลเข้าให้เข้ากัน และกรองสารละลายมะเกี๋ยง จากนั้นนำไปแยกโดยใช้ 4.6 x 250 mm Allure column size 185 um, Mobile phase 0.5% formic acid : methanol; 85 :15 (v/v), flow rate 0.7 ml/min ตรวจวัดด้วย UV detector โดยใช้ค่าดูดกลืนแสงในช่วง 280 nm โดยใช้สารละลายมาตรฐานเทียบหาปริมาณ cyanidin-3-glucoside ในสารสกัด

3. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่

3.1 การตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะเข็ญในหลอดทดลอง ด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging

เตรียมสารสกัดเนื้อมะเข็ญส่วน 95 % เอทานอล ความเข้มข้น 0-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ สารมาตรฐานกรดแอสคอบิกความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงชี้ให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดเนื้อมะเข็ญในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งสามารถคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) ได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (\% inhibition)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

เมื่อ A_{control} คือค่าดูดกลืนแสงที่ไม่มีสารสกัดมะเข็ญ และ A_{sample} คือค่าดูดกลืนแสงที่มีสารสกัดมะเข็ญ

3.2 การศึกษาผลของสารสกัดเนื้อมะเข็ญ (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) ต่อระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในหนูขาว

ใช้หนูพันธุ์วีสตาร์ เพศผู้ อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 32 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ป้อนสารสกัดเนื้อมะเข็ญปริมาณ 4 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวทางปากทุกวันตลอดการทดลอง กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับ การป้อนน้ำกลั่นแทนสารสกัดมะเข็ญ กลุ่มที่ 2 ถึง 4 เป็นกลุ่มที่ได้รับสารทดสอบเนื้อมะเข็ญที่สกัดด้วย 95 % เอทานอล ความเข้มข้น 100 , 300 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเป็นเวลา 90 วัน ตามลำดับ บันทึกน้ำหนักตัวหนึ่งครั้งต่อสัปดาห์ ปริมาณอาหารและน้ำที่หนูกินสองครั้งต่อสัปดาห์ โดยในวันสุดท้ายของการทดลองทำการสับหนูด้วยไดเอซิลอีเธอร์ เปิดช่องท้องเพื่อทำการเก็บเลือดหนูเพื่อใช้วิเคราะห์ผลต่อไป ซึ่งน้ำหนักตัว ม้ามและไต และตับถูกแช่เก็บที่ -80°C เพื่อจะนำไปวิเคราะห์ทางชีวเคมีต่อไป การทดลองนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยบรรณการใช้สัตว์ทดลอง เลขที่ 4/2554

3.2.1 การวัดปริมาณ malondialdehyde (MDA) ในรูปของ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ในซีรัม

นำตัวอย่างซีรัม มาตกตะกอนโปรตีนโดยใช้ $2\text{NH}_2\text{SO}_4$ 2 มิลลิลิตร และ 10% phosphotungstic acid จากนั้นปั่นแยกเอาส่วน supernatant ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที 15 นาที วัดปริมาณ TBARS โดยนำส่วน supernatant ของซีรัมที่เตรียมมาเติม 0.33% thiobarbituric acid จากนั้นต้มที่ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยนำเอาหลอดทดลองแช่ในน้ำแข็ง จากนั้นแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาด้วยบิวทานอล จากนั้นปั่นแยกส่วนสารละลายและบิวทานอลออกจากกันที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที 15 นาที

นำเอาส่วนชั้นบิวทานอลไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยเทียบหาปริมาณ TBARS จากกราฟมาตรฐาน MDA แสดงผลในหน่วย nmol

3.2.2 การวัดปริมาณ malondialdehyde (MDA) ในรูปของ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ในตับ

นำตับหนูปั่นในสารละลาย sodium phosphate-EDTA buffer pH 7.5 ด้วยเครื่อง homogenator ที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นนำเอา homogenate ที่ได้มาเติม 50% trichloroacetic acid เพื่อตกตะกอนโปรตีนและนำมาทำการปั่นแยกเอาส่วน supernatant ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °C วัดปริมาณ TBARS โดยนำส่วน supernatant ของตัวอย่างขึ้นตั้งมาต้มกับ 0.67% thiobarbituric acid จากนั้นต้มที่ 100°C เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยนำเอาหลอดทดลองแช่ในน้ำแข็ง จากนั้นแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาด้วยบิวทานอล นำไปปั่นแยกส่วนสารละลายและบิวทานอลออกจากกันที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที 15 นาที นำเอาส่วนชั้นบิวทานอลไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยเทียบหาปริมาณ TBARS จากกราฟมาตรฐาน MDA แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน แสดงผลในหน่วย nmol/mg protein

3.2.3 การวัดปริมาณกลูตาไธโอนโดยวิธี Glutathione reductase recycling method

ปั่นชิ้นตับในสารละลาย Sodium phosphate-EDTA buffer pH 7.5 ด้วยเครื่อง homogenator ที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นนำเอา homogenate มาทำการปั่นแยกเอาส่วน supernatant โดยใช้เครื่อง centrifugator ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C นำเอาส่วน supernatant มาวิเคราะห์หาปริมาณกลูตาไธโอนโดยตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายกรด Metaphosphoric acid จากนั้นทำการปั่นแยก supernatant ด้วยเครื่อง centrifugator ทำการหาปริมาณกลูตาไธโอนโดยนำส่วนของ supernatant ของตัวอย่างขึ้นตั้งที่ทำการเตรียมโดยตกตะกอนโปรตีนแล้วมาเติมสารละลายผสมของ sodium phosphate-EDTA buffer pH 7.5, β -NADPH และ glutathione reductase ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 5 นาที พอครบเวลาทำการเติมสารละลาย 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic) acid ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีนที่ตรวจวัดด้วยวิธี Lowry method

3.2.4 การเตรียมส่วนไซโตซอลและส่วนไมโครโซม

ปั่นชั้นดับในสารละลาย homogenizing buffer จากนั้นทำการปั่นแยกเอาส่วน supernatant โดยใช้เครื่อง centrifugator ที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 4 °C นำเอาส่วน supernatant ที่ได้มาปั่นด้วย ultracentrifugator ที่ความเร็ว 30,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที อุณหภูมิ 4 °C จะได้ส่วนไซโตซอลและส่วนไมโครโซม ส่วน supernatant ของไซโตซอลถูกแบ่งเก็บใน microcentrifuge tube และแช่เก็บที่ -20 °C เพื่อจะนำไปวิเคราะห์ทางชีวเคมีต่อไป ส่วน pellet ของไมโครโซมถูกนำมาล้างด้วย homogenizing buffer จากนั้นใส่ microsomal suspension buffer และแช่เก็บไว้ที่ -80 °C เพื่อจะนำไปวิเคราะห์ทางชีวเคมีต่อไป ตรวจวัดปริมาณโปรตีนในส่วนไซโตซอลและส่วนไมโครโซมด้วยวิธี Lowry method

3.2.5 การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิด

3.2.5.1 การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ Glutathione reductase

นำเอาส่วนไซโตซอลที่เตรียมไว้มาทำการเติมสารละลายผสมของ phosphate-magnesium chloride buffer pH 7.8, oxidized glutathione, β -NADPH จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร คำนวณกัมมันตภาพของเอนไซม์โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์โมลาร์ (molar extinction coefficient) $6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ แล้วนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน

3.2.5.2 การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ glutathione peroxidase

นำเอาส่วนไซโตซอลที่เตรียมไว้มาทำการเติมสารละลายผสมของ 0.1 tris-hydrochloric acid-EDTA buffer pH 8.0, 0.1M กลูตาไรโอน, 10 U glutathione reductase และ 2mM β -NADPH ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2 นาที พอครบเวลาเติม 7mM tert-butylhydroperoxide วัดดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตรที่เวลา 30 และ 90 วินาที คำนวณกัมมันตภาพของเอนไซม์โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์โมลาร์ (molar extinction coefficient) ของ β -NADPH $6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ดังสูตรที่แสดงด้านล่าง แล้วนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน แสดงผลในหน่วย U/mg protein

3.2.5.3 การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ Catalase

นำเอาส่วนไซโตซอลที่เตรียมไว้มาทำการเติม 30 mM hydrogen peroxide, 50 mM phosphate buffer, pH 7.0 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร คำนวณกัมมันตภาพของเอนไซม์เทียบกับปริมาณโปรตีน

3.2.5.4 การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ Heme oxygenase

นำเอาส่วนไมโครโซมที่เตรียมไว้มาทำการเติมสารละลายผสมของ Potassium-phosphate containing Magnesium chloride buffer pH 7.4, β -NADPH, Glucose-6-phosphate, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, Hemin และส่วนไซโตซอลซึ่งใช้เป็นแหล่งของ Bilirubin reductase ที่ไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในที่มืด จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม Chloroform นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาทีและนำเอาส่วนชั้น chloroform มาวัดที่ความยาวคลื่น 460 และ 530 นาโนเมตร คำนวณกัมมันตภาพของเอนไซม์โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์โมลาร์ (molar extinction coefficient) 6.22 mM^{-1}cm แล้วนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน

3.2.6 วิธีการประเมินผลทางสถิติ

ในส่วนของข้อมูลที่เป็นผลการทดลองโดยมีตัวแปรหลักคือ กลุ่มการทดลอง 4 กลุ่ม ส่วนตัวแปรรองได้แก่ น้ำหนักอวัยวะต่าง ๆ ระดับกลูตาไธโอน และกัมมันตภาพของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวจะได้จากชุดการทดลอง 4 ชุดที่เป็นอิสระกัน โดยในส่วนของ การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษานั้นเบื้องต้นจะทำการวิเคราะห์ดู normality ของข้อมูลโดยสถิติ Shapiro-Wilk ซึ่งหากมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ จะเลือกใช้ Kruskal-Wallis test (nonparametric statistics) แต่ถ้าไม่มีนัยสำคัญจะเลือกใช้ โหมดการวิเคราะห์ one-way ANOVA โดยใช้สถิติ least significant difference ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการทดลองข้างต้นที่ได้ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษาที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.3 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae* (แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Propionibacterium acne* (แบคทีเรียก่อโรคในระบบผิวหนัง) ด้วยวิธี agar-diffusion

3.4 ผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

3.4.1 การเตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน

- 1) การเตรียมตัวอย่างจากสารสกัดเนื้อมะเขี๋ยง: นำสารสกัดเนื้อมะเขี๋ยง จากดอยวารี, รหัส ต และ รหัส ม ละลายใน 10 % DMSO ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 6,000 µg/ml จากนั้น เตรียมตัวอย่างในความเข้มข้นอื่น ๆ ได้แก่ 4,000, 2,000, 1,000, 500, 250, 125, และ 62.5 µg/ml
- 2) การเตรียมตัวอย่างจากสารสกัดเมล็ดมะเขี๋ยง: นำสารสกัดเมล็ดมะเขี๋ยง ในแต่ละตัวอย่าง ละลายใน 100% DMSO ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 2,000 µg/ml จากนั้น เตรียมตัวอย่างในความเข้มข้นอื่น ๆ ได้แก่ 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.625 µg/ml
- 3) การเตรียมสารมาตรฐาน Kojic acid: ทำการเตรียมสารมาตรฐาน Kojic acid ด้วย 20 mM Phosphate buffer saline (PBS) ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 1,000, 500, 200, 120, 60, 30, 15 และ 7.5 µg/ml

3.4.2 วิธีการทดสอบ

- 1) นำ sample 50 µl ใส่ในหลุมของ microplate
- 2) เติม PBS 100 µl
- 3) เติม L-tyrosine 40 µl แล้วบ่มสารผสมทิ้งไว้ 5 นาที
- 4) เติม Tyrosinase 60 µl ผสมลงไป
- 5) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ทุก 0, 15, 30 นาที
- 6) คำนวณค่า % inhibition
- 7) สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ % inhibition พร้อมทั้งหาค่า IC₅₀

ตาราง 3.1 สมการคำนวณ % Tyrosinase inhibition = $[(A-B)-(C-D)] / A-B \times 100$

Substance/well	Sample (μl)	Solvent of sample(μl)	L-tyrosine(μl)	PBS (μl)	Tyrosinase (μl)
Control(A)	-	50	40	100	60
Blank of control(B)	-	50	40	160	-
Sample(C)	50	-	40	100	60
Blank of sample(D)	50	-	40	160	-

3.5 การศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดของมะเกี๋ยง

วิธีการทดลอง

- 1) นำเลือดที่ผสมด้วย sodium heparin เจือจางด้วย steriled phosphate buffer saline (PBS)
- 2) นำเลือดที่เจือจางใส่ในหลอดทดลองที่มี Histopaque®-1077 ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 750xg นาน 30 นาที ที่ 25 °C
- 3) ดูดชั้น PBMC ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงหลอดใหม่ ล้างส่วน Histopaque®-1077 เม็ดเลือดแดง และพลาสมาที่ปนมาออกด้วย PBS ที่ 750xg นาน 15 นาที 25 °C จำนวน 2 รอบ จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง ให้เหลือเฉพาะตะกอนเซลล์
- 4) เติม complete RPMI – 1640 media ที่มี penicillin 100 U/ml, streptomycin 100 μg/ml, 25 mM NaHCO₃, 20 mM HEPES, fetal bovine serum 10% (v/v) เพาะเลี้ยงภายใต้ 5% CO₂ อุณหภูมิ 37 °C
- 5) นำเซลล์ PBMCs ปริมาณ 10⁶ cell/ml ใส่ใน 96 well culture plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 6) เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ด และเนื้อมะเกี๋ยงให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 31.25, 62.5, 125, 250, 500 μg/ml และ เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมไว้ที่มี 0.2% DMSO(vehicle control) ลงในหลุมที่ใช้เป็นหลุมควบคุม หรือหลุมที่ไม่มีสารทดสอบผสมอยู่ บ่มเซลล์ที่ 37 °C ในตู้บ่ม 5% คาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 7) เมื่อครบเวลาดูดเอาอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง เติม MTT dye solution และทำการบ่มเซลล์ที่ 37 °C ในตู้บ่ม 5% คาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- 8) เมื่อครบเวลาดูดส่วนใสทิ้งทั้งหมดเหลือเฉพาะผลึก formazan ที่ติดอยู่กับหลุม เติม DMSO ปริมาณ 200 μl/well แล้วผสมให้เข้ากัน ทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 540 nm เป็นตัววัดและ 630 nm เป็นความยาวคลื่นอ้างอิง
- 9) นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) และเขียนกราฟ

3.6 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity test) ของสารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยง

ใช้หนูพันธุ์ Wistar เพศเมียอายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 15 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ตาม OECD guideline TG425 ดังแสดงในภาพ 3.1

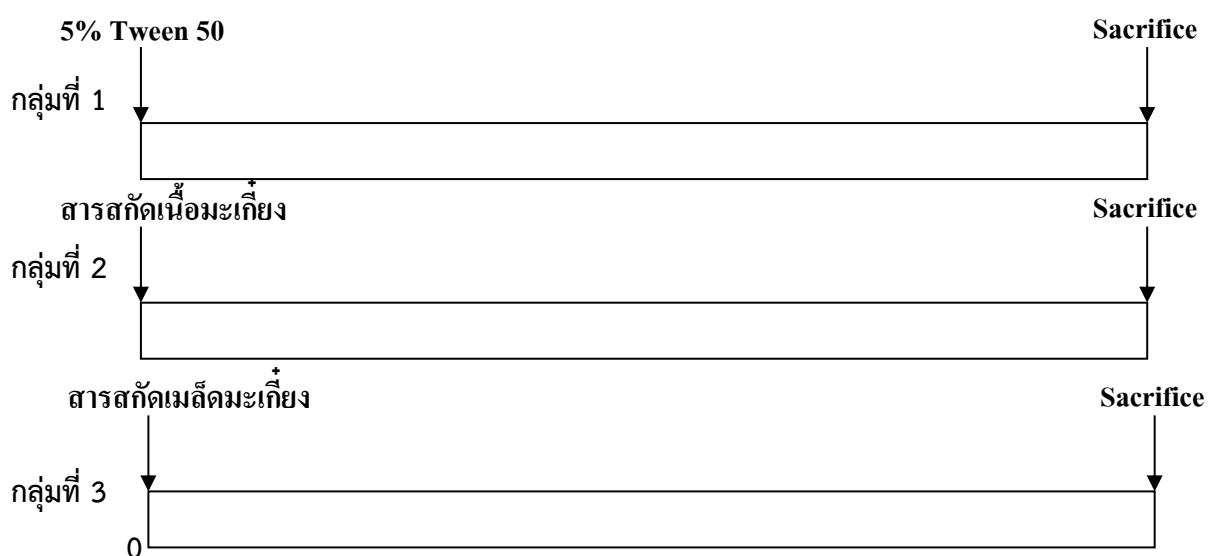
วันแรกของการทดลองทำการป้อนสารสกัดให้หนูทดลองกลุ่มละ 1 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้ตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดมะเกี๋ยงคือ 5% Tween 80 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

กลุ่มที่ 2 ให้สารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอทานอล ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 ให้สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอทานอล ความเข้มข้น 5,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนัก

สังเกตการมีชีวิตรอดของหนูหลังจากให้สาร 24 ชั่วโมง ถ้าหากหนูมีชีวิตรอดวันถัดไปทำการป้อนสารให้กับหนูที่เหลือทั้งหมดในแต่ละกลุ่มและทำการสังเกตความเป็นพิษของสารสกัดเป็นเวลา 14 วัน หลังจากครบเวลาสลับหนูด้วยไดเอทิลอีเธอร์ เก็บและชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน เช่น ตับ, ปอด, หัวใจ, ม้าม และดูความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยตาเปล่า



ภาพ 3.1 แผนภาพแสดงการศึกษาศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยง

4. พัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพสำหรับบริโภคในภาพแบบต่าง ๆ ดังนี้

4.1 เครื่องดื่มมะเขี๋ยงชนิดฟองฟู

การเตรียมยาแกรนูลสารสกัดมะเขี๋ยงฟองฟู

- เตรียมยาแกรนูลสารสกัดมะเขี๋ยงฟองฟูที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง 3.2 โดยกระบวนการทำแกรนูลแบบเปียกที่ไม่ใช้น้ำ ทำการบดผสมส่วนประกอบต่าง ๆ ในโถร่ง และใช้เทคนิคการผสมด้วยการเจือจางเชิงอนุกรมเรขาคณิต จนได้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปผ่านแรงเบอร์ 12 และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C จึงนำมาลดขนาดอีกครั้ง โดยใช้แรงเบอร์ 16 บรรจุแกรนูลที่ได้ลงในซองลามิเนต ปิดผนึก
- นำผลิตภัณฑ์ยาแกรนูลไปประเมินคุณภาพในด้านต่าง ๆ คือ ลักษณะภายนอก สี กลิ่น การแตกกระจาย การละลาย รสชาติ ค่าความเป็นกรด-ด่าง
- คัดเลือกตำรับที่มีผลการประเมินดีที่สุดในปริมาณมาก
- ทำการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ตามเกณฑ์กำหนด และประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้

ตาราง 3.2 การพัฒนาตำรับยาแกรนูลมะเขี๋ยงฟองฟู

ลำดับ ที่	องค์ประกอบของตำรับ	ตำรับที่						
		1	2	3	4	5	6	7
1	สารสกัดมะเขี๋ยง	5.0	5.0	5.0	5.0	3.0	3.0	3.0
2	Citric acid	2.4	2.18	2.4	2.18	2.4	2.18	3.0
3	Tartaric acid	4.8		4.8	-	4.8	-	4.8
4	Sodium bicarbonate	7.8	2.32	7.8	2.32	7.8	2.32	7.8
5	Anhydrous sodium bicarbonate	-	0.50	-	0.50	-	0.50	-
6	Lactose	-	-	15	15	9	9	10
	รวม	20	10	30	25	27	17	28.6

4.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมะเขี๋ยงเข้มข้น

4.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการทำให้เข้มข้นโดยเทคนิคการทำให้เข้มข้น แบบแช่เยือกแข็ง

วางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (faced center) โดยมีปัจจัยที่ศึกษาได้แก่เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง (20 – 40 นาที) และเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง (3 – 7 นาที) ทำให้ได้น้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้นจำนวน 9 สิ่งทดลอง ดังตาราง 3.3 โดยทุกสิ่งทดลองกำหนดให้หน่วยทดลอง คือ น้ำมะเขี๋ยงสกัดปริมาณ 500 กรัมที่มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 3.1 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 2.0 องศาบริกซ์และมีการควบคุมอุณหภูมิเริ่มต้นของน้ำมะเขี๋ยงสกัด เท่ากับ 10 °C ก่อนนำเข้าเครื่องทำไอศกรีม

กระบวนการผลิตน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้น ดังภาพ 3.2 โดยเตรียมได้จากผลมะเขี๋ยงสุกแช่แข็งที่ได้เอาเมล็ดออกแล้ว มาทำการละลายน้ำแข็งโดยวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเป็นขั้นตอนของการสกัดน้ำมะเขี๋ยง โดยนำผลมะเขี๋ยงสุกไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ แล้วทำการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเนื้อมะเขี๋ยงออกจากน้ำมะเขี๋ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตะกร้า ก็จะได้น้ำมะเขี๋ยงสกัด จากนั้นนำน้ำมะเขี๋ยงที่สกัดได้ไปทำให้เข้มข้นต่อ โดยใช้เทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง เตรียมได้จากน้ำมะเขี๋ยงสกัด ปริมาณ 500 กรัม ที่ควบคุมอุณหภูมิเริ่มต้นของน้ำมะเขี๋ยงสกัด เท่ากับ 10 องศาเซลเซียส นำไปสร้างผลึกน้ำแข็งด้วยเครื่องทำไอศกรีม ซึ่งเป็นการแช่เยือกแข็งแบบมีการกวนโดยใช้การหมุนของใบพัด แล้วทำการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกผลึกน้ำแข็งออกจากน้ำมะเขี๋ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตะกร้า จะได้น้ำมะเขี๋ยงสกัด

จากนั้นนำสิ่งทดลองที่ได้ทั้งหมด มาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพได้แก่ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้น(pH)ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้น (°Brix) ปริมาณน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้นที่ได้ (ร้อยละ) และปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ (ร้อยละ) โดยการคำนวณ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยนำค่าที่ได้ไปทำการ optimize ด้วยวิธี numerical โดยใช้โปรแกรม Design Expert 6.0.2 เพื่อหาเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่เหมาะสมโดยกำหนดปัจจัยให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้นสูงสุด ปริมาณน้ำมะเขี๋ยงสกัดเข้มข้นต่ำสุด และปริมาณผลึกน้ำแข็งสูงสุด

ตาราง 3.3 สิ่งทดลองที่ได้เมื่อใช้เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่ต่างกัน

สิ่งทดลอง	เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง (นาที)	เวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง (นาที)
1 (Cry20/Cen3)	20.00	3.00
2 (Cry40/Cen3)	40.00	3.00
3 (Cry20/Cen7)	20.00	7.00
4 (Cry40/Cen7)	40.00	7.00
5 (Cry20/Cen5)	20.00	5.00
6 (Cry40/Cen5)	40.00	5.00
7 (Cry30/Cen3)	30.00	3.00
8 (Cry30/Cen7)	30.00	7.00
9 (Cry30/Cen5)	30.00	5.00

Cry คือ เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง (นาที) Cen คือเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง (นาที)



ภาพ 3.2 แผนภาพแสดงกรรมวิธีการผลิตน้ำมะเกลือสกัดเข้มข้น

4.2.2 การศึกษาแนวโน้มของค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น

วางแผนการทดลองแบบ 3^2 Factorial in CRD โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเริ่มต้น (2, 3 และ 4 องศาบริกซ์) และจำนวนรอบในการทำเข้มข้น (1, 2 และ 3 รอบ) ทำให้ได้น้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นจำนวน 9 สิ่งทดลอง ดังตาราง 3.4 ทำการผลิตน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นตามวิธีการในการทดลองที่ 4.2.1 และสถานะที่ใช้ในการทำให้เข้มข้นโดยเทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็งที่ได้จากผลการทดลองที่ 4.2.1 คือ ใช้เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง 40 นาที และเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง 3 นาที จากนั้นนำน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้ทั้งหมด มาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistix 8.1 ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) เพื่อทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่เป็นผลของปัจจัยทดลองในแง่อิทธิพลหลัก (Main effect) และอิทธิพลร่วม (Interaction effect) ของทั้งสองปัจจัย

ตาราง 3.4 สิ่งทดลองระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเริ่มต้นและจำนวนรอบในการทำเข้มข้น

สิ่งทดลอง	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเริ่มต้น(°Brix)	จำนวนรอบในการทำเข้มข้น(รอบ)
1 (Raw2/Cycle1)	2.0	1
2 (Raw3/Cycle1)	3.0	1
3 (Raw4/Cycle1)	4.0	1
4 (Raw2/Cycle2)	2.0	2
5 (Raw3/Cycle2)	3.0	2
6 (Raw4/Cycle2)	4.0	2
7 (Raw2/Cycle3)	2.0	3
8 (Raw3/Cycle3)	3.0	3
9 (Raw4/Cycle3)	4.0	3

Raw คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเริ่มต้น (°Brix)

Cycle คือ จำนวนรอบในการทำเข้มข้น (รอบ)

4.2.3 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมของน้ำมะเกี๋ยงสกัดเข้มข้น

วางแผนการทดลองแบบ Mixture (D-optimal) โดยผันแปรปริมาณอินูลิน (ร้อยละ 5 - 10) กัมอารบิก (ร้อยละ 0-5) และซูคราโลส (ร้อยละ 0 - 0.03) สำหรับส่วนผสมเริ่มต้น ประกอบด้วยน้ำมะเกี๋ยงเข้มข้นที่สกัดได้จากการทดลองที่ 4.2.2 คือ น้ำมะเกี๋ยงสกัดเข้มข้น 9 องศาบริกซ์ร้อยละ 100 และเกลือร้อยละ 0.05 จะได้สิ่งทดลองทั้งหมด 13 สิ่งทดลอง ดังตาราง 3.5 จากนั้นนำน้ำมะเกี๋ยงสกัดเข้มข้นที่ได้ทั้งหมดไปทำการประเมินค่าทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้บริโภคนจำนวน 20 คน และวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยนำค่าที่ได้ไปทำการ optimize ด้วยวิธี numerical โดยใช้โปรแกรม Design Expert 6.0.2 เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมโดยกำหนดปัจจัย คือ ค่าคะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ ให้มีค่ามากกว่า 6 คะแนน

ตาราง 3.5 ปริมาณอินูลิน กัมอารบิก และซูคราโลส ที่ใช้เป็นส่วนผสมของน้ำมะเกี๋ยงสกัดเข้มข้น

สิ่งทดลอง	อินูลิน (ร้อยละ)	กัมอารบิก (ร้อยละ)	ซูคราโลส (ร้อยละ)
1 (I10/A0/S0)	10.00	0.00	0.00
2 (I5/A5/S0)	5.00	5.00	0.00
3 (I7.5/A2.5/S0)	7.50	2.50	0.00
4 (I9.97/A0/S0.03)	9.97	0.00	0.03
5 (I5/A4.97/S0.03)	5.00	4.97	0.03
6 (I7.48/A2.48/S0.03)	7.48	2.48	0.03
7 (I7.49/A2.49/S0.02)	7.49	2.49	0.02
8 (I8.73/A1.25/S0.02)	8.73	1.25	0.02
9. (I6.25/A3.73/S0.02)	6.25	3.73	0.02
10 (I8.32/A1.67/S0.01)	8.32	1.67	0.01
11 (I5/A5/S0)	5.00	5.00	0.00
12 (I10/A0/S0)	10.00	0.00	0.00
13 (I9.97/A0/S0.03)	9.97	0.00	0.03

I – อินูลิน, A – กัมอารบิก, S - ซูคราโลส

4.2.4 การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมะเขีงสกัดเข้มข้น

เครื่องดื่มน้ำมะเขีงสกัดเข้มข้นที่ผ่านการพัฒนาตามสูตรและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมในขั้นตอนต่าง ๆ ดังกล่าวจะถูกนำมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ดังนี้

คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพได้แก่

- ค่าสีระบบ L* a* b* โดยเครื่อง Chroma meter
- ค่าความหนืด (cP) โดยเครื่อง Brookfield
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (^oBrix) โดยเครื่อง Hand refractometer
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter
- ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดด้วยวิธีการไตเตรท (AOAC, 1998)
- ปริมาณวิตามินซี ด้วยวิธีการไตเตรท (AOAC, 1998)
- ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดดัดแปลงตามวิธีการของ Ranganna (1977)
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดดัดแปลงตามวิธีการของ Singleton and Rossi (1965)
- ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดดัดแปลงตามวิธีการของ Chang *et al.* (2002)

คุณภาพทางจุลินทรีย์ได้แก่

- ปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมด (Andrews, 1992)
- ยีสต์และรา (Andrews, 1992)

โดยนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistix 8.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนโดย analysis of variance, ANOVA จากนั้นหาความแตกต่างปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ของเครื่องดื่มน้ำมะเขีงสกัดเข้มข้นที่พัฒนาได้และผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงกันมากที่สุดที่มีในท้องตลาดโดยวิธี Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3 ผลิตรภัณฑ์เพื่อสุขภาพชนิดเม็ด

4.3.1 การเตรียมยาเม็ดเคี้ยวสารสกัดมะเกี๋ยง

- เตรียมยาเม็ดเคี้ยวสารสกัดมะเกี๋ยง ที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง 1.6 โดยกระบวนการทำแกรนูลแบบเปียก โดยการบดผสมส่วนประกอบต่าง ๆ ในโกร่ง และใช้เทคนิคการผสมด้วยการเจือจางเชิงอนุกรมเรขาคณิต จนได้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปผ่านร่งเบอร์ 12 และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในตู้อบไฟฟ้า จนมีปริมาณน้ำหนักรักษาเมื่อทำให้แห้งน้อยกว่า 5 % จึงนำมาลดขนาดอีกครั้ง โดยใช้ร่งเบอร์ 16 นำแกรนูลที่ได้ไปผสมสารช่วยหล่อลื่นและสารช่วยไหล บรรจุยาเม็ดที่ได้น้ำหนักของลามีเนต ปิดผนึก
- นำผลิตภัณฑ์ยาเม็ดไปประเมินคุณภาพในด้านต่าง ๆ คือ ลักษณะภายนอก สี การแตกกระจาย รสชาติ ค่าความเป็นกรด-ด่าง
- คัดเลือกตำรับที่มีผลการประเมินดีที่สุดไปผลิตในปริมาณมาก
- ทำการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ตามเกณฑ์กำหนด และประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้

ตาราง 3.6 ตำรับยาเม็ดเคี้ยวมะเกี๋ยง

ลำดับ ที่	องค์ประกอบของตำรับ	ตำรับที่					
		1	2	3	4	5	6
1	สารสกัดมะเกี๋ยง	2	0.5	3	-	-	2.0
2	เนื้อมะเกี๋ยงบด	-	5.0	3.8	2.5	2.0	2.0
3	แลคโตส	7	10	10	5.0	6.0	6.0
4	แป้งข้าวโพด	1	-	-	-	-	-
5	Mannitol	0.5	2.5	2.5	-	-	-
6	Xyletol	0.5	2.5	2.5	-	-	-
7	Icing sugar	1.0	2.5	2.5	-	-	-
8	PVP K90 5 % w/w in water	-	-	-	0.22	0.17	0.13
9	Purified talc 3 %	0.36	0.69	0.73	0.23	0.25	0.30
10	Magnesium stearate 1 %	0.12	0.23	0.24	0.08	0.08	0.10
11	Cab-O-Sil 1 %	0.12	0.23	0.24	-	-	-
	รวม	12.6	24.15	25.51	8.03	8.5	10.53

ตาราง 3.7 ตำรับยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยงที่เพิ่มปริมาณการผลิตในปริมาณมาก

ลำดับที่	รายการ	ปริมาณที่ผลิต		
		1 เม็ด(มก.)	1,500 เม็ด(ก.)	หมายเหตุ
1	สารสกัดมะเขี๋ยง	200	300	
2	เนื้อมะเขี๋ยงบดผ่านแรงเบอร์ 60	200	300	
3	แลคโตส	600	900	
4	PVP K90 5 % w/w in water	15	22.5	
5	Purified talc. 3 %	30	45	
6	Magnesium stearate 1 %	10	15	
7	Cap-O-Sil 1 %	10	15	
	รวม	1,065 ก.	1,597.5	

วิธีเตรียม

- 1.ผสมสารสกัดมะเขี๋ยงกับแลคโตส
- 2.เติมเนื้อมะเขี๋ยงบด
- 3.เตรียมสารละลาย PVP K 90 5% ในน้ำ 500 มล.
- 4.ค่อยๆเติมสารละลาย PVP จนได้ wet mass
- 5.ผ่านแรงเบอร์ 8 อบที่ 50 °C จนมีค่า LOD น้อยกว่า 5 %
6. ผ่านแรงเบอร์ 16 ชั่งน้ำหนัก แกรนูลที่ได้
- 7.คำนวณหาปริมาณสารหล่อลื่นที่ใช้ (Purified Talc 3%, Magnesium stearate 1%, Cap-O-Sil 0.5%)
- 8.ผสมสารหล่อลื่นนาน 2 นาที
- 9.นำแกรนูลไปตอกโดยให้มีน้ำหนักเม็ดละ 1.065 g ความแข็งมากกว่า 8 กก.
- 10.สุ่มเม็ดยาที่ได้มาควบคุมคุณภาพในหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้
 - 10.1 ลักษณะภายนอกที่ปรากฏ (10 เม็ด)
 - 10.2 ความแปรปรวนของน้ำหนักเม็ดยา (20 เม็ด)
 - 10.3 ความแข็ง(10 เม็ด)
 - 10.4 ความกร่อน (20 เม็ด)
 - 10.5 การแตกตัว(6 เม็ด)
 - 10.6 ความเป็นกรด-ด่าง(3 เม็ด)
 - 10.7 ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์(100 เม็ด)

11. นำเม็ดยาไปศึกษาความคงตัว ดังนี้

11.1 อุณหภูมิ 30 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % เก็บตัวอย่างที่ 0, 1, 3, 6 เดือน
(ประเมินเหมือนหัวข้อที่ 10.1-10.6)

11.2 อุณหภูมิ 40 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % เก็บตัวอย่างที่ 0, 1, 3, 6 เดือน
(ประเมินเหมือนหัวข้อที่ 10.1-10.6)

12. ประเมินความพึงพอใจ

13. สรุปผลและจัดทำรายงาน

4.3.2 การควบคุมคุณภาพของเม็ดยา จากหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

1. จากการผลิตยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยง ปริมาณ 1,500 เม็ด โดยเริ่มต้นได้ปริมาณแกรนูล 1,412.21 g คิดจากน้ำหนักยาหนึ่งเม็ด ซึ่งหนัก 1.065 g คำนวณได้เม็ดยา 1,326 เม็ด แต่จากการผลิตได้เม็ดยา 1,243 เม็ด คิดเป็น 93.74 เปอร์เซ็นต์จากแกรนูลทั้งหมด

2. การทดสอบ drug stability ทั้ง physical test และ chemical test

นำเม็ดยาที่ตอกได้มาทำการทดสอบ Drug Stability โดยหัวข้อที่ต้องทดสอบคือ

- **ลักษณะภายนอกที่ปรากฏ** : สังเกต ลักษณะ รูปร่าง กลิ่น สี ของยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยง โดยสุ่มมาจำนวน 10 เม็ด

- **ความแข็ง** : วัดความแข็งด้วยเครื่อง Tablet hardness tester จำนวน 10 เม็ด

- **Weight variation** : ชั่งน้ำหนักยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยงโดยสุ่มมาชั่งจำนวน 20 เม็ด

- **การดูดความชื้น** : นำยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยงมาชั่งน้ำหนักทีละเม็ด เป็นจำนวน 10 เม็ด จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงชั่งใหม่อีกครั้ง

- **สี กลิ่น รส** : ใช้วิธีการให้ผู้อื่นชิมเป็นจำนวนอย่างน้อย 30 คน แล้วตอบแบบประเมินความพึงพอใจ

- **ความเป็นกรด-ด่าง** : สุ่มยาออกมาจำนวน 3 เม็ด ละลายในน้ำกลั่นปริมาตรน้อยที่สุดที่ทำให้เม็ดยาละลาย วัดความเป็นกรดต่างด้วยกระดาษ universal indicator

- **การแตกตัว** : วัดความเร็วในการแตกตัวด้วยเครื่องวัดการกระจายตัวของยาเม็ด โดยใช้ยาเม็ดเคี้ยวมะเขี๋ยง 1 เม็ดต่อ 1 basket เป็นจำนวน 6 เม็ด ที่น้ำอุณหภูมิ 37.7°C เริ่มดูเวลาที่เม็ดแรกแตกตัวจนหายไปหมดถึงเม็ดสุดท้ายแตกตัวสลายจนหมด

- **ความกรอบ** : ชั่งยาเม็ดจำนวน 20 เม็ดจากนั้นนำไปหมุนในเครื่องวัดความกรอบยาเม็ด 100 รอบหรือ 4 นาที จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักทั้ง 20 เม็ดอีกครั้ง

- **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ** : สุ่มตัวอย่างเม็ดยามาจำนวน 10 เม็ด ละลายในน้ำปริมาตรน้อยที่สุดที่สามารถละลายได้หมด จากนั้นกรองให้ได้สารละลายใส แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำปฏิกิริยากับ DPPH เทียบกับ standard คือ Trolox

วิธีการหา DPPH radical scavenging assay

1. เตรียม Stock solution DPPH ให้มีความเข้มข้น 2.4 mg/mL ด้วยตัวทำละลาย ethanol (ก่อนนำไปใช้ ทำการ Dilute สารละลาย DPPH ด้วยตัวทำละลาย แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 520 nm ให้อยู่ในช่วง 0.9-1.0)
2. เตรียม Stock solution ของสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/mL แล้วทำการ Dilute สารละลายมาตรฐานให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.008-0.1 mg/mL
3. เตรียม Stock solution ของสารละลายตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/mL แล้วทำการ Dilute สารละลายตัวอย่างให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.008-0.5 mg/mL หรือแล้วแต่ความเหมาะสม
4. ทำการวัดตัวอย่างโดยเติมสารละลายต่าง ๆ ลงใน micro plate 96 well ดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 แสดงปริมาตรสารละลายที่ใส่ลงใน micro plate 96 well

Method	Sample or Std.(μ L)	Et.OH (μ L)	DPPH(μ L)
Blank	20	180	0
Test	20	0	180
Positive test	0	20	180
Negative test	0	200	0

5. ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาสมบูรณ์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 520 nm
 6. นำค่าที่ได้มาคำนวณ % DPPH scavenging ตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Inhibition} = A_c - A_t / A_c \times 100$$
 เมื่อ A_c = ค่า Abs ของ Control (ค่าเฉลี่ยของ Abs Pos. – Abs Neg.)
 A_t = ค่า Abs ของ Test
 7. นำค่าที่ได้มา plot graph เพื่อหา สมการเส้นตรง $y = ax + b$
 8. คำนวณหาค่า TEAC ของตัวอย่าง และรายงานผลในหน่วยของ mg/ml sample
- ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

4.4 ชาผลไม้ปั่นบ้านเพื่อสุขภาพ

4.4.1 กระบวนการผลิตชามะเกี๋ยง

วิธีการเตรียมวัตถุดิบ

- 1) เทเนื้อมะเกี๋ยงปราศจากเมล็ด และเกลี่ยบนภาชนะเคลือบนิย่มให้ทั่ว
- 2) นำไปอบแห้งที่ตู้อบลมร้อนจนได้ความชื้นสุดท้าย $\leq 6\%$
- 3) ทิ้งให้เย็นแล้วนำไปบรรจุใส่ในถุงพลาสติก Oriented Polypropylene (OPP) ทำการปิดปากถุงด้วยเครื่องปิดปากถุง

วิธีการเตรียมชามะเกี๋ยง

- 1) นำมะเกี๋ยงที่ผ่านการอบแห้งจนได้ความชื้นสุดท้าย $\leq 6\%$ มาชั่งน้ำหนักตามสูตร
- 2) บรรจุซองชาสำหรับชงและทำการปิดผนึก
- 3) นำซองชามาบรรจุใส่ในถุงพลาสติก oriented polypropylene (OPP) ทำการปิดปากถุงด้วยเครื่องปิดปากถุงอีกครั้ง

4.4.2 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งมะเกี๋ยง

ในการหาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งมะเกี๋ยงได้วางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) โดยได้กำหนดปัจจัยหลัก 2 ปัจจัยที่ใช้ในการผันแปรคือ อุณหภูมิอยู่ในช่วง $60-90^{\circ}\text{C}$ และเวลาอยู่ในช่วง 120-240 นาที ใช้ความเร็วลมในการอบเท่ากับ 5 โดยกำหนดให้มี replicates of factorial points เท่ากับ 1 replicates of axial (star) points เท่ากับ 1 และ center points เท่ากับ 2 ได้สิ่งทดลองดังตาราง 3.9 แล้วหาความสัมพันธ์ของค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น (%wb) ปริมาณน้ำอิสระ (A_w) และความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยควบคุมอุณหภูมิของน้ำเดือดที่ใช้ในการชงชาปริมาณของน้ำที่ใช้ในการชงชา ให้คงที่

ตาราง 3.9 การศึกษาหาอิทธิพลของอุณหภูมิ และเวลาที่มีผลต่อมะเกี๋ยงอบแห้ง

Treatments	Temperatures ($^{\circ}\text{C}$)	Time (Minute)
1	60.00	120.00
2	90.00	120.00
3	60.00	240.00
4	90.00	240.00
5	53.79	180.00
6	96.21	180.00
7	75.00	95.15
8	75.00	264.85
9	75.00	180.00
10	75.00	180.00

การทดลองที่ 2 การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้ง

ในการทดลองนี้ได้แบ่งแบบสอบถามออกเป็นสองส่วนโดยส่วนแรกเป็นแบบสำรวจความต้องการของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้ง และส่วนที่สองการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้งโดยวิธี 9 point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 200 คน คุณลักษณะที่ใช้ทดสอบคือ สี รสเปรี้ยว กลิ่นรสมะเกี๋ยง ความรู้สึกหลังกลืน และความชอบโดยรวมวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Microsoft Office Excel 2007

การทดลองที่ 3 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้งผสมหญ้าหวานอบแห้ง

ในการทดลองนี้ได้ทำการสำรวจผู้บริโภคจำนวน 50 คนมาทำการชิมชาจากมะเกี๋ยงอบแห้งผสมหญ้าหวานอบแห้ง โดยการนำผลิตภัณฑ์ชามะเกี๋ยงอบแห้งผสมหญ้าหวานอบแห้งในปริมาณการใช้มะเกี๋ยงอบแห้ง 1.5 กรัม และหญ้าหวานอบแห้ง 0.5 กรัมบรรจุลงในซองชาสำหรับชง นำไปชงให้ผู้ทดสอบชิมเพื่อให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะในด้านสี กลิ่นรสมะเกี๋ยง รสเปรี้ยว รสหวาน ความรู้สึกหลังกลืน ความชอบโดยรวมโดยวิธี 9 point hedonic scale และให้ผู้ทดสอบทำการทดสอบโดยวิธี Just-About-Right (JAR) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสมะเกี๋ยง รสเปรี้ยว และรสหวาน วิเคราะห์ทางด้านกายภาพ pH เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวโน้มในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

การทดลองที่ 4 การศึกษาหาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้งผสมหญ้าหวานอบแห้ง

ศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างมะเกี๋ยงอบแห้ง และหญ้าหวานอบแห้งเพื่อผลิตเป็นชา โดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD กำหนดปัจจัยที่ศึกษา 3 ระดับในแต่ละปัจจัยดังตาราง 3.10 แล้วนำไปชงให้ผู้ทดสอบชิม ($n = 50$) เพื่อให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะในด้านสี กลิ่นรสมะเกี๋ยง รสเปรี้ยว รสหวาน ความรู้สึกหลังกลืน ความชอบโดยรวมโดยวิธี 9 point hedonic scale แล้วนำคะแนนความชอบที่ได้ไปวิเคราะห์หาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งโดยใช้ Response surface ใน 3-Level Factorial และทำการวิเคราะห์ทางกายภาพค่าสี ($L^* a^* b^*$) และ pH เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวโน้มในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ตาราง 3.10 อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างมะเขี๋ยงอบแห้งและหย้าหวานอบแห้งในแต่ละสิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	มะเขี๋ยงอบแห้ง (กรัม)	หย้าหวานอบแห้ง (กรัม)
1	1.50	0.25
2	2.00	0.25
3	2.50	0.25
4	1.50	0.50
5	2.00	0.50
6	2.50	0.50
7	1.50	0.75
8	2.00	0.75
9	2.50	0.75

การทดลองที่ 5 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเขี๋ยงอบแห้งผสมหย้าหวานอบแห้งผลิตภัณฑ์สุดท้าย

นำผลิตภัณฑ์ชามะเขี๋ยงผสมหย้าหวานที่ประกอบด้วยมะเขี๋ยงอบแห้ง 1.5 กรัม และหย้าหวานอบแห้ง 0.38 กรัม ไปทดสอบกับผู้ทดสอบจำนวน 50 คน โดยวิธี 9 point hedonic scale ในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสมะเขี๋ยง รสเปรี้ยว รสหวาน ความรู้สึกหลังกลืน และความชอบโดยรวม และทดสอบความพอดี (JAR) ในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นรสมะเขี๋ยง รสเปรี้ยว รสหวานพร้อมทั้งนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด, ร้อยละความชื้น, ปริมาณน้ำอิสระ, ค่าสี(L* a* b*), pH, ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, ปริมาณยีสต์ และเชื้อรา โดยควบคุม เวลาชงชา อุณหภูมิและ ปริมาตรของน้ำที่ใช้ชงชาให้คงที่

การทดลองที่ 6 การทดสอบความคงตัวของชามะเขี๋ยง

ตำรับ ชาชงมะเขี๋ยง		
เนื้อมะเขี๋ยง	1.6	g
อบเชย	0.1	g
ชะเอม	0.3	g

วิธีการชงชาสมุนไพร

- ตวงน้ำร้อนปริมาตร 150 ml ด้วยถ้วยตวงใส่ลงในแก้วกระดาษ
- แช่ซองชาลงไปเป็นเวลา 3, 5 นาที ขณะแช่ชาให้เขย่าซองชาขึ้นลง
- หลังจากครบเวลาแล้วให้นำซองชาออก แล้วเก็บตัวอย่าง ที่เวลา 3 และ 5 นาที



รูปการชงชา



รูปชาชงมะเกี๋ยง

ภาพ 3.3 รูปการชงชา

ทดสอบฤทธิ์ antioxidant โดยวิธี DPPH assay โดยมีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

- 1) เตรียม Stock solution DPPH ให้มีความเข้มข้น 2.4 mg/ml ด้วย Absolute EtOH (ก่อนนำไปใช้ทำการ dilute สารละลาย DPPH ด้วย Absolute EtOH แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ให้มีค่า Abs อยู่ในช่วง 0.9-1.0)
- 2) เตรียม Stock solution ของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml แล้วทำการ dilute สารละลายมาตรฐานให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.008 – 0.1 mg/ml
- 3) เตรียม sample โดยนำตัวอย่างชาชงมะเกี๋ยงแช่ในน้ำร้อนปริมาตร 150 mL (การเตรียม sample ทำเหมือนวิธีการชงชาปกติ) แบ่ง sample มา 1 mL ใส่ Eppendorfs เพื่อนำไปทดลอง
- 4) ทำการวัดตัวอย่างโดยเติมสารละลายต่าง ๆ ลงใน micro plate 96 well ดังตาราง 3.11

ตาราง 3.11 แสดงปริมาตรสารละลายที่ใส่ลงใน micro plate 96 well

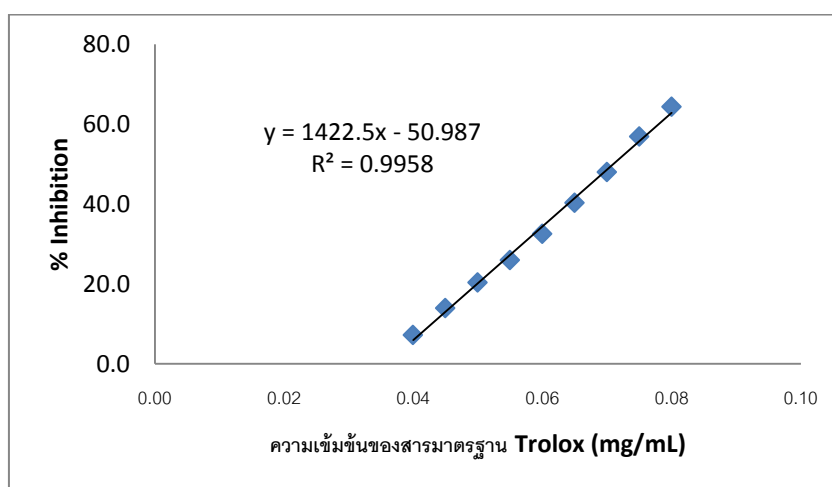
Method	Sample or Std. (μL)	EtOH (μL)	DPPH (μL)
Blank	20	180	0
Test	20	0	180
Positive test	0	20	180
Negative test	0	200	0

5. ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง ที่ความยาวคลื่น 520 nm
6. นำค่าที่ได้มาคำนวณ % DPPH scavenging ตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH scavenging} = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$
 เมื่อ Ac = ค่า Abs ของ control (ค่าเฉลี่ยของ Abs Pos. - Abs Neg.)
 At = ค่า Abs ของ Test
7. นำค่าที่ได้มา plot graph เพื่อหาสมการของ standard curve ($y = mx + c$)
8. นำค่าที่ได้ของ sample มาคำนวณหาค่า % DPPH scavenging ตามสูตร และเทียบกับ Standard curve

ตาราง 3.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox และ % inhibition

Conc. Trolox (mg/mL)	%inhibition
0.040	7.16
0.045	13.92
0.050	20.35
0.055	25.97
0.060	32.51
0.065	40.30
0.070	47.94
0.075	56.83
0.080	64.29



ภาพ 3.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของสารมาตรฐาน Trolox และ % inhibition

5. พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากมะเกี๋ยง

พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากมะเกี๋ยง 1 ชุด ที่ประกอบด้วย ผลิตภัณฑ์อาบน้ำ (สบู่น้ำ อาบน้ำ เจลล้างหน้า) ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว หรือผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่ (ครีม โลชั่น ผลิตภัณฑ์พอกผิว และ เซรั่ม) มีรายละเอียดในการดำเนินการ ดังนี้

5.1 นำสารสกัดมาตรฐานมาศึกษาก่อนตั้งตำรับ ได้แก่

5.1.1 การทดสอบการละลายของสารสกัดในตัวทำละลายต่าง ๆ

การทดสอบการละลายของสารสกัด ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น, 95 % ethanol, glycerin, popylene glycol, cetiol, mineral oil , 10 % tween 20, 20 % tween 20 โดยเติมตัวทำละลายในสารสกัดให้มีความเข้มข้น 1:10 โดยน้ำหนัก ต่อปริมาตร เขย่าด้วย vortex mixer ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตลักษณะการละลายที่ได้ จากนั้นทดสอบความคงสภาพของสารละลายดังกล่าว

5.1.2 การทดสอบความคงสภาพต่อความเป็นกรดแก่และด่างแก่ของสารสกัด

เติมกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 20% N และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 M ลงในสารละลายของสารสกัดเพื่อปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 (โดยให้ค่า pH ของสารละลายสารสกัดที่ยังไม่ได้เติมกรดหรือเบสเป็นตัวควบคุม) สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเกิดขึ้นทันที และเมื่อเก็บสารละลายสารสกัดดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิห้องที่ป้องกันแสง , อุณหภูมิ 4°C , 45°C และระบบ Heating/Cooling สลับกัน 6 รอบ เป็นเวลา 6 เดือน

5.2 การศึกษาการระคายเคืองเบื้องต้นของสารสกัดในกระต่าย

5.2.1 การเตรียมและคัดเลือกสัตว์ทดลอง

คัดเลือกเฉพาะกระต่ายที่มีสุขภาพแข็งแรงดี ไม่เคยผ่านการทดสอบ ก่อนทำการทดสอบให้โกนขนที่หลังกระต่ายทั้ง 2 ข้างของแนวกระดูกสันหลัง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังโกนเสร็จตรวจสอบความผิดปกติของผิวหนังกระต่าย

5.2.2 การทดสอบ

แบ่งหลังกระต่ายออกเป็น 2 ด้านตามแนวสันหลัง ปิดด้วยผ้าก๊อช (gauze patch) ขนาด 25×25 มิลลิเมตร ซึ่งป้ายสารสกัดที่เตรียมไว้จำนวน 1 มิลลิลิตรต่อแผ่น โดยเรียงจากด้านศีรษะมาสู่หางของกระต่าย เมื่อครบ 4 ชั่วโมงนำผ้าก๊อชออกแล้วเช็ดด้วยน้ำ ทิ้งให้แห้งเมื่อครบเวลาแกะสำลีออกแล้วเช็ดด้วยน้ำทิ้งให้แห้ง ทำการประเมินผลเมื่อครบเวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยให้คะแนนอาการบวม และแดงของแต่ละตำแหน่ง นำคะแนนที่ได้ไปเทียบกับตาราง PDII

5.3 ทำการพัฒนาสูตรตำรับต่าง ๆ

5.3.1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์พอกหน้า (Face mask)

ในการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์พอกหน้า ได้เตรียมตำรับพื้นทั้งหมด 10 สูตร (M1A-M1D, M2A-M2F) โดยมีส่วนผสมของ kaolin light, magnesium carbonate, titanium dioxide, glycerin, corn starch, vitamin E acetate, ดินสอพอง, xanthan gum, methyl cellulose, conc. paraben และ water ปริมาณต่าง ๆ กัน ในตำรับ

การประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านต่าง ๆ ได้แก่
สมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด (ตั้ง

รายละเอียดข้างต้น)

ความคงตัวต่อแสง อุณหภูมิต่าง ๆ (ตั้งรายละเอียดข้างต้น)

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานที่กำหนดในเภสัชตำรับยาไทย (Thai Pharmacopoeia) TP supplement 2005 การทดสอบทำได้ โดยการตรวจหาการเจริญของเชื้อบ่งชี้การปนเปื้อน ในหน่วยของ colony forming unit ดังนี้

- 1) Total viable aerobic count (Bacteria และ Fungi) ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน nutrient agar และ potato dextrose agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2) Enterobacteria ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน coliform agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) *Escherichia coli* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน brilliance *E.coli* coliform agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4) *Staphylococcus aureus* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน mannitol salt agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5) *Salmonella* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Salmonella-shigella agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6) Pathogenic *clostridium* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Columbia blood agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5.3.2 การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว (Body Lotion)

ในการเตรียมตำรับโลชั่นบำรุงผิว ได้เตรียมตำรับพื้นทั้งหมด 10 สูตร (1A-4A, 1B-3B, 1C-3C) โดยมีส่วนผสมของ stearic acid, cetyl alcohol, jojoba oil, isopropyl palmitate, lanolin alcohol, squalane, glyceryl monostearate, vitamin E acetate, propylene glycol, tween 80, mineral oil, conc. paraben และ water ปริมาณต่าง ๆ กัน ในตำรับ

การประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านต่าง ๆ ได้แก่

สมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด (ดังรายละเอียดข้างต้น)

ความคงตัวต่อแสง อุณหภูมิต่าง ๆ (ดังรายละเอียดข้างต้น)

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานที่กำหนดในเภสัชตำรับยาไทย (Thai Pharmacopoeia) TP supplement 2005 การทดสอบทำได้โดยการตรวจหาการเจริญของเชื้อบ่งชี้การปนเปื้อน ในหน่วยของ colony forming unit ดังนี้

- 1) Total viable aerobic count (Bacteria และ Fungi) ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน nutrient agar และ potato dextrose agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2) Enterobacteria ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน coliform agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) *Escherichia coli* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน brilliance *E.coli* coliform agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4) *Staphylococcus aureus* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน mannitol salt agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5) *Salmonella* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Salmonella-shigella agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6) Pathogenic *Clostridium* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Columbia blood agar ภายหลังการกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5.3.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่เหลวอาบน้ำ (Body wash)

1) การพัฒนาสบู่เหลวพื้นฐาน

จากการพัฒนาสบู่เหลวพื้นฐาน ได้สูตรที่มีความคงตัวดี และมีการใช้งานที่เหมาะสม เมื่อเติมสารสกัดมะเกี๋ยง นำไปทดสอบที่สภาวะ คือ ที่ อุณหภูมิ 5 °C , อุณหภูมิ 45 °C, อุณหภูมิห้องมืด, อุณหภูมิห้องสว่าง, อุณหภูมิ 30°C 65 %, อุณหภูมิ 40°C 75% และ cycling เป็นเวลา เริ่มต้น (T = 0), 1 เดือน, 3 เดือน และ 6 เดือน ปรากฏว่า เนื้อของสบู่เหลวมะเกี๋ยง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ไม่เกิดการแยกชั้น เว้นแต่ สีของสบู่เหลว เมื่อผ่านการทำ stability เป็นเวลา 3 เดือน สีเริ่มจางลง และคงที่ที่เวลา 6 เดือน จึงได้ดำเนินการปรับปรุงสูตรสบู่เหลวมะเกี๋ยง โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ เพื่อปรับค่าความเป็นกรดต่างของสบู่เหลว และ ศึกษาความคงตัวของสบู่เหลวต่อไป

วิธีทดลอง

สูตรสบู่เหลวที่จะปรับปรุงเพิ่มความคงตัว มีดังนี้

ตาราง 3.13 สูตรสบู่เหลวที่จะปรับปรุงเพิ่มความคงตัว

ลำดับ	สารองค์ประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
1	Texapon N40 [®]	10
2	plantacare [®]	4
3	Aminon [®]	3
4	Glycerin	5
5	Bronidox [®]	0.05
6	Eucalyptus oil	0.45
7	Propylene glycol	5
8	AB 55 [®]	5
9	Water	15.5

วิธีเตรียม

1. คนผสม 1 2 3 4 และ 8 ตามลำดับเติมน้ำลงไป
2. ผสม 6 เข้ากับ 7 เติมนลงใน 1
3. เติม 5 ลงไป

2) การเตรียมสารละลาย Citrate-Phosphate Buffer pH 5.4

1. เตรียมสารละลาย A: Citric acid 0.1 M ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 19.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร)
2. เตรียมสารละลาย B: Dibasic Sodium Phosphate 0.2 M ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) 53.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร หรือ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 71.17 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร)
3. ผสมสารละลาย A 22.2 มิลลิลิตร เข้ากับสารละลาย B 27.8 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

3) ตั้งตำรับสบู่เหลวที่มีมะเขีงและบัฟเฟอร์

สูตรสบู่เหลว ผสมสารละลายบัฟเฟอร์ ในสูตร Y8* มีดังนี้

ตาราง 3.14 สูตรสบู่เหลว ผสมสารละลายบัฟเฟอร์ ในสูตร Y8*

สารองค์ประกอบ	สูตร Y8	สูตร Y8*
	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาณ (กรัม)
Texapon N40 [®]	10	10
plantacare [®]	4	4
Aminon [®]	3	3
Glycerin	5	5
Bronidox [®]	0.05	0.05
Eucalyptus oil	0.45	0.45
Propylene glycol	5	5
AB 55 [®]	5	5
Water	15.5	-
สารสกัดมะเขีง	-	0.5 กรัม
สารละลาย อะซีเตดบัฟเฟอร์	-	14 กรัม

การเตรียมสบู่เหลวเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1 สูตร (Y8*) ที่ปรับความเป็นกรดต่างได้ใช้ สารละลายอะซีเตดบัฟเฟอร์ในข้อ 2 แทนปริมาณน้ำในสูตร

4) การประเมินคุณภาพด้านกายภาพ

นำสบู์เหลว สูตร Y8* มาศึกษาสี กลิ่น ความเป็นกรด ต่าง การแยกชั้น การเกิดฟองอากาศ และความหนืด ผลิตภัณฑ์ที่ได้ ประเมินคุณภาพ หลังตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปศึกษาความคงตัวตามสภาวะต่าง ๆ โดย ทดสอบความเสถียรของฟอง

5) ศึกษาความคงตัวทางกายภาพของสบู์เหลว สูตร Y8*

โดยดำเนินการขยายขนาดการผลิต แบ่งบรรจุผลิตภัณฑ์ในขวดแก้ว ปริมาณเท่ากันสภาวะละ 3 ขวด ปิดผนึกให้สนิท ชั่งน้ำหนักและห่อด้วย กระดาษกันแสง เก็บในสภาวะ ดังนี้ อุณหภูมิ 30 °C และ 40 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % และ 75 % ตามลำดับ เก็บตัวอย่าง ณ เวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน

- เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ที่มีด และที่สว่าง เป็นเวลา 3 และ / หรือ 6 เดือน
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 3 เดือน
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 เดือน
- เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C 24 ชั่วโมง สลับกับที่ 45 °C 24 ชั่วโมง

ผลิตภัณฑ์จากการศึกษาความคงตัวนำมาประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น ความเป็น กรด ต่าง การแยกชั้น การเกิดจุลินทรีย์ การเกิดฟองอากาศ และความหนืดผลิตภัณฑ์

5.3.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างหน้า

- 1) พัฒนาจากองค์ความรู้เรื่องเจล และศึกษาสารชำระล้าง สารองค์ประกอบที่ไม่ระคายเคือง โดยใช้หลักการเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมเจลทั่วไป เตรียมเจลที่มีความคงตัว ไม่มีน้ำแยกตัวออกมา (การเตรียมต้องระวังการเกิดฟองอากาศ และในผลิตภัณฑ์สุดท้ายหากมีฟองอากาศค้างอยู่ เม็ดฟองต้องมีขนาดสม่ำเสมอ)
- 2) นำไปศึกษาความคงสภาพเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์สบู์เหลวอาบน้ำ
- 3) ตั้งเจลทิ้งไว้ เพื่อให้แน่ใจว่าเจลนั้นคงสภาพ จึงละลายสารสกัดมะเกี๋ยงและผสมให้เข้ากัน
- 4) นำเจลที่ผสมสารสกัดมะเกี๋ยงไปศึกษาความคงสภาพเช่นเดียวกับเจลพื้น

การประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านต่าง ๆ ได้แก่

สมบัติทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด (ตั้งรายละเอียดข้างต้น)

ความคงตัวต่อแสง อุณหภูมิต่าง ๆ (ตั้งรายละเอียดข้างต้น)

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานที่กำหนดในเภสัชตำรับยาไทย (Thai Pharmacopoeia) TP supplement 2005 การทดสอบทำได้โดยการตรวจหาการเจริญของเชื้อบ่งชี้การปนเปื้อน ในหน่วยของ colony forming unit ดังนี้

- 1) Total viable aerobic count (Bacteria และ Fungi) ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน nutrient agar และ potato dextrose agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2) Enterobacteria ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน coliform agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) *Escherichia coli* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน brilliance *E.coli* coliform agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4) *Staphylococcus aureus* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน mannitol salt agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5) *Salmonella* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน *Salmonella-shigella* agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6) Pathogenic *Clostridium* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Columbia blood agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5.3.5 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงมือ/ครีมบำรุงผิว

ภายหลังศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดมะเกี๋ยง ทราบค่าการละลายและวิธีการเพิ่มการละลาย โดยใช้สารลดแรงตึงผิว วิธีดำเนินการเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงมือ ดำเนินการได้ดังนี้

- 1) พัฒนายาพื้นให้มีความหลากหลายโดยเน้นให้มีคุณสมบัติตามประโยชน์ที่จะนำไปใช้ และมีความเข้ากันได้กับสารสกัด นำมาปรับความเป็นกรด-ด่าง และศึกษาความคงตัวของยาพื้น
- 2) ประเมินผลยาพื้นทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความหนืด ความคงตัวต่อแสง
- 3) ศึกษาความคงสภาพยาพื้นในสภาวะอุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C โดยทำการเก็บ ดังนี้
 - เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 และ / หรือ 6 เดือน
 - เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 3 เดือน
 - เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 เดือน
 - เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C 48 ชั่วโมง สลับกับที่ 45 °C 48 ชั่วโมง
- 4) ตั้งตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงมือโดยใช้ข้อมูลจากข้อ 1) – 3) ใช้สารสกัด 0.1% ในตำรับ โดยละลายสารสกัดในตัวทำละลายที่เหมาะสม และใช้หลัก incorporation เติมลงไปนในครีมพื้นที่เลือก
- 5) ขยายการผลิตจำนวนมาก เพื่อศึกษาอีกครั้งหนึ่ง นำครีมที่ผ่านการทดสอบเบื้องต้น ให้อาสาสมัคร ประเมินความพึงพอใจเบื้องต้น โดยสร้างแบบสอบถามที่มีคะแนน 5 ระดับ เพื่อประเมินก่อนเลือกสูตรครีมพื้นที่เหมาะสม ศึกษาความคงสภาพตามหลักการที่กล่าวมาแล้ว

5.3.5.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว

จากการพัฒนาครีมพื้น และ ครีมมะเกี๋ยง ได้ครีมมะเกี๋ยงที่พัฒนาและมีความคงตัว มี 2 สูตร สูตร RXB มีความหนืด 1.710 ± 0.069 Pas ประกอบด้วย Glyceryl monostearate, Cetyl alcohol, Petrolatum, Mineral oil, Isopropyl myristate, Avocado oil, BHT, PEG- 40 stearate, Silicone oil pH 6.04 มีรูปแบบการไหลแบบ pseudoplastic ที่มีสมบัติ thixotropy ซึ่งเป็นรูปแบบที่พึงประสงค์

ครีมมะเกี๋ยงสูตร E มีความหนืด 5.280 ± 0.117 Pas pH 6.02 ประกอบด้วย Glyceryl monostearate, Stearic acid, Cetostearyl alcohol, Isopropyl myristate, Polyethylene glycol 600, Silicone oil, BHT, Vitamin E acetate มีรูปแบบการไหลเช่นเดียวกันกับสูตร RXB

ครีมมะเกี๋ยงที่เลือกในการวิจัยครั้งนี้ คือ RXB แม้ว่าความคงตัวดีทั้งสองสูตร แต่เนื่องจากสูตร RXB สี ไม่เปลี่ยนแปลง จึงเลือกครีมมะเกี๋ยง RXB ซึ่งมีความเป็นกรด ต่าง 6.04 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการใช้ในอาสาสมัครต่อไป



ภาพ 3.5 ครีมมะเกี๋ยง RXB

การทดลองมีวิธีการตามลำดับคือ

การขยายการผลิตครีม RXB ที่ผ่านการทดสอบความคงสภาพ

เตรียมครีมโดยการหลอมวัฏภาคน้ำและน้ำมันแยกกันที่อุณหภูมิ 75 °ซ แล้วเติมสารสกัดมะเกี๋ยงลงในน้ำ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นแบบใบพัดจนได้ครีม จากนั้นนำครีมที่เตรียมได้ไปผ่านเครื่อง Polytron[®] ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ครีมที่ขยายขนาด ทำได้ ปริมาณ 1 กิโลกรัม

ตาราง 3.15 สูตร ครีมที่เตรียมเพื่อใช้ศึกษาความปลอดภัยและ ประสิทธิภาพ

วัฏภาค	สารเคมี	ปริมาณ (g)
oil	Glyceryl monostearate	4
	Cetyl alcohol	4
	Petrolatum	2
	Mineral oil	2
	Isopropyl myristate	1
	Avocado oil	2
	BHT	0.01
	Emulsifier	3
	Silicone oil	2.5

water	Carbopol 941 2%	8
	Conc.paraben	1
	TEA	1
	Water	67.5

2. การประเมินสมบัติครีมบำรุงผิวจากสารสกัดมะเกี๋ยง

ลักษณะทางกายภาพประเมินมีดังนี้

1. สี และกลิ่นของครีม
2. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของครีมบำรุง วัดโดยการใช้เครื่อง pH meter
3. ความหนืด โดยการสังเกตการไหลของครีมบำรุงออกจากภาชนะบรรจุ และวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield® model LVDVIII Rheometer, Scientific promotion Co., Ltd.,England) ก่อนและหลังการทดสอบความคงสภาพตามกำหนด
4. ความเหนอะหนะ โดยการนำครีมบำรุงผิวมาทาบนผิวหนังบนหลังแขน ซึ่งจะต้งไม่ก่อให้เกิด ความเหนอะหนะที่มากเกินไป
5. การแผ่กระจายบนผิว โดยการทาครีมบำรุงผิวหนึ่งลงบนหลังแขน ครีมที่ดีควรที่จะแผ่กระจายบนผิวได้มาก
6. การแยกชั้นหลังการปั่นเหวี่ยงทำโดยการนำครีมบำรุงผิวมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 2500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ครีมบำรุงที่ดีต้องไม่แยกชั้น

3. การดำเนินการเกี่ยวกับอาสาสมัครเพื่อทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัย

3.1 ยื่นข้อเสนอโครงการต่อคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย

จัดเตรียมเอกสารคำขอการรับรองเชิงจริยธรรมในการทำวิจัยที่เกี่ยวข้องกับคน ข้อมูลพื้นฐานจริยธรรม ข้อมูลสำหรับอาสาสมัคร หนังสือแสดงความยินยอมของอาสาสมัคร ประวัติหัวหน้าโครงการ และแบบสอบถาม เพื่อยื่นเรื่องต่อคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการขอรับการพิจารณาอนุมัติให้มีการดำเนินการวิจัยในมนุษย์

3.2 การคัดเลือกอาสาสมัคร

การศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว จึงเลือกใช้อาสาสมัคร อายุ 32-50 ปีขึ้นไปซึ่งอยู่ในช่วงอายุปัจฉิมวัยตามหลักการแพทย์แผนไทย จำนวน 20 คน ไม่มีอาการหรือลักษณะดังต่อไปนี้

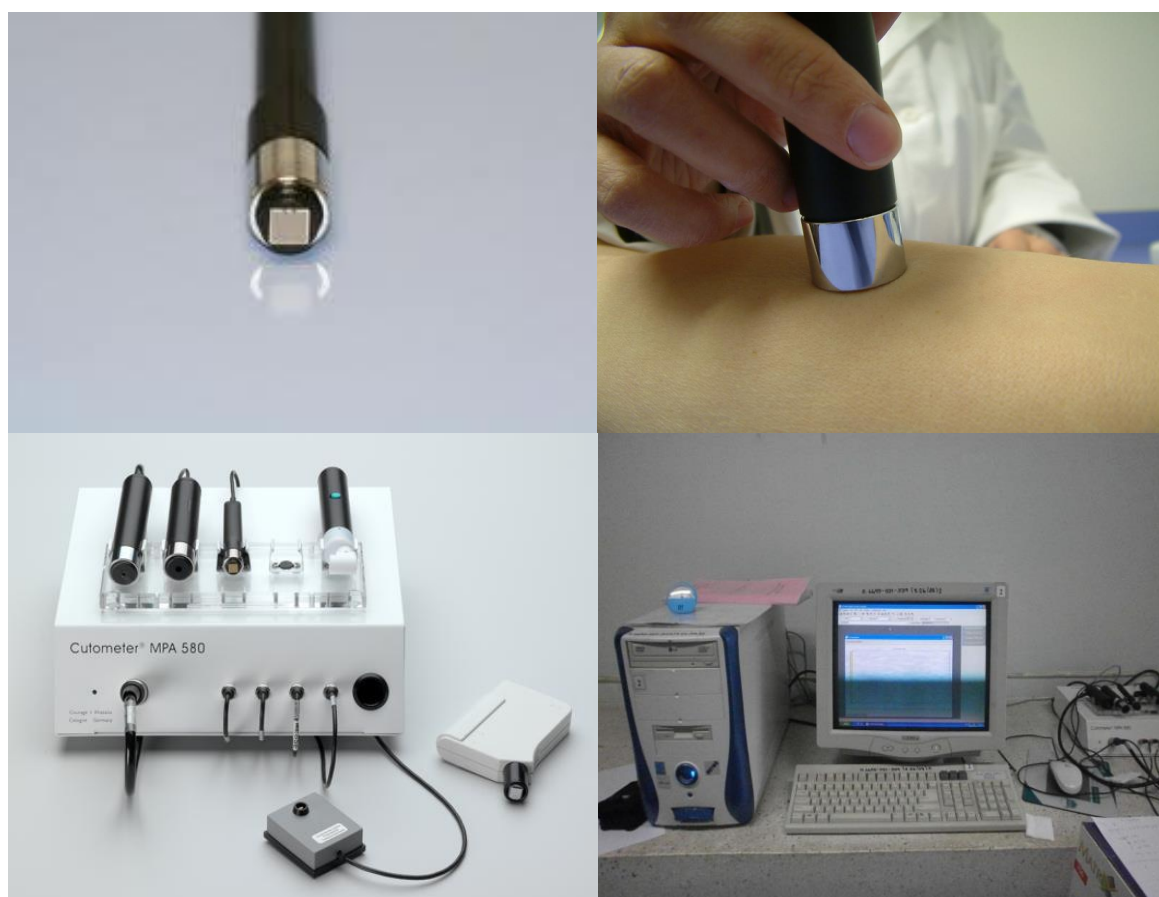
- 1) เป็นโรคเกี่ยวกับผิวหนัง เช่น ผื่นแพ้
- 2) อยู่ระหว่างการรับประทานยาแก้แพ้หรือยาใดๆ

- 3) มีประวัติเป็นโรคภูมิแพ้ทางผิวหนัง
- 4) มีผิวหนังไม่สม่ำเสมอ (ในบริเวณที่ต้องการวัด)
- 5) ผิวหนังถลอก, เป็นแผล หรืออยู่ในสภาพผิดปกติ

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการใช้ในอาสาสมัคร (Performance test)

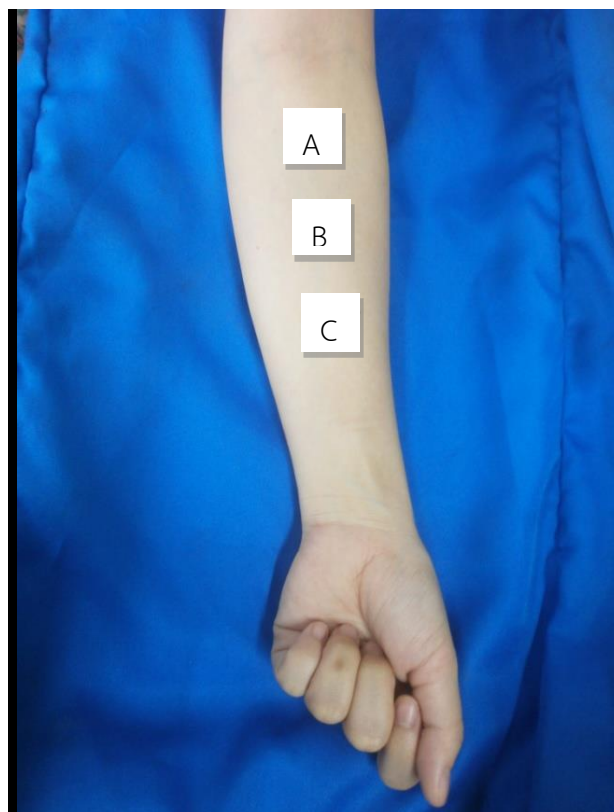
3.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพความชุ่มชื้นของผิวหนังในอาสาสมัคร

วิเคราะห์ความชุ่มชื้นในผิวหนังอาสาสมัครโดยใช้เครื่อง Corneometer® วัดความชุ่มชื้นของผิว เพื่อประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในการให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวพรรณ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการบำรุงผิวและชะลอริ้วรอย หน่วยเป็นร้อยละ คำนวณจาก corneometer value ซึ่งมีค่า 0-130



ภาพ 3.6 แสดงเครื่อง Corneometer®

โดยทำการวัดความชุ่มชื้น ริ้วรอยและความหยาบละเอียดของผิวหนังบริเวณแขนด้านในของอาสาสมัครก่อนการใช้,วันที่ 7 และ 14 วัน หลังการทดลองใช้ผลิตภัณฑ์วันละ 2 เวลาเช้าและเย็นหลังอาบน้ำ ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 14 วัน หรือ 2 สัปดาห์ ทั้งหมด 3 ตำรับ ได้แก่ ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด (A), ครีมมะเกี๋ยง (B) และ ครีมพื้มะเกี๋ยง (C) ทาผลิตภัณฑ์ในบริเวณที่กำหนดดังภาพ 3.7



ภาพ 3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของตำรับต่อผิวหนังในอาสาสมัคร

โดยกำหนด A = ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด

B = ครีมมะเกี๋ยง

C = ครีมพื้มะเกี๋ยง

แต่ละตำแหน่ง A B C มีระยะห่าง 1.5 ซม. ระหว่างกัน การทาครีมในตำแหน่งที่ต้องการ โดยใช้กระดาษที่ตัดเป็นช่องสี่เหลี่ยมตามตำแหน่ง เพื่อให้อาสาสมัครใช้วางทาบทาบนผิวหนัง

3.3.2 การประเมินการระคายเคือง (Patch test) ในอาสาสมัคร

การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังในอาสาสมัครเนื่องด้วยอาจมีองค์ประกอบบางชนิดที่ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังในอาสาสมัครบางราย เช่นสารลดแรงตึงผิวบางชนิด จึงอาจทำให้ผิวหนังเกิดผื่นแพ้ อาจมีอาการบวม แดง หรือคันในบริเวณผิวหนังที่ทดสอบใช้ผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังในมนุษย์ โดยดำเนินการดังนี้

วิธีการทำ

ทำโดยการใช้ผ้าฝ้ายหรือผ้าสักหลาดขนาด 2 - 3 ตารางเซนติเมตร ทาผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทดสอบประมาณ 100-300 มิลลิกรัมบนผ้าดังกล่าวแล้วนำไปปิดบริเวณผิวหนังด้านในของท้องแขน จากนั้นใช้แผ่นปิดกั้นน้ำขนาด 5 ตารางเซนติเมตรปิดทับ โดยทำประมาณ 4-6 อัน รวมทั้งมีการทำ control โดยใช้ผ้าเปล่าที่ไม่มีผลิตภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์อื่นแปะเพื่อเป็นตัวเทียบเคียง ทิ้งไว้นาน 24-72 ชั่วโมงแล้วแกะออกดูผลที่เกิดขึ้นภายหลังจากที่แกะออกแล้วนานครึ่งชั่วโมง ระวังการอ่านผลผิดพลาด เนื่องจากอาจมีการแพ้จากพลาสติกได้ โดยส่วนของผิวหนังที่มีพลาสติกจะเกิดรอยแดง ส่วนที่ทาผลิตภัณฑ์จะขาว

ขนาดความรุนแรงของผิวหนังที่เกิดการอักเสบแบ่งออกเป็น 4 ขนาดโดย

- +1 หมายถึง ขนาดที่ทำให้ผิวหนังบวมแดงแต่ไม่นูน
- +2 หมายถึง ขนาดที่ทำให้ผิวหนังบวมแดงและนูน
- +3 หมายถึง ขนาดที่ทำให้ผิวหนังเป็นตุ่มมีน้ำเหลืองขังภายใน
- +4 หมายถึง ขนาดที่ทำให้ผิวหนังพอง เปื่อยเป็นแผลและเน่า

ตำรับครีมที่จะนำมาทดสอบมีจำนวน 3 ตำรับ ดังนี้

- หมายเลข A ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด
- หมายเลข B ครีมพื้นแบบไม่มีสารสกัดมะเกี๋ยง
- หมายเลข C ครีมแบบมีสารสกัดมะเกี๋ยง

3.3.3 การประเมินความพึงพอใจของผู้บริโภค

อาสาสมัครจะประเมินผลิตภัณฑ์เพื่อสำรวจความพึงพอใจหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ครั้งแรก และเมื่อครบระยะเวลา 1 เดือน ใช้แบบสอบถามเพื่อประเมินความพึงพอใจในการใช้ครีมบำรุงผิวมะเกี๋ยงด้านต่าง ๆ ดังนี้

- 1) สี กลิ่นและความเนียนละเอียดของเนื้อตำรับ
- 2) ความรู้สึกเหนอะหนะเมื่อทาผิว
- 3) ความรู้สึกเป็นมันเมื่อทาผิว
- 4) การเกิดปื้นขาวเมื่อทาผิว
- 5) ผลโดยรวมของการใช้ครีมบำรุง

5.3.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซีรัมที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ซีรัมที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

ในการพัฒนาตำรับซีรัม ได้เตรียมซีรัมพื้นทั้งหมด 10 สูตร (M1-M10) โดยมีส่วนผสมของ Jojoba oil, isopropyl palmitate, cyclomethicone, carbopol, propylene glycol, mineral oil, methyl paraben, propyl paraben และ water ปริมาณต่าง ๆ กัน ในตำรับ จากนั้นทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของซีรัมพื้นที่พัฒนาได้ ศึกษาความคงตัวของตำรับซีรัมพื้นที่พัฒนาได้ ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยงลงในซีรัมพื้นที่คัดเลือก ทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของซีรัมที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง ทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของครีมพื้นที่เตรียมได้ ได้แก่ สี กลิ่น การกระจายตัวบนผิวหนัง ความเนียนเมื่อทาบนผิวหนัง ความเหนอะหนะ pH การแยกชั้น

2. ศึกษาความคงตัวของตำรับซีรัมที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

ซีรัมพื้นที่ผสมสารสกัดมะเกี๋ยงที่เตรียมได้จะถูกนำไปเก็บไว้ที่ 3 อุณหภูมิด้วยกัน คือ ที่ 4 องศาเซลเซียส, 45 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 และ 3 เดือน และซีรัมอีกส่วนหนึ่งจะนำไปทำ Heating-cooling cycle 6 รอบ โดยเก็บผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมงสลับกับ 45 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง รวมทั้งสิ้น 6 รอบ แล้วนำมาประเมิน และ บันทึกผล

3. การทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของตำรับ

โกนขนรอบบริเวณลำตัวของกระต่าย ใช้ผ้าก๊อชชุบสารที่ต้องการทดสอบมาปิดบริเวณผิวที่เตรียมไว้ ปิดทับด้วยพลาสติก ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง ประเมินผล

4. การทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของผลิตภัณฑ์ที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

กลุ่มประชากร

ใช้อาสาสมัครทั้งชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 30 - 50 ปี มีสุขภาพดี และมีสัญชาติไทย จำนวนทั้งหมด 30 คน ที่สมัครใจและลงลายมือชื่อยินยอมการเข้าร่วมวิจัยในโครงการนี้

สารที่ใช้ทดสอบ

- โลชันพื้น (A)
- โลชันผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (B)
- ซีรัมพื้น (C)
- ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (D)
- 1 % w/v sodium lauryl ether sulfate (SLES) ใช้เป็น positive control (+)

วิธีการทดลอง

การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในอาสาสมัคร

- 1) ทำความสะอาดแผ่นหลังด้านบนของอาสาสมัครโดยเช็ดด้วยน้ำสะอาด
- 2) เตรียม Finn chambers โดยบรรจุสารทดสอบ ได้แก่ 1% w/v SLES โลชันพื้นที่ไม่ได้ผสมสารสกัด ซีรัมพื้นที่ไม่ได้ผสมสารสกัด โลชันผสมสารสกัดมะเกี๋ยง ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง และช่องเปล่า
- 3) ปิด Finn chambers ที่เตรียมบนบริเวณแผ่นหลังอาสาสมัครที่เตรียมไว้ ปิดไว้ 48 ชั่วโมง
- 4) เมื่อครบเวลาที่กำหนดดึงแผ่นแปะออก ประเมินอาการระคายเคืองด้วย Draize scoring system ณ เวลาที่ 1 ชั่วโมง, 24 ชั่วโมง, 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังนำแผ่นแปะออก



ภาพ 3.8 การติด Finn chamber บนแผ่นหลังด้านบนของอาสาสมัคร

เกณฑ์การประเมินอาการระคายเคือง (Draize scoring system)

การประเมินอาการระคายเคืองพิจารณาจากอาการแดง (erythema) และอาการบวม (edema) โดยสังเกตอาการและให้คะแนนดังตาราง 3.16 และ 3.17

ตาราง 3.16: การประเมินอาการแดง (erythema formation)

อาการ	คะแนน
<ul style="list-style-type: none"> ● ไม่มีอาการแดง (no erythema) 	0
<ul style="list-style-type: none"> ● แดงเล็กน้อย (very slightly erythema) 	1
<ul style="list-style-type: none"> ● แดงชัดเจน (well-defined erythema) 	2
<ul style="list-style-type: none"> ● แดงปานกลางถึงแดงมาก (moderate to severe erythema) 	3
<ul style="list-style-type: none"> ● แดงมากและเกิดสะเก็ดแผล (severe erythema to eschar formation) 	4

ตาราง 3.17 การประเมินอาการบวม (edema formation)

อาการ	คะแนน
<ul style="list-style-type: none"> ● ไม่มีอาการบวม (no edema) 	0
<ul style="list-style-type: none"> ● บวมเล็กน้อย (very slightly edema) 	1
<ul style="list-style-type: none"> ● บวมเล็กน้อย ขอบชัดเจน (slightly edema – edges of area well defined) 	2
<ul style="list-style-type: none"> ● บวมปานกลาง นูนประมาณ 1 มิลลิเมตร (moderate edema) 	3
<ul style="list-style-type: none"> ● บวมมาก นูนมากกว่า 1 มิลลิเมตรและมีการลุกลามขยาย (severe edema) 	4

จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลรวมระหว่างค่าเฉลี่ยอาการแดงและอาการบวมของแต่ละเวลา แทนค่าด้วย PDI แล้วหาค่าเฉลี่ยของ PDI ที่เวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ของสารที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิด แทนค่าด้วย Primary Dermal Irritation Index (PDII) แล้วจำแนกชนิดของการก่อระคายเคืองดังตาราง 3.18

ตาราง 3.18 การจำแนกชนิดของการก่อระคายเคือง (classification system)

PDII	ชนิดของการก่อระคายเคือง
< 0.5	ไม่ก่อระคายเคือง (non-irritating)
0.5 – 2.0	ก่อระคายเคืองเล็กน้อย (slightly irritating)
2.1 – 5.0	ก่อระคายเคืองปานกลาง (moderately irritating)
> 5.0	ก่อระคายเคืองรุนแรง (severely irritating)

5. การทดสอบทางคลินิกของผลิตภัณฑ์ที่ผสมสารสกัดจากมะเขือขิง

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่

- โลชั่นพื้น (A)
- โลชั่นผสมสารสกัดมะเขือขิง (B)
- ซีรัมพื้น (C)
- ซีรัมผสมสารสกัดมะเขือขิง (D)

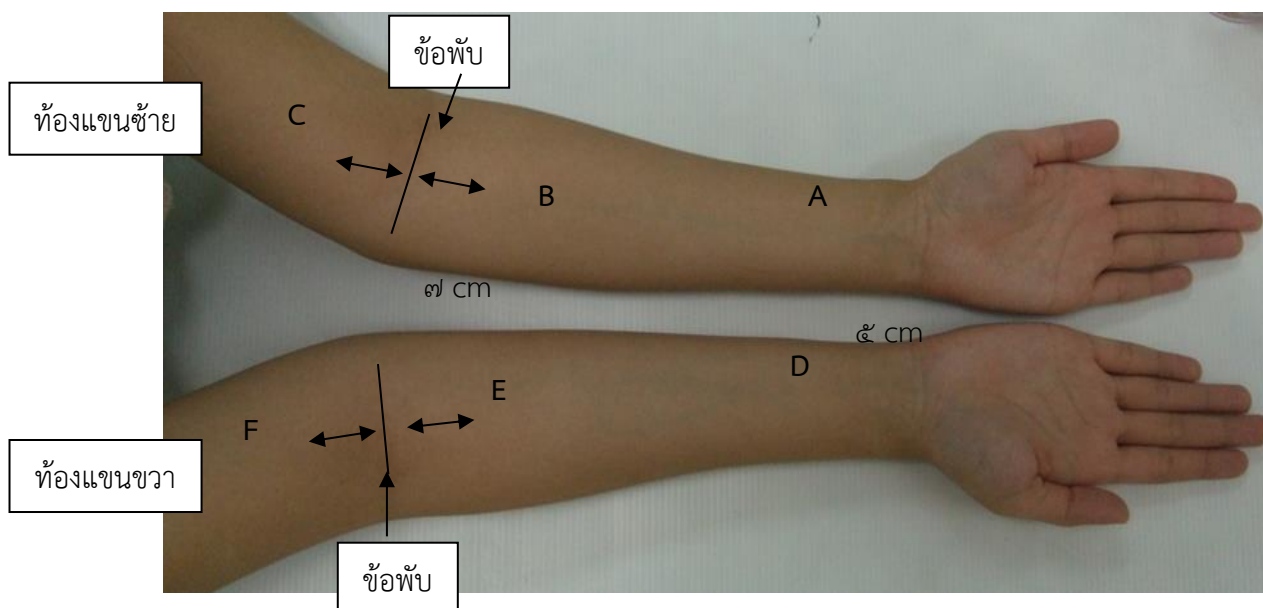
กลุ่มประชากร

อาสาสมัครทั้งชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 30 – 50 ปี มีสุขภาพดี และมีสัญชาติไทย จำนวนทั้งหมด 28 คน ที่สมัครใจและลงลายมือชื่อยินยอมการเข้าร่วมวิจัยในโครงการนี้

5.1 การทดสอบในอาสาสมัคร

1) การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

เริ่มจากการทำความสะอาดบริเวณผิวทดสอบของอาสาสมัคร (บริเวณท้องแขนด้านในทั้งสองข้าง) ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นให้อาสาสมัครปรับสภาพผิวหนังอย่างเต็มที่ภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 30 นาที ทำการวัดสภาพผิว (ความชุ่มชื้นด้วยเครื่องมือ corneometer และความยืดหยุ่นด้วยเครื่องมือ cutometer) หลังจากนั้นทำการทาผลิตภัณฑ์ทดสอบบนบริเวณที่กำหนดให้กับอาสาสมัครแล้ววัดความชุ่มชื้นด้วยเครื่องมือ corneometer หลังจากทาครีม 15 นาที 30 นาที และ 1 ชั่วโมง โดยอาสาสมัครทุกคนจะต้องอยู่ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ตลอดระยะเวลาการทดสอบนี้ และจะทำการวัดผิวอาสาสมัครอีกครั้งหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ไป 14 วัน (corneometer และ cutometer)



ภาพ 3.9 บริเวณที่ใช้ทดสอบผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

2) การประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง นัดหมายอาสาสมัครมาเพื่อทดลองใช้ผลิตภัณฑ์ทดสอบด้วยตัวเองอีกครั้งและให้กรอกแบบสอบถามเพื่อประเมินความพึงพอใจ โดยประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ (สี กลิ่น ความหนืด เนื้อผลิตภัณฑ์) และความพึงพอใจในการใช้ (ได้แก่ ความชุ่มชื้น เนื้อสัมผัส การกระจายบนผิว การซึมสู่ผิว ความมัน ความเหนอะหนะ การเคลือบคลุมผิว และความพึงพอใจโดยรวม) ตลอดจนข้อเสนอแนะต่าง ๆ จากอาสาสมัคร

6. การทดสอบประสิทธิภาพลดริ้วรอยในอาสาสมัคร (Double blind placebo controlled test)

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ ซีรัมพื้น และซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง

กลุ่มประชากร

อาสาสมัครทั้งชายและหญิงที่มีอายุระหว่าง 30 – 50 ปี มีสุขภาพดี และมีสัญชาติไทย จำนวนทั้งหมด 30 คน ที่สมัครใจและลงลายมือชื่อยินยอมการเข้าร่วมวิจัยในโครงการนี้

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

เริ่มจากการทำความสะอาดบริเวณผิวทดสอบของอาสาสมัคร (บริเวณท้องแขนด้านในทั้งสองข้าง) ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นให้อาสาสมัครปรับสภาพผิวหน้าอย่างเต็มที่ภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 30 นาที ทำการวัดสภาพผิว (วิเคราะห์สภาพผิวครั้งที่ 1) ด้วยเครื่อง Skin Visiometer (SV600FW, CK Electronic GmbH, Germany) บริเวณท้องแขนด้านในห่างจากข้อพับ 3 เซนติเมตร และบริเวณที่จะทาผลิตภัณฑ์ทดสอบเป็นบริเวณ 7×5 เซนติเมตร ตามที่กำหนด ในการประเมินริ้วรอย มีการวัด parameter คือ Ra, Rz, Surface และ Volume จากนั้นให้อาสาสมัครทาผลิตภัณฑ์ทดสอบ ได้แก่ ซีรัมพื้น ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง ประมาณ 0.2 กรัม และไม่ทาผลิตภัณฑ์ใดๆ (ใช้เป็น control) ในบริเวณที่กำหนดดังกล่าว วันละ 2 ครั้ง เช้า – เย็น ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยจะทำการวัดสภาพผิวอีก 2 ครั้ง คือ สัปดาห์ที่ 4 (30 วัน) และ สัปดาห์ที่ 8 (60 วัน) ด้วยเครื่อง visiometer

หมายเหตุ: ระหว่างการทดสอบตลอดโครงการนี้ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ทาผิวอื่น ในบริเวณทดสอบที่กำหนดในการคำนวณ % efficiency สามารถทำได้โดยสมการ

$$\% \text{ Efficiency} = [(VM - V0) / V0] \times 100$$

โดย Vo คือค่าเริ่มต้นที่ day0 , Vm คือค่าในเวลาทีวัดค่า ที่ 4 หรือ 8 สัปดาห์

สถิติที่ใช้ในการทดลองนี้คือ paired t-test และ one-way anova โดย SPSS version 17.0 for Windows ซึ่งมีการยอมรับที่ $p < 0.05$

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. ผลการเก็บตัวอย่างผลมะเคี้ยงและการประเมินคุณภาพวัตถุดิบ

1.1 การเก็บตัวอย่างผลมะเคี้ยง

ทำการเก็บผลมะเคี้ยงสด 2 ช่วง ดังนี้

- ช่วงเดือน กรกฎาคม – สิงหาคม 2553 เก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง ได้ปริมาณผลผลิตมะเคี้ยง รวม 173.85 กิโลกรัม รายละเอียดดังตาราง 4.1
- ช่วงเดือน ตุลาคม – พฤศจิกายน 2553 เก็บจากศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต เชียงราย (ดอยยาวี) ได้ปริมาณผลผลิตมะเคี้ยง รวม 104.5 กิโลกรัม รายละเอียดดังตาราง 4.2

ผลมะเคี้ยงจาก ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง มีลักษณะของรูปร่างและขนาดที่ใกล้เคียงกัน แต่มีสีที่แตกต่างกันดังภาพ 4.1 ในขณะที่ตัวอย่างผลมะเคี้ยงที่เก็บจากศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต เชียงราย นั้น มีขนาดที่แตกต่างกัน บางตัวอย่างนั้นยังเป็นผลดิบ (มีสีเขียว) หรือในบางตัวอย่างยังมีสีเขียวปน ซึ่งต่างจากตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดลำปางดังภาพ 4.2 ซึ่งตัวอย่างที่จะนำไปสกัดเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ต้องทำการคัดเลือกวัตถุดิบที่ยังดิบออกไป ผลมะเคี้ยงสดในแต่ละตัวอย่างนำมาแยกเนื้อผลและเมล็ด ซึ่งการศึกษาในปีนี้จะเน้นส่วนที่เนื้อผล ดังนั้น เพื่อให้คุณภาพของวัตถุดิบเป็นไปตามการใช้ประโยชน์ในปัจจุบัน สำหรับวัตถุดิบมะเคี้ยงที่ดิบนั้น นำไปศึกษาในเรื่องของคุณภาพของวัตถุดิบเปรียบเทียบกับผลสุก เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ตาราง 4.1 ผลผลิตมะเขีงจากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปางฯ

รหัส	น้ำหนัก (kg)	ลักษณะทางกายภาพ
รหัส ต		
1. ต.2033	6.8	ลักษณะผลโตสม่ำเสมอ มีสีแดง – ม่วง ไม่ซ้ำ
2. ต.1193	8.9	
3. ต.1156	0.4	
4. ต.1194	4.9	
5. ต.1120	6.8	
6. ต.1185	18.4	
7. ต.1185(รวมต้น)	3.2	
8. คณะรหัสต้น(สายต้น)	28.9	
รวม		78.3 kg
รหัส ม		
1. ม.3017	3.5	ลักษณะผลมีขนาดแตกต่างกัน ทั้งโต และเล็ก มีสีแดง – ชมพู
2. ม.1223	0.7	
3. ม.2107	3.1	
4. ม.2188	0.7	
5. ม.1089	10.1	
6. ม.2017	14.1	
7. ม.2033	2.2	
8. ม.1179	5.3	
9. ม.2004	11.2	
รวม		50.9 kg

ตาราง 4.2 ผลผลิตมะเขี๋ยงจากศูนย์บริการวิชาการด้านพืชฯ

รหัส	น้ำหนัก (kg)	หมายเหตุ
1. แถวที่ 7 ต้นที่ 6 แปลง 1 (21/7/53)	0.75	
รวม		0.75 kg
ต้น		
1. ต้นที่ 6	25.5	ขนาดแตกต่างกัน บางส่วนเป็นผลดิบ บางส่วนมีสีชมพู - เขียว เป็นลักษณะ ของผลที่ยังไม่สุก
2. ต้นที่ 7	8.9	
3. ต้นที่ 8	0.5	
4. ต้นที่ 9	1.6	
5. ต้นที่ 10	4.2	
6. ต้นที่ 13	0.6	
7. ต้นที่ 14	2.1	
รวม		43.4 kg
รหัส 1203		
1. รหัส 1203	0.5	
รวม		0.5 kg
ครั้งที่ 2		
1. 2157/30	0.5	
2. 2150/15	0.8	
3. 2153/17	3.9	
4. 2156/11	0.4	
5. 2156/19	1.7	
6. 2158/2	0.7	
7. 2156/8	1.2	
8. 2156/5	3.3	
9. 2156/7	0.8	
10. 2143/7	1.2	
11. 2153/8	1.4	
12. 2156/4	0.6	
13. 2159/29	1.0	

รหัส	น้ำหนัก (kg)	หมายเหตุ
14. 2150/6	0.2	
15. 2158/28	0.2	
16. 2156/23	1.2	
17. 2156/27	5.4	
18. รวมดอยวาวี	6.0	
19. 2182/6	1.8	
20. 2156/8	2.5	
21. 2143/14	1.2	
22. 2159/4	0.5	
23. 2182/4	0.7	
24. 2150/10	0.4	
25. 2156/22	0.4	
26. 2156/24	5.7	
รวม		43.7
7		
1. 1028/7	0.8	เอารหัสข้างหน้าที่เหมือนกัน รวมกัน ซึ่งน้ำหนักรวมทั้งหมด
2. 1017/5	0.7	
3. 1151/7	0.4	
4. 1097/5	0.3	
5. 1097/11	0.7	
6. 1028/16	0.7	
7. 1028/6	0.5	
8. 1028/18	0.5	
9. 1024/14	0.3	
10. 1068/9	1.7	
11. 1042/18	3.8	
12. 1097/22	3.6	
13. 1068/9/10	2.5	
14. 1097/4	1.3	
15. 1028/6	0.6	

รหัส	น้ำหนัก (kg)	หมายเหตุ
16. 1097/6	1.1	
17. 1097/25	0.6	
18. 1028/7	0.5	
19. 1097/21	3.5	
รวม		24.1
ครั้งที่ 3		
1. 1097/22	2	
2. 2156/19	0.5	
3. 2156/5	1.7	
4. คณะ	4.1	
5. 1097/21	0.3	
6. 2153/14	1	
7. 1068/9	1.5	
8. 2156/24	1	
9. 1097/25	0.8	
10. 2156/5	0.4	
11. 2143/7	1.3	
12. 2042/18	2.8	
13. 2143/7	0.1	
14. 1097/3	0.4	
15. 2156/8	1.2	
16. 2158/28	0.2	
17. 2153/8	0.2	
18. 2159/29	1.4	
19. 2156/1	2.2	
20. 1097/22	2.8	
21. 1097/21	4.2	
22. 2156/19	1.4	
23. 1097/22	2.8	
24. 2156/27	2.4	
รวม		36.7



ภาพ 4.1 ลักษณะของผลมะเกี๋ยงที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง



ภาพ 4.2 ลักษณะของผลมะเกี๋ยงที่เก็บจากเก็บจากศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต เชียงราย (ดอยวาวี)

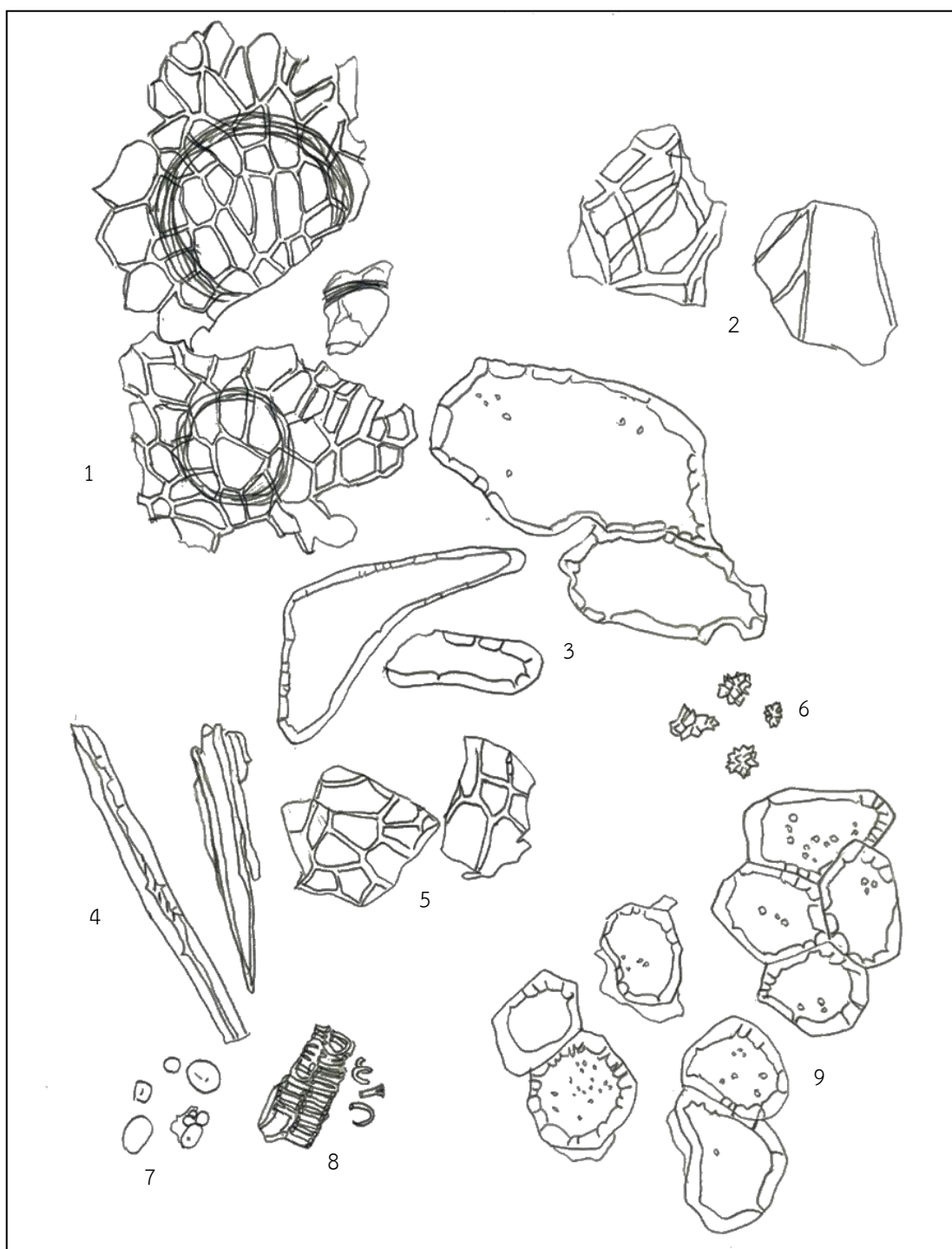
1.2 การประเมินคุณภาพวัตถุดิบมะเกี๋ยง

เนื่องจากมะเกี๋ยงยังไม่มีมาตรฐานวัตถุดิบ ในการนำสมุนไพรมานำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นั้นความแปรปรวนของคุณภาพมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น อายุพืช สายพันธุ์ แหล่งที่มา การแปรรูป ดังนั้นการจัดทำข้อกำหนดเฉพาะ (specification) ของวัตถุดิบจึงสำคัญยิ่ง ในการศึกษานี้ได้อ้างอิงวิธีการที่ระบุในเกสซ์ตำรับสมุนไพรมไทย ตัวอย่างมะเกี๋ยงแต่ละตัวอย่างนำมาประเมินคุณภาพ เพื่อจัดทำข้อกำหนดเฉพาะของมะเกี๋ยงที่นำมาใช้ในโครงการวิจัยนี้ ทั้งจาก ตัวอย่างที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง และตัวอย่างจากศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงราย (ดอยวาวี) เพื่อทำการประเมิน พบว่ามีรายละเอียด ดังนี้

1.2.1 ผลการตรวจสอบจุลทรรศน์ลักษณะ

นำเนื้อมะเกี๋ยงและเมล็ดมะเกี๋ยงมาบดด้วยเครื่องบดสมุนไพรม จากนั้นนำผงยาสมุนไพรมไปผ่านร่งเบอร์ 60 จากนั้นนำผงยาแต่ละส่วนไปตรวจสอบจุลทรรศน์ลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลดังแสดงในภาพ 4.3 – 4.4

1.1) เนื้อผลมะเกี๋ยง



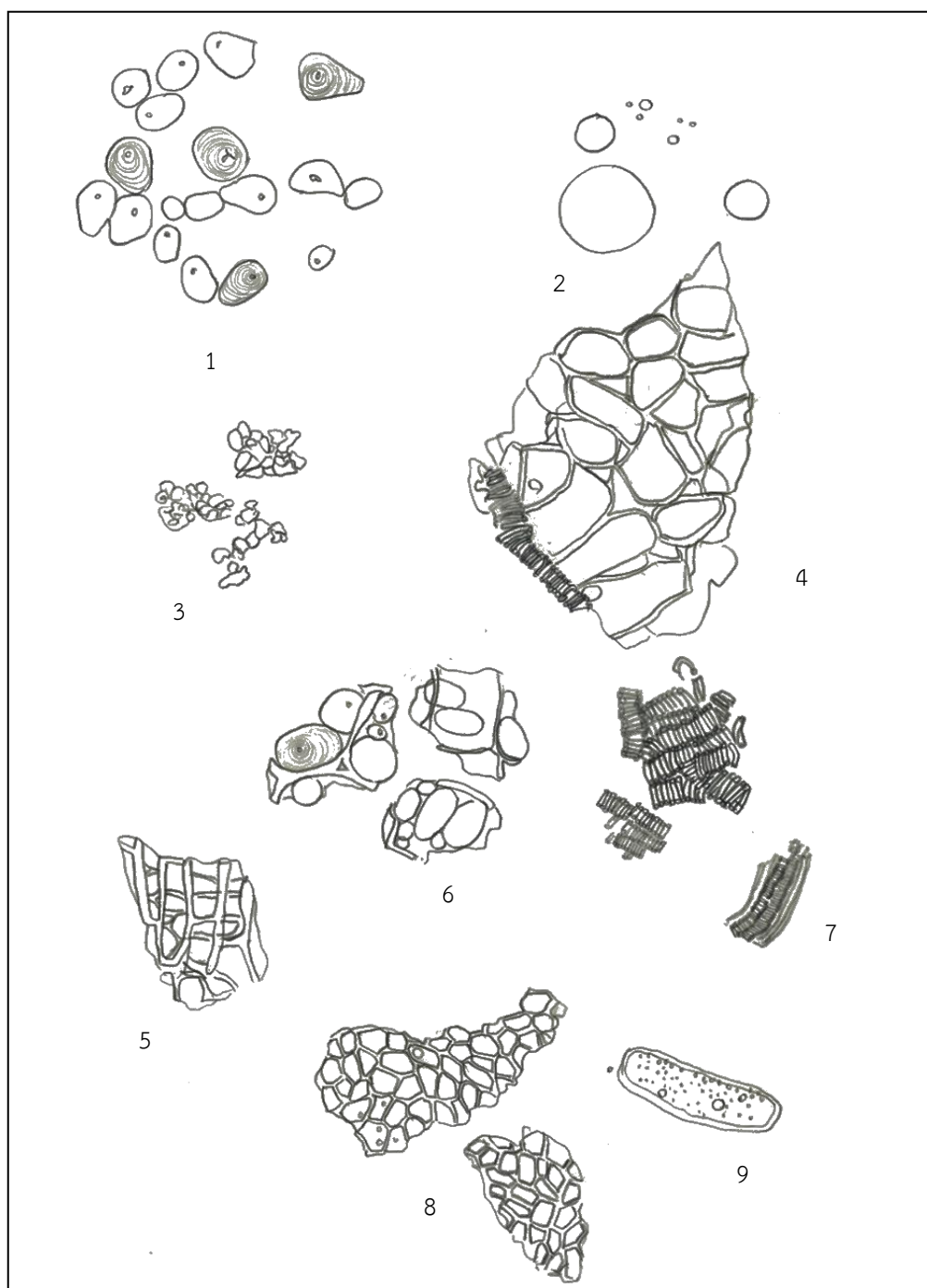
ภาพ 4.3 จุลทรรศน์ลักษณะของเนื้อผลมะเกี๋ยง

๐.๑ mm.

1. epicarp with oil gland underneath
2. parenchyma
3. macrosclereid
4. fibers
5. epicarp

6. rosette aggregate crystals
7. starch grains
8. reticulates vessels
9. stone cells

1.2) เมล็ดมะเขี๋ยง



ภาพ 4.4 จุดตรวจลักษณะของเมล็ดมะเขี๋ยง

๐.๑ mm.

- | | |
|---|---|
| 1. starch grains | 6. testa containing brown pigment |
| 2. oil droplets | 7. vascular bundle from testa |
| 3. aleurone grains | 8. outermost of cotyledon in surface view |
| 4. testa with vascular bundle | 9. porous parenchyma |
| 5. parenchyma from cotyledon containing starch grains | |

1.2.2 ปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด



ภาพ 4.5 แสดงการวิเคราะห์เถ้าที่ไม่ละลายในกรดจากตัวอย่างของมะเกี๋ยงทั้ง 3 ตัวอย่าง

ตาราง 4.3 แสดงผลการตรวจสอบปริมาณเถ้ารวมและเถ้าไม่ละลายในกรด

รหัส	ปริมาณเถ้ารวม (%)	ปริมาณเถ้าไม่ละลายในกรด (%)
รหัส ต.01	3.9820+/- 0.0970	0.1960+/- 0.0370
รหัส ต.02	4.9393+/- 0.0620	0.0922+/- 0.0211
คละรหัส (สีเข้ม)	4.8807+/- 0.0906	0.0833+/- 0.0153
คละรหัส (สีซีด)	5.1955+/- 0.0391	0.0355+/- 3.8682
รหัส ม.	5.7637+/- 0.0304	0.1866+/- 0.0144
รหัสรวมดอยวาวิ	4.1116+/- 0.0108	0.1678+/- 0.0157

1.2.3 ปริมาณปริมาณความชื้นและปริมาณสารสกัดในผงสมุนไพร

ตาราง 4.4 แสดงผลการหาปริมาณความชื้นและปริมาณสารสกัดในมะเกี๋ยง

รหัส	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณสารสกัด เอธิลอะซิเตต (% w/w)	ปริมาณสารสกัด เอทานอล (% w/w)
รหัส ต.01	5.670+/- 0.102	N/D	1.6970+/- 0.1130
รหัส ต.02	N/D	4.0333+/- 0.1789	20.2000+/- 0.2685
คละรหัส (สีเข้ม)	N/D	N/D	N/D
คละรหัส (สีซีด)	N/D	N/D	N/D
รหัส ม.	N/D	4.79+/-	13.5066+/- 0.1962
รหัสรวมดอยวาวิ	N/D	5.926+/- 0.0850	25.35.+/- 0.2386

1.2.4 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลของตัวอย่างมะเกี๋ยง

ตาราง 4.5 แสดงปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล

	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
น้ำหนัก crucible (g)	105.4671	107.8617	102.9325
น้ำหนักของสารที่ชั่ง (g)	5.0000	5.0000	5.0000
น้ำหนักคงที่ที่อ่านได้ (g)	105.5585	107.9432	103.0142
% สารสกัดด้วยเอทานอล	1.828	1.630	1.634
% เฉลี่ยสารสกัดด้วยเอทานอล	1.697 ± 0.113		

1.2.5 ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำของตัวอย่างมะเกี๋ยง

ตาราง 4.6 แสดงปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ

	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
น้ำหนัก crucible (g)	107.21160	107.27543	108.35410
น้ำหนักของสารที่ชั่ง (g)	5.0000	5.0000	5.0000
น้ำหนักคงที่ที่อ่านได้ (g)	107.33284	107.38180	108.46360
% สารสกัดด้วยน้ำ	2.424	2.128	2.190
% เฉลี่ยสารสกัดด้วยน้ำ	1.247 ± 0.156		

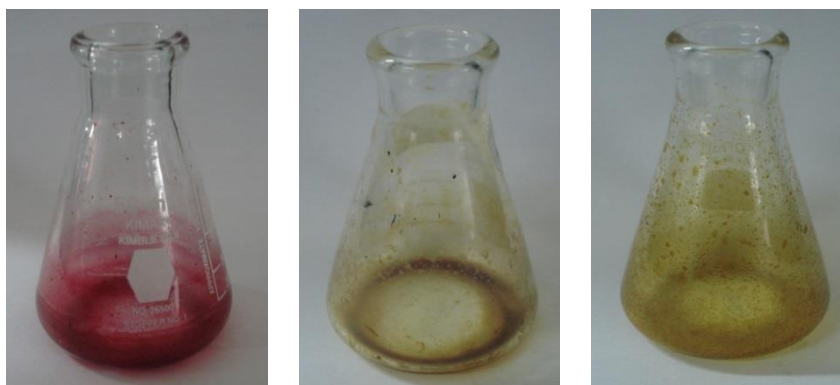
2. การสกัดมะเกี๋ยง

2.1 ผลการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ

นำเนื้อมะเกี๋ยงสด, เมล็ดมะเกี๋ยงสด และเมล็ดมะเกี๋ยงอบแห้งไปสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม ได้ทดลองสกัด 3 วิธี ดังนี้

1. Continuous extraction ด้วย Soxhlet's apparatus โดยใช้ตัวทำละลาย 95 % Ethanol
2. Maceration (วิธีการหมัก) โดยใช้ตัวทำละลาย 95 % Ethanol
3. ต้มด้วยน้ำ

ลักษณะของสารสกัดที่ได้ภายหลังทำให้เข้มข้นด้วย Rotary evaporator มีลักษณะเป็นสารสกัดข้นเหนียว และ สารสกัดที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธี Freeze dry สารสกัดจากเนื้อผลมีลักษณะเป็นผงมีสีม่วงเข้ม และสารสกัดจากส่วนเมล็ดมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล ตามลำดับ (ดังแสดงในภาพ 4.6 , 4.7 และ 4.8) และผลการสกัดแสดงรายละเอียดดังตาราง 4.7



ก

ข

ค

ภาพ 4.6 สารสกัดจากการสกัดด้วย Soxhlet's apparatus

ก. สารสกัดจากเนื้อผล ข-ค. สารสกัดจากเมล็ด



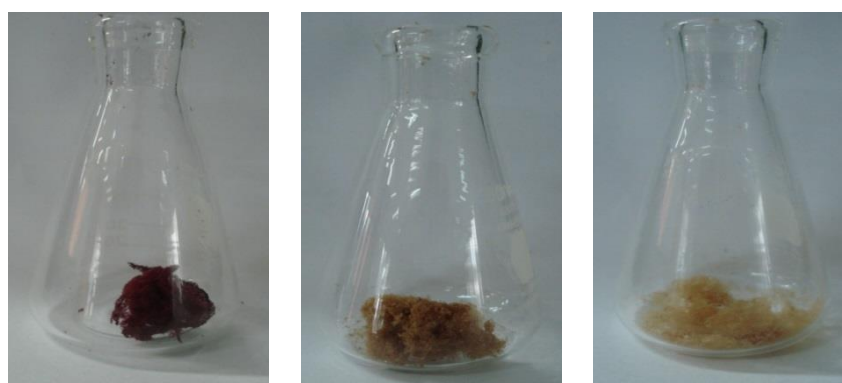
ก

ข

ค

ภาพ 4.7 สารสกัดจากการสกัดด้วยวิธีการหมัก

ก. สารสกัดจากเนื้อผล ข-ค. สารสกัดจากเมล็ด



ก

ข

ค

ภาพ 4.8 แสดงลักษณะทางกายภาพของสารสกัดมะเกี๋ยง

ก.สารสกัดจากเนื้อผล ข-ค. สารสกัดจากเมล็ด

ตาราง 4.7 ผลการสกัดมะเข็ญด้วย Soxhlet's apparatus

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก วัตถุดิบ (g)	ปริมาณ solvent (ml)	น้ำหนักสารสกัด (mg)	% yield (w/w)
1.เนื้อมะเข็ญสด	Ethanol 95 %	2.02	80	66.89	3.31
2.เมล็ดมะเข็ญสด	Ethanol 95 %	2.02	80	208.05	10.30
3.เมล็ดมะเข็ญอบแห้ง	Ethanol 95 %	2.02	80	179.78	8.90

ตาราง 4.8 ผลการสกัดมะเข็ญด้วยวิธีการหมัก (Maceration)

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก วัตถุดิบ (g)	ปริมาณ solvent (ml)	น้ำหนักสารสกัด (mg)	% yield (w/w)
1.เนื้อมะเข็ญสด	Ethanol 95 %	2.02	10	42.43	2.10
2.เมล็ดมะเข็ญสด	Ethanol 95 %	2.02	10	76.50	3.79
3.เมล็ดมะเข็ญอบแห้ง	Ethanol 95 %	2.02	10	75.22	3.72

ตาราง 4.9 ผลการสกัดมะเข็ญด้วยวิธีการต้มด้วยน้ำ

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก วัตถุดิบ (g)	ปริมาณ solvent (ml)	น้ำหนักสารสกัด (mg)	% yield (w/w)
1.เนื้อมะเข็ญสด	น้ำกลั่น	10.02	100	260.00	2.60
2.เมล็ดมะเข็ญสด	น้ำกลั่น	10.02	100	750.00	7.49
3.เมล็ดมะเข็ญอบแห้ง	น้ำกลั่น	10.05	100	380.00	3.78

ในการประเมินผลเพื่อเลือกวิธีการสกัดนั้น ได้ใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁰⁺ Free radical-scavenging พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในสารสกัดแอลกอฮอล์ของเมล็ดมะเข็ญอบแห้งที่สกัดด้วยวิธีการหมัก (TEAC = 815.20 mg/g) ในโครงการวิจัยปี 2553 นั้น เน้นในส่วนของเนื้อผล จึงทำการสกัดเนื้อผลในปริมาณมาก (สำหรับเมล็ดจะดำเนินการต่อในปี 2554) เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะในเนื้อของผล พบว่าแตกต่างกันเล็กน้อย ในการศึกษาจึงเลือกการสกัดด้วยวิธีการหมัก เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ใช้ความร้อน จึงสกัดตัวอย่างเพื่อเตรียมนำไปทดสอบฤทธิ์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

2.2 การสกัดมะเข็ญเพื่อนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์และการพัฒนาผลิตภัณฑ์

นำเนื้อมะเข็ญสดไปลดขนาด โดยวิธีการบด (ภาพ 4.9) จากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมากรองเพื่อเก็บสารสกัด นำมากมาสกัดซ้ำ ด้วยวิธีการดังกล่าว 5 ครั้ง สารสกัดที่ได้นำไปทำให้เข้มข้นด้วย Rotary evaporator



ภาพ 4.9 แสดงลักษณะเนื้อมะเข็ญสดที่ผ่านการลดขนาด

ลักษณะของสารสกัดที่ได้หลังจากทำให้เข้มข้นด้วย Rotary evaporator มีลักษณะเป็นสารสกัดข้นเหนียว มีสีชมพูเข้ม (ภาพ 4.10)



ภาพ 4.10 แสดงลักษณะทางกายภาพของสารสกัดมะเข็ญ

สารสกัดที่ได้เมื่อหาปริมาณความชื้น พบว่ามีปริมาณความชื้นเท่ากับ 13.11 % สารสกัดที่ได้นำไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ 95 % ethanol เป็นตัวทำละลาย เนื่องจาก เมื่อเทียบกับน้ำ พบว่า สารสกัดแอลกอฮอล์ให้ฤทธิ์ดีกว่า 95 % ethanol เป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัย ง่าย ราคาไม่แพง สามารถระเหยตัวทำละลายออกได้ง่าย ดังนั้นในการทำให้เข้มข้นจึงเลือกใช้วิธีการระเหยแห้งด้วย rotary evaporator เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่ายในระดับอุตสาหกรรม ต้นทุนต่ำ

ตาราง 4.10 ผลการสกัดมะเกี๋ยงด้วยวิธีการหมัก

ตัวอย่าง	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก วัตถุดิบ (kg)	ปริมาณ solvent (ลิตร)	น้ำหนัก สารสกัด (g)	% yield (dried weight)
รหัส ม	เนื้อผลสด	Ethanol 95 %	25.013	106.50	1,463.38	5.850
รหัส ต	เนื้อผลสด	Ethanol 95 %	23.607	110.00	2,137.51	9.055
รหัส ม	เมล็ดสด	Ethanol 95 %	7.019	27.50	741.25	10.560

ตาราง 4.11 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณฟีนอลิกรวม ของสารสกัดมะเกี๋ยง (ทดสอบเบื้องต้นก่อนส่งไปศึกษาในส่วนอื่นต่อไป)

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ส่วนที่ใช้	TEAC (mg/g sample)	Total Phenolic (mg/g sample)
1	รหัส ม	เนื้อมะเกี๋ยงสด	52.83	44.00
2	รหัส ม	เมล็ดมะเกี๋ยงสด	713.02	404.91
3	รหัส ต	เนื้อมะเกี๋ยงสด	52.19	28.31
4	รหัส ต	เมล็ดมะเกี๋ยงสด	884.50	369.10
5	รหัส รวมวาวี	เนื้อมะเกี๋ยงสด	51.00	30.57
6	รหัส รวมวาวี	เมล็ดมะเกี๋ยงสด	745.69	346.38

หมายเหตุ รหัสรวมวาวี หมายถึงการนำผลผลิตจากหลาย ๆ สายต้นมารวมกัน (ซึ่งทางศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงราย (ดอยวาวี) เป็นผู้รวบรวม)

3. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน ชนิด cyanidin-3-glucoside ด้วย HPLC

จากการวิเคราะห์ปริมาณ cyanidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินที่พบมากในสารสกัดมะเกี๋ยง พบว่าสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอลมีปริมาณ cyanidin-3-glucoside เท่ากับ 56.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) ในหลอดทดลองด้วยวิธี DPPH radical scavenging

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยค่าความเข้มข้นของการสกัดมะเกี๋ยงที่ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ถูกยับยั้งได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) เท่ากับ 1.479 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่าความเข้มข้นของกรดแอสคอบิกที่ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ถูกยับยั้งได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) เท่ากับ 0.124 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3 ผลของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) ต่อระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในหนูขาว

หลังจากการป้อนสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงในส่วน 95 % เอธานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารและน้ำที่บริโภคของหนูในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังตาราง 4.12 แต่อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้นสูงสุดมีแนวโน้มน้ำหนักตัวลดลง และพบว่าหนูในแต่ละกลุ่มทดลองมีน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ม้าม และไตเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว 100 กรัม (relative organ weight) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากตาราง 4.13 พบว่าเมื่อป้อนสารสกัดมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอล ความเข้มข้น 100 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวเป็นเวลา 90 วันสามารถเหนี่ยวนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ glutathione peroxidase อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้สารสกัดมะเกี๋ยง 100, 300 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว ยังสามารถลดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตับอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรัม ปริมาณกลูตาไธโอน และค่ากัมมันตภาพของเอนไซม์ glutathione reductase, catalase, heme oxygenase ของหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตาราง 4.12 แสดงปริมาณอาหารและน้ำที่บริโภค น้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ของหนูที่ได้รับ สารสกัดเนื้อมะเขี๋ยง

Parameters	มะเขี๋ยงสกัดด้วย 95 % เอธานอล			
	Control	100mg/kg bw	300mg/kg bw	1000mg/kg bw
Initial body weight (g)	190.6±4.2	187.5±10.4	193.1±5.9	187.5±12.8
Final body weight (g)	429.4±26.1	445.6±51.2	436.3±25.7	403.1±30.6
Food intake (g/rat/day)	19.6±1.6	21.1±1.1	20.3±1.4	19.5±1.4
Water intake (mL/rat/day)	28.1±3.8	38.6±5.2	34.4±6.5	29.6±6.6
Liver (g)	12.17±1.11	13.10±1.76	12.67±0.87	11.76±0.76
Spleen (g)	0.75±0.07	0.80±0.16	0.75±0.1	0.75±0.05
Kidneys (g)	2.05±0.12	2.20±0.33	2.06±0.16	2.14±0.07
Liver (per 100g body weight)	2.83±0.25	2.96±0.01	2.89±0.17	2.91±0.09
Spleen (per 100g body weight)	0.48±0.05	0.50±0.05	0.47±0.03	0.53±0.03
Kidneys (per 100g body weight)	0.17±0.01	0.18±0.02	0.17±0.02	0.19±0.02

Data are expressed as mean±SD

*Significant difference from control, $p < 0.05$

ตาราง 4.13 ผลของสารสกัดมะเขี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) ต่อระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในตับหนูขาว

Group	Treatment	MDA in serum (nmol)	MDA in liver (nmol/mg protein)	Hepatic GSH (nmol/mg protein)	GR activity (U/mg protein)	GPx activity (U/mg protein)	CAT activity (U/mg protein)	HO activity (U/mg protein)
1	Distilled water	4.412±1.74	0.1301±0.004	22.13±3.76	85.35±16.23	500.9±69.5	39.29 ±7.21	20.70±5.65
2	Ma-kiang 100 mg/kg bw	4.245±1.74	0.0803±0.001*	21.02±5.08	71.75±9.11	717.1±36.2*	36.12±6.17	20.79±6.03
3	Ma-kiang 300 mg/kg bw	3.611±1.21	0.0883±0.017*	18.60±4.22	60.92±15.63	572.8±72.6	36.30±10.26	19.03±5.28
4	Ma-kiang 1000 mg/kg bw	4.628±2.86	0.0603±0.001*	17.86±6.01	79.99±21.18	673.2±50.7*	37.87±12.09	17.61±3.55

Data are expressed as mean±SD

*Significant difference from control, $p < 0.05$

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดมะเข็ญส่วน 95 % เอธานอล ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในระดับสูง และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยสังเกตความสามารถในการจับ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง (Chen et al, 1999) พบว่าสารสกัดมะเข็ญส่วน 95 % เอธานอล แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่อาจจะมีการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากสารจำพวกฟีนอล ซึ่งเกิดจากการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล โดยที่อนุมูลอิสระ DPPH ในสารละลายจะมีสีม่วง เมื่อสารจำพวกฟีนอลให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป

จากการศึกษาผลของสารสกัดมะเข็ญต่อระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในหนูขาวพบว่าเมื่อป้อนสารสกัดความเข้มข้น 100, 300 และ 1000 mg/kg พบว่า น้ำหนักตัว ปริมาณการกินอาหาร และน้ำ รวมถึงน้ำหนักอวัยวะภายในที่สำคัญ คือ ตับ ม้าม และไต ของหนูในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากการทดลองพบว่า หนูที่ได้รับการป้อนสารทดสอบมะเข็ญที่มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักตัวลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเนื่องจากสารทดสอบที่มีความเข้มข้นสูงนั้นจะมีปริมาณสารแทนนินเพิ่มสูงขึ้นตาม แทนนินเป็นสารจำพวกฟีนอลิกประเภทหนึ่งที่ได้ในธรรมชาติจากพืชต่าง ๆ สามารถจับและตกตะกอนโปรตีนได้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าแทนนินในปริมาณที่สูงนั้นอาจจับและตกตะกอนโปรตีนในอาหารที่หนูบริโภคและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของหนู จึงส่งผลให้ความสามารถในการย่อยและดูดซึมอาหารลดลง ซึ่งสมมติฐานนี้จะต้องมีการหาปริมาณแทนนินที่มีในสารสกัดมะเข็ญต่อไป แต่อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นสูงที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้พบว่าไม่ได้มีความเป็นพิษต่อหนู นอกจากนี้จากการตรวจวัดปริมาณกลูตาไธโอน ค่ากัมมันตภาพของเอนไซม์ Glutathione reductase, Catalase และ Heme oxygenase ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างหนูในกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมะเข็ญส่วน 95 % เอธานอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทำการทดลองในหลอดทดลอง แต่ไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสัตว์ทดลองที่อยู่ในภาวะปกติ จึงควรมีการศึกษาผลของสารสกัดมะเข็ญส่วน 95 % เอธานอลต่อระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในหนูขาวภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเหนี่ยวนำด้วยสารเคมีต่อไป

3.4 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* และ *Propionibacterium acne* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบผิวหนังด้วยวิธี agar-diffusion

เพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารเหลว tryptic soy broth ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่บรรยากาศปกติ ส่วน *Streptococcus pyogenes* และ *Propionibacterium acne* จะทำการเพาะเลี้ยงใน brain heart infusion broth ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่บรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และบรรยากาศไร้ออกซิเจนตามลำดับ

เชื้อทดสอบที่เจริญแล้วจะนำมาปรับความขุ่นให้เทียบเท่ากับ McFarland standard No. 0.5 ก่อนกระจายเชื้อด้วยไม้ปลายพันสำลีให้ทั่วจานเพาะเลี้ยงแล้ววาง เเจาะหลุมลงไปในวัน ก่อนเติมสารสกัดทดสอบลงไป และนำไปเพาะเลี้ยงอีกครั้งที่สภาวะ และเวลาเดิม และอ่านค่าเฉลี่ยขอบเขตการยับยั้งเชื้อของสารสกัดในหน่วยมิลลิเมตร

นอกจากนั้น ยังทดสอบการยับยั้งด้วยวิธี agar-dilution อีกด้วย ผสมสารสกัดกับอาหาร วุ้นเหลวของ tryptic soy agar หรือ brain hearth infusion agar ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัด ตามที่ต้องการ และทำเช่นเดียวกันโดยเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดลงเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อทดสอบไม่เจริญ เมื่อเทลงไปในจานเพาะเลี้ยงรอให้วันแข็งแล้วขยี้เชื้อทดสอบ ลงไป แล้วเพาะเลี้ยง ในสภาวะ และเวลาเท่าเดิม สังเกตการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ เชื้อทดสอบทั้งหมดที่ใช้มีชนิดละ 3 ไอโซเลทเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากทางคลินิก ผลการศึกษาแสดงไว้ในตาราง 4.14

ตาราง 4.14 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบของสารสกัดเนื้อผลไม้แห้งเมื่อทดสอบด้วยวิธี agar-diffusion

เชื้อทดสอบ	ขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ของสารสกัดมะเกี๋ยงที่ความเข้มข้น		
	1000 µg/ml	500 µg/ml	100 µg/ml
<i>E.coli</i> ATCC	19	18	14
<i>E.coli</i> S145	15	13	10
<i>E.coli</i> S462	16	13	11
<i>S. enterica</i> ATCC	16	15	9
<i>S. enterica</i> S22	14	12	8
<i>S. enterica</i> S689	13	13	8
<i>V. cholerae</i> ATCC	18	16	11
<i>V. cholerae</i> DMS66	16	13	9
<i>V. cholerae</i> LP45	15	13	8
<i>S. aureus</i> ATCC	24	22	17
<i>S. aureus</i> P65	21	17	16
<i>S. aureus</i> P325	20	18	13
<i>S. pyogenes</i> SP16	19	16	15
<i>S. pyogenes</i> NY9	16	12	10
<i>S. pyogenes</i> P14	14	11	10
<i>P. acne</i> ATCC	16	13	10
<i>P. acne</i> A235	15	12	9
<i>P. acne</i> P16	15	12	8

จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดมะเกี๋ยงมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้เป็นที่น่าพอใจ และมีการยับยั้งส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดด้วย สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อก่อโรคติดเชื้อทางเดินอาหาร และติดเชื้อบนผิวหนัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *S.aureus* ที่แสดงขอบเขตการยับยั้งได้สูงสุด

ในการทดสอบด้วยวิธี agar-dilution พบว่าสารสกัดมะเกี๋ยงสามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ดี โดยความเข้มข้นต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อทดสอบแต่ละชนิดนั้นมีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นที่นำมาใช้ทดสอบด้วยวิธี agar-diffusion ดังนั้นจึงสามารถเสนอแนะได้ว่าสารสกัดมะเกี๋ยงสามารถนำมาใช้เพื่อประโยชน์ในการต้านจุลชีพก่อโรคได้

ตาราง 4.15 ฤทธิ์ของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบเมื่อทดสอบด้วยวิธี agar-dilution

เชื้อทดสอบ	ขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร) ของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง ที่ความเข้มข้น		
	1000 $\mu\text{g/ml}$	500 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
<i>E.coli</i> ATCC	13	11	9
<i>E.coli</i> S145	14	9	9
<i>E.coli</i> S462	13	11	10
<i>S. enterica</i> ATCC	14	12	11
<i>S. enterica</i> S22	14	11	9
<i>S. enterica</i> S689	14	12	10
<i>V.cholerae</i> ATCC	16	13	11
<i>V.cholerae</i> DMS66	15	12	11
<i>V.cholerae</i> LP45	15	12	10
<i>S.aureus</i> ATCC	17	12	9
<i>S.aureus</i> P65	16	14	10
<i>S.aureus</i> P325	17	15	11
<i>S.pyogenes</i> SP16	16	12	10
<i>S.pyogenes</i> NY9	15	11	9
<i>S.pyogenes</i> P14	16	12	10
<i>P.acne</i> ATCC	14	11	11
<i>P.acne</i> A235	15	11	9
<i>P.acne</i> P16	14	9	9

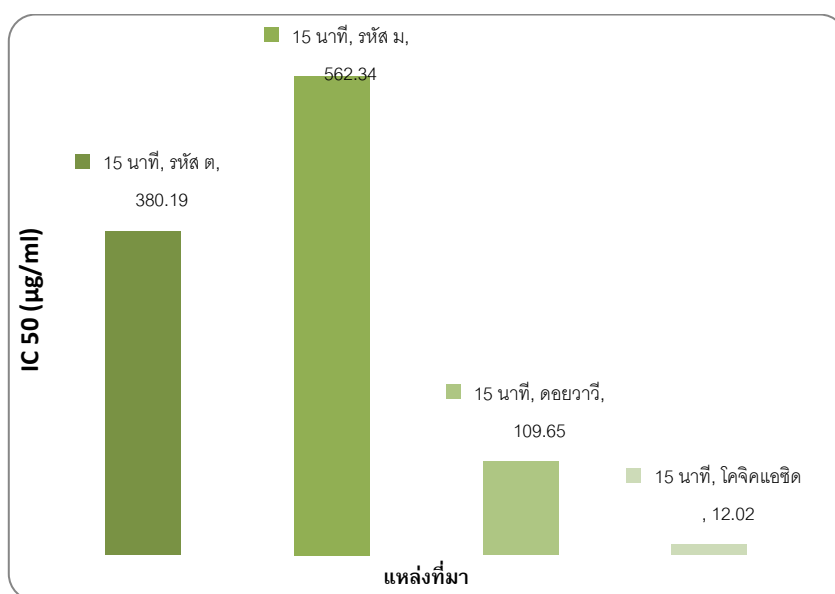
จากผลการศึกษาพบว่าสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง มีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้เป็นที่น่าพอใจ และมีการยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดด้วย สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อก่อโรคติดต่อทางเดินอาหาร และติดเชื้อบนผิวหนัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *S.aureus* ที่แสดงขอบเขตการยับยั้งได้สูงสุด

3.5 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

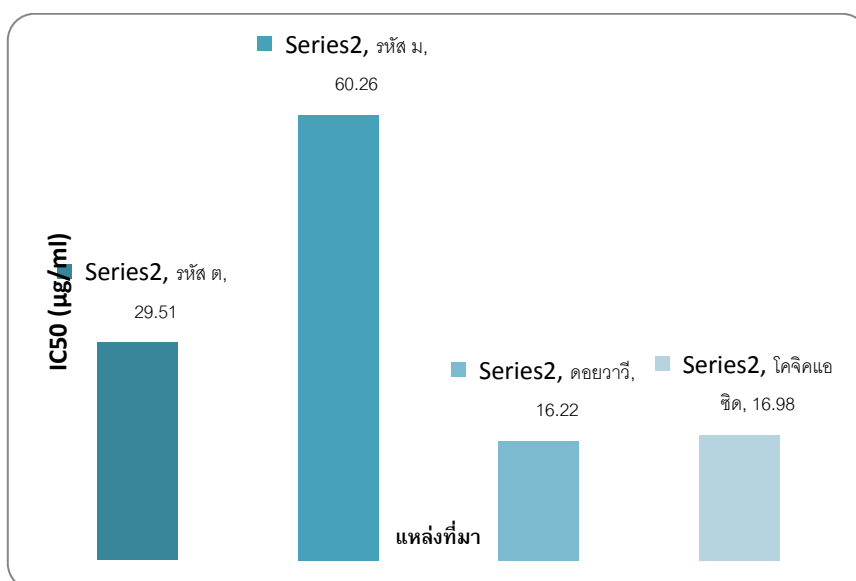
ผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนเมล็ดและเนื้อมะเกี๋ยงของตัวอย่างมะเกี๋ยง ดอยวาวี, รหัส ต และ รหัส ม เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid แสดงในตาราง 4.16 และภาพ 4.11 และ 4.12

ตาราง 4.16 แสดงความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะเกี๋ยง

สาร	แหล่ง	IC ₅₀ (µg/ml)
เนื้อมะเกี๋ยง	รหัส ต	380.19
	รหัส ม	562.34
	ดอยวาวี	109.65
เมล็ดมะเกี๋ยง	รหัส ต	29.51
	รหัส ม	60.26
	ดอยวาวี	16.22
สารมาตรฐาน	Kojic acid	12.02-16.98



ภาพ 4.11 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid



ภาพ 4.12 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid

จากผลการศึกษา จะเห็นว่าทั้งสารสกัดมะเกี๋ยงส่วนเนื้อผลและส่วนเมล็ด ที่มาจากดอยยาววีสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดมะเกี๋ยงจากแหล่งที่ใช้รหัส ม และรหัส ต ตามลำดับ ทั้งนี้ หากเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดระหว่างส่วนเนื้อผลกับส่วนเมล็ดจากทั้ง 3 แหล่ง ก็พบว่า สารสกัดส่วนเมล็ดมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดส่วนเนื้อผล โดยที่สารสกัดส่วนเมล็ดของมะเกี๋ยงจากดอยยาววีมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ Kojic acid (ภาพ 4.11) ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน ในขณะที่สารสกัดส่วนเนื้อผลมะเกี๋ยงจากดอยยาววีนั้นมีฤทธิ์ต่ำกว่า Kojic acid 9 เท่า (ภาพ 4.12)

นอกจากนี้ ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐาน Kojic acid นั้นมีความแปรปรวนเล็กน้อยเมื่อทำการศึกษาแต่ละครั้ง (สังเกตจากค่า IC₅₀ ของ Kojic acid ในภาพ 4.11 และ 4.12 แสดงความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดส่วนเนื้อผลกับส่วนเมล็ดเมื่อทำการศึกษาค้นเวลา) ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ประกอบกับข้อมูลการศึกษาวิจัยในอดีตเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของพืชสกุล Morus (กิตติศักดิ์ 2551, Ohguchi K. 2008) ก็พบว่าความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐาน Kojic acid มีค่าที่แตกต่างกันมาก เมื่อทำการศึกษาวิจัยต่างเวลา และสถานที่ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเห็นว่า ผลการศึกษาครั้งนี้มีความน่าเชื่อถือ และควรรายงานความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐาน Kojic acid ตามที่ได้ผลจริง ดังแสดงในตาราง 4.16 และภาพ 4.11 และ 4.12

3.6 ผลการศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดของมะเขี๋ยง

3.6.1 การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดหยาบมะเขี๋ยงด้วยวิธีทดสอบของแอมส์

สารสกัดจากเนื้อมะเขี๋ยงไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ทั้งในสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ทั้งในสภาวะที่ถูกกระตุ้นและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ (S9 mix) ดังแสดงในตาราง 4.17 อีกทั้งความเข้มข้นของสารสกัดมะเขี๋ยงที่ใช้ทดสอบ (1.25-10 mg/plate) ไม่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย

สารสกัดจากเมล็ดมะเขี๋ยงไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ทั้งในสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ทั้งในสภาวะที่ถูกกระตุ้นและไม่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ (S9 mix) แต่สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 5 mg/plate ขึ้นไปมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียดังแสดงในตาราง 4.18

ตาราง 4.17 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซัลโมเนลลา อัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเนื้อมะเขี๋ยง

Condition	TA 98		TA100	
	+S9	-S9	+S9	-S9
Chemical				
DMSO 50ul	38.6±12.33	35.4±7.74	164.0±36.20	238.6±74.91
DW 50ul	27.0±0.88	40.3±10.27	165.1±32.14	223.4±32.13
Standard mutagen	846.4±27.46	308.8±64.77	958.6±38.18	1169.6±231.08
Ma-kiang 1.25mg/pl	22.6±1.84	39.9±18.77	174.6±41.02	215.2±42.29
Ma-kiang 2.5mg/pl	32.0±2.03	41.9±6.75	149.1±6.41	256.2±55.59
Ma-kiang 5mg/pl	31.1±10.33	45.8±12.98	202.9±69.48	201.8±21.73
Ma-kiang 10mg/pl	38.1±9.66	39.7±5.39	201.2±40.69	206.7±44.13

The data show the number of His⁺ revertant colonies as a Mean ± S.E.M

Standard mutagen สำหรับสภาวะ +S9: 2-aminoanthracene (2-AA): 0.5 µg/plate for TA98 and 0.05 µg/plate for TA100

Standard mutagen สำหรับสภาวะ -S9: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2furyl)-acrylamide (AF-2): 0.1 µg/plate for TA98 and 0.01 µg/plate for TA100

ตาราง 4.18 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์แบคทีเรียซัลโมเนลลา ชัยฟิมิวเรียมสายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยง

Condition	TA 98		TA100	
	+S9	-S9	+S9	-S9
Chemical				
DMSO 50ul	25.9±2.1	36.8±11.1	232.1±8.4	129.0±16.2
Standard mutagen	1142.4±81.9	455.6±79.4	486.8±22.1	569.9±135.3
Ma-kiang 0.3125 mg/pl	19.3±3.5	49.3±7.2	237.0±30.6	95.0±4.1
Ma-kiang 0.625 mg/pl	23.4±2.7	62.7±2.3	275.8±28.6	64.7±24.7
Ma-kiang 1.25mg/pl	20.8±3.6	41.5±10.6	259.3±12.6	86.3±40.1
Ma-kiang 2.5mg/pl	23.9±2.5	36.9±10.1	224.3±14.0	91.9±24.0
Ma-kiang 5mg/pl	17.5±0.7(PK)	19.8±5.7(PK)	218.5±2.1(PK)	41.7±28.1(PK)
Ma-kiang 10mg/pl	8.5±0.7(K)	2.3±3.8(K)	72.5±3.5(K)	30.8±21.7(K)

The data show the number of His⁺ revertant colonies as a Mean ± S.E.M

Standard mutagen สำหรับสภาวะ +S9: 2-aminoanthracene (2-AA): 0.5 µg/plate for TA98 and 0.05 µg/plate for TA100

Standard mutagen สำหรับสภาวะ -S9: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2furyl)-acrylamide (AF-2): 0.1 µg/plate for TA98 and 0.01 µg/plate for TA100

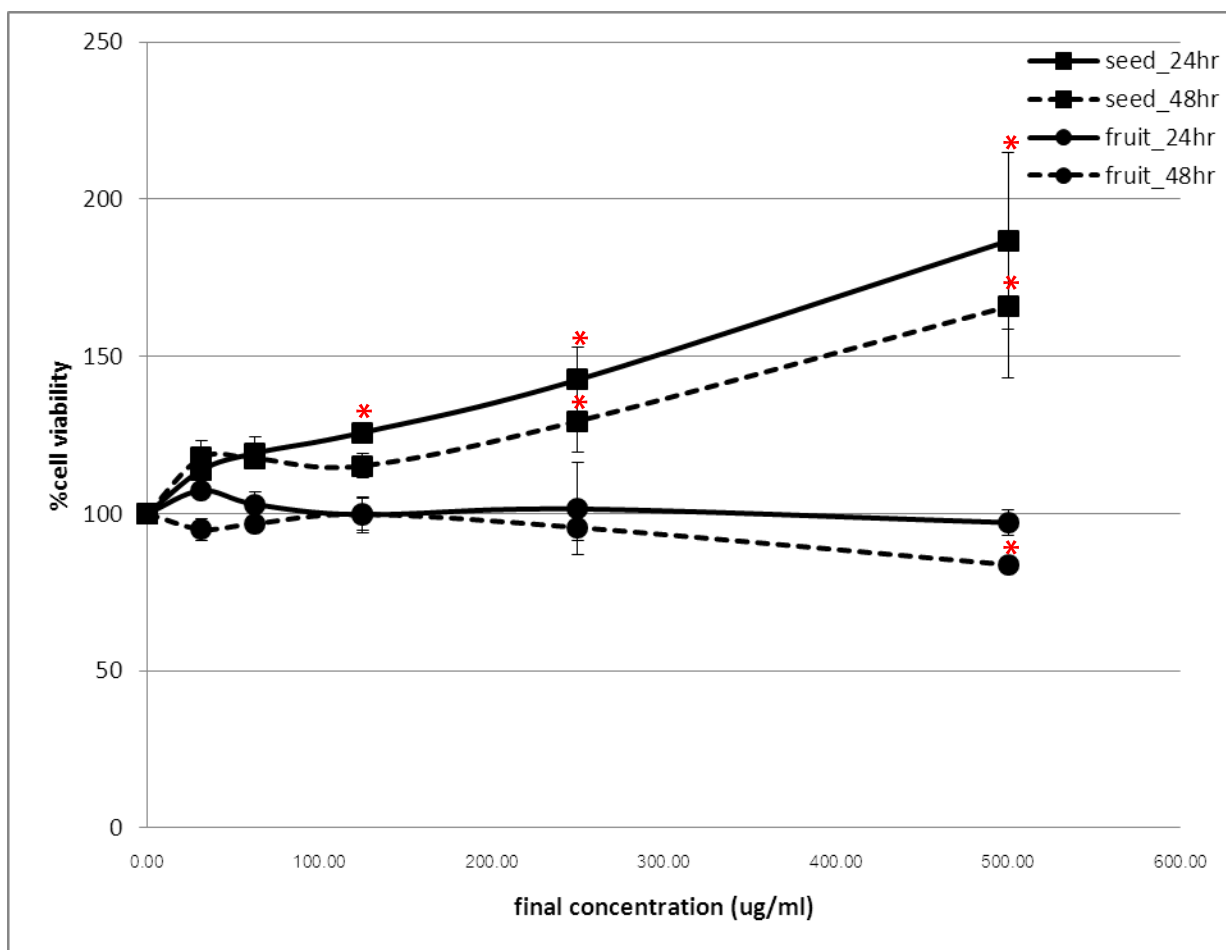
PK: Partial killing effect

K: Killing effect

3.6.2 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบมะเข็ญต้อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด peripheral blood mononuclear cell (PBMC)

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ด ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 125 $\mu\text{g/ml}$ เป็นต้นไป ที่ 24 ชั่วโมง และ 250 $\mu\text{g/ml}$ เป็นต้นไปสำหรับ 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้น แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$, one way ANOVA) ส่วนสารสกัดหยาบจากเนื้อมะเข็ญ ที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ ลดลงต่างจากกลุ่มควบคุม (83.75 % cell viability) ($p < 0.05$, one way ANOVA) ดังภาพ 4.13

สารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ด และ สารสกัดหยาบจากเนื้อมะเข็ญ ไม่มีความเป็นพิษ หรือมีความเป็นพิษเล็กน้อย สำหรับสารสกัดหยาบจากเนื้อมะเข็ญ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ต่อเซลล์ปกติ หรือ PBMC โดยอาจจะต้องมีการทำการศึกษาเพิ่มเติม ในส่วนสารสกัดหยาบจากเนื้อมะเข็ญ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัว หรือเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการตายผ่านทางวิถีใด นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ด ยังสามารถกระตุ้นให้เซลล์ปกติ หรือ PBMC มีการเพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงอาจมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงฤทธิ์ในการเพิ่มจำนวนในส่วนของ สารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ดว่ามีคุณสมบัติเป็น mitogen หรือ เกิดจากการตอบสนองต่อกระบวนการก่อนการอักเสบ (pro-inflammatory) ที่มีการกระตุ้นให้สร้าง proinflammatory cytokine ที่จะมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการแสดงออกของยีน และการแบ่งตัวของเซลล์ ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PBMC



ภาพ 4.13 ผลของสารสกัดหยาบจากส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยงต่อการมีชีวิตของเซลล์ PBMC

3.6.3 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity test) ของสารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยง

สารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยงไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลัน เนื่องจากเมื่อทำการป้อนสารสกัดทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวให้กับหนูทดลอง พบว่าไม่มีหนูตายหลังจากป้อนสาร, ไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะภายในสัมพันธ์ รวมถึงไม่มีความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยเมื่อดูด้วยตาเปล่า ดังแสดงในตาราง 4.19 และ 4.20

ตาราง 4.19 ตารางแสดงน้ำหนักตัวหนูในการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอล

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักตัว (กรัม)	
	เริ่มต้น	สุดท้าย
กลุ่มควบคุม	196±9	229±8
สารสกัดเนื้อมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอล	196±7	236±4
สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงส่วน 95 % เอธานอล	197±6	233±3

ตาราง 4.20 ตารางแสดงน้ำหนักอวัยวะภายในของหนูในการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยง

อวัยวะ	อวัยวะภายในสัมพันธ์			อวัยวะภายในสัมพันธ์		
	(g)			(g/100 g body weight)		
	ควบคุม	ส่วนเนื้อ	ส่วนเมล็ด	ควบคุม	ส่วนเนื้อ	ส่วนเมล็ด
หัวใจ	0.376±0.08	0.406±0.08	0.387±0.04	0.32±0.03	0.32±0.03	0.34±0.07
ปอด	1.077±0.10	1.077±0.22	1.291±0.20	0.47±0.04	0.46±0.09	0.55±0.09
ต่อมไธมัส	0.727±0.05	0.747±0.07	0.789±0.17	0.17±0.04	0.17±0.03	0.17±0.02
ตับ	8.059±0.83	8.354±0.76	7.277±0.98	3.51±0.24	3.54±0.27	3.12±0.04
ตับอ่อน	0.924±0.20	0.907±0.23	0.716±0.09	0.40±0.09	0.38±0.10	0.31±0.04
ต่อมหมวกไต	0.070±0.01	0.121±0.02	0.082±0.03	0.03±0.01	0.05±0.01	0.04±0.02
ม้าม	0.534±0.10	0.607±0.08	0.592±0.05	0.23±0.03	0.26±0.03	0.25±0.02
ไต	1.613±0.11	1.588±0.32	1.481±0.10	0.70±0.04	0.67±0.14	0.64±0.04
กระเพาะอาหาร	0.424±0.12	0.404±0.04	0.539±0.18	0.46±0.06	0.50±0.05	0.46±0.05
รังไข่	0.160±0.05	0.178±0.02	0.167±0.03	0.07±0.02	0.08±0.01	0.07±0.01
ท่อนำไข่	1.043±0.13	1.18±0.13	1.066±0.12	0.19±0.06	0.17±0.02	0.23±0.07

4. ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพสำหรับบริโภค

4.1 ยาแกรนูลมะเกี๋ยงฟองฟู

ตาราง 4.21 ผลการประเมินตำรับยาแกรนูลมะเกี๋ยงฟองฟู

ลำดับ	รายการประเมิน	ตำรับที่						
		1	2	3	4	5	6	7
1	กระบวนการผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	เกิดฟอง ขณะผลิต	ไม่เกิดฟอง ขณะผลิต
2	สีของแกรนูล	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล เข้ม	น้ำตาล แดง
3	ค่า LOD %	1.37	2.05	2.19	1.52	1.25	1.59	1.41
4	การแรง แกรนูลแห้ง	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้นเร็ว	แรงง่าย ขึ้น เร็ว
5	การเกิดฟอง	ฟองใหญ่	ฟองเล็ก	ฟองใหญ่	ฟองเล็ก	ฟองใหญ่	ฟองเล็ก	ฟองใหญ่
6	สีของสารละลาย	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล แดง	น้ำตาล เข้ม	น้ำตาล แดง
7	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	5	5	5	5	5	6	5
8	รสชาติ, กลิ่น	เค็ม	จืด	เค็ม	จืด	เค็ม	จืด	เปรี้ยว
9	ความพึงพอใจ	น้อย	ปานกลาง	น้อย	ปานกลาง	น้อย	ปานกลาง	มาก

จากผลการประเมินตำรับยาแกรนูลมะเกี๋ยงฟองฟูในตาราง 4.21 ตำรับที่ 1, 3, 5 และ 2, 4, 6 จะใช้ ส่วนประกอบของตำรับยาพื้นฟองฟูที่ต่างกัน คือ ตำรับที่ 1, 3, 5 ยาพื้นฟองฟูจะประกอบด้วย citric acid 16 % tartaric acid 32 % และ sodium bicarbonate 52 % ซึ่งเป็นตำรับยาพื้นฟองฟูมาตรฐานของการเตรียม ยาฟองฟูทั่วไป ส่วนตำรับที่ 2, 4, 6 จะเป็นตำรับยาพื้นฟองฟูของยาโอโน ซึ่งเป็นตำรับที่มีขายในท้องตลาดเพื่อ ใช้ลดกรดในกระเพาะ และอาการแน่น จุกเสียด ตำรับที่ 1 และ 2 เป็นการเปรียบเทียบการใช้ยาพื้นฟองฟู 2 ชนิด พบว่ามีความแตกต่างเรื่องรสชาติ แต่มีปัญหาเหมือนกันเรื่องกระบวนการผลิต คือ จะเกิดปฏิกิริยาของกรด และต่างขณะผลิต เนื่องจากมีน้ำอยู่ในสารสกัด ทำให้ต้องใช้แลคโตสมาดูตซับน้ำก่อน ในตำรับที่ 3 และ 4 แต่ ก็ยังไม่เพียงพอที่จะลดการเกิดปฏิกิริยาได้หมด จึงปรับลดปริมาณสารสกัดลงในตำรับที่ 5 และ 6 ทำให้ สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ แต่ตำรับที่ 5 รสชาติจะเค็ม ส่วนรสชาติตำรับที่ 6 จะจืด จึงเพิ่มปริมาณ citric acid ในตำรับที่ 7 ทำให้ได้รสชาติของสารละลายของยาแกรนูลมะเกี๋ยงฟองฟูดีขึ้น

ตำรับยาแกรนูลมะเกี๋ยงฟองฟูที่เหมาะสมจะประกอบด้วย สารสกัดมะเกี๋ยง 10.49 % citric acid 10.49 % tartaric acid 16.78 % sodium bicarbonate 27.27 % และ lactose 34.97 % อนึ่งเนื่องจากยา พื้นฟองฟูจะดูดความชื้นได้เร็วมาก จึงต้องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในห้องผลิตให้ต่ำกว่า 25 % และปริมาณ ความชื้นในแกรนูลต้องน้อยกว่า 1 %

4.2 เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพชนิดเข้มข้น

1) การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการทำให้เข้มข้นโดยเทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์ พบว่า เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งไม่มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด -ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของผลึกน้ำแข็งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) แต่มีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้และปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังตาราง 4.22

ตาราง 4.22 ค่าเฉลี่ยคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เมื่อใช้เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งต่างกัน

สิ่งทดลอง	pH	TSS ของ น้ำมะกึ่ง (°Brix)	TSS ของ ผลึกน้ำแข็ง (°Brix)	ปริมาณ น้ำมะกึ่ง (ร้อยละ)	ปริมาณ ผลึกน้ำแข็ง (ร้อยละ)
1 (Cry20/Cen3)	3.09±0.06	3.2±0.1	0.4±0.1	58.82±0.65	34.45±0.25
2 (Cry40/Cen3)	2.93±0.08	3.8±0.1	0.6±0.1	51.81±0.44	43.81±0.32
3(Cry20/Cen7)	2.95±0.05	2.4±0.2	1.3±0.1	90.83±0.35	8.25±0.55
4(Cry40/Cen7)	2.97±0.04	2.1±0.1	0.3±0.2	85.03±0.68	14.23±0.47
5 (Cry20/Cen5)	2.97±0.07	2.2±0.1	0.4±0.2	67.80±0.75	31.44±0.22
6 (Cry40/Cen5)	3.02±0.03	2.1±0.2	0.2±0.1	65.42±0.21	30.42±0.33
7(Cry30/Cen3)	3.08±0.04	2.9±0.2	0.4±0.1	57.61±0.33	40.41±0.25
8 (Cry30/Cen7)	3.04±0.02	2.3±0.2	0.3±0.2	87.04±0.69	12.21±0.55
9(Cry30/Cen5)	3.03±0.03	2.5±0.2	0.4±0.2	66.55±0.14	30.80±0.45
P-value	0.0838 ^{ns}	0.0351*	0.1886 ^{ns}	< 0.0001*	0.0003*

Cry คือ เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง(นาที) Cenคือเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง(นาที)

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

จากนั้นนำปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้และปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ไปหาความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Design Expert 6.0.2 ได้สมการความสัมพันธ์(regression) ดังตาราง 4.23

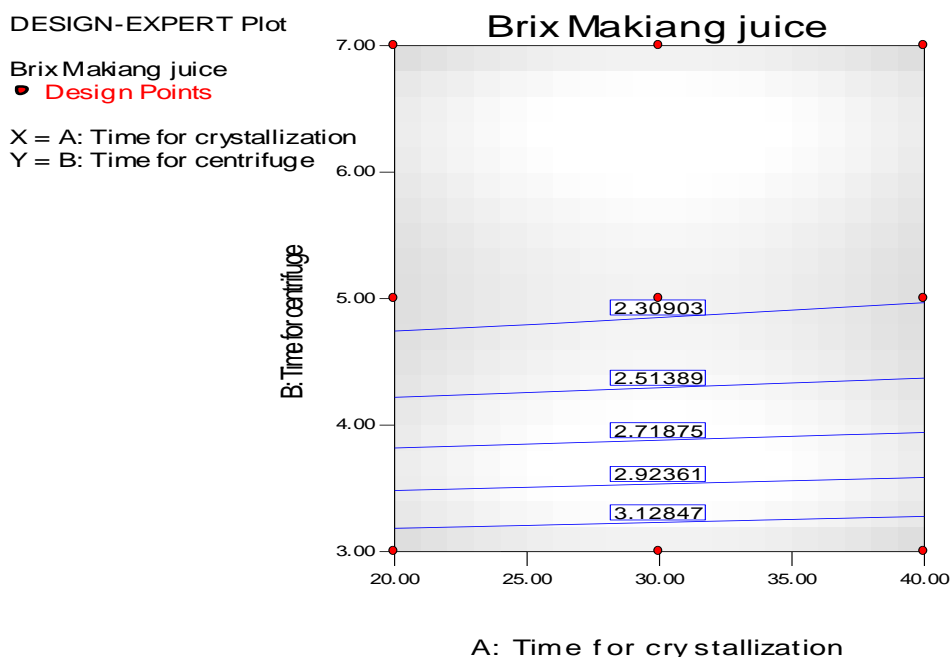
ตาราง 4.23 สมการความสัมพันธ์ของเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่มีต่อคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์

คุณลักษณะ	สมการความสัมพันธ์	Adj. R ²
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่ง (°Brix)	+6.68750 +3.33333E-003*Time for crystallization -1.55000*Time for centrifuge +0.12917*Time for centrifuge ²	0.6747
ปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้(ร้อยละ)	+38.25444 -0.25317*Time for crystallization +7.88833*Time for centrifuge	0.9455
ปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ (ร้อยละ)	+55.16722 +0.23867*Time for crystallization -6.99833*Time for centrifuge	0.9110

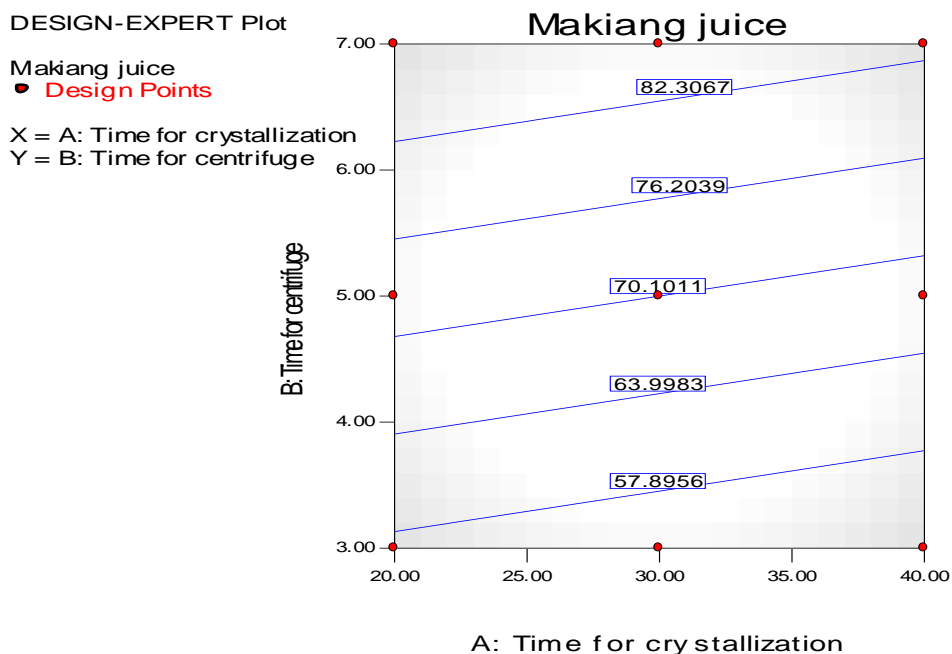
Time for crystallization คือ เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง

Time for centrifuge คือ เวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง

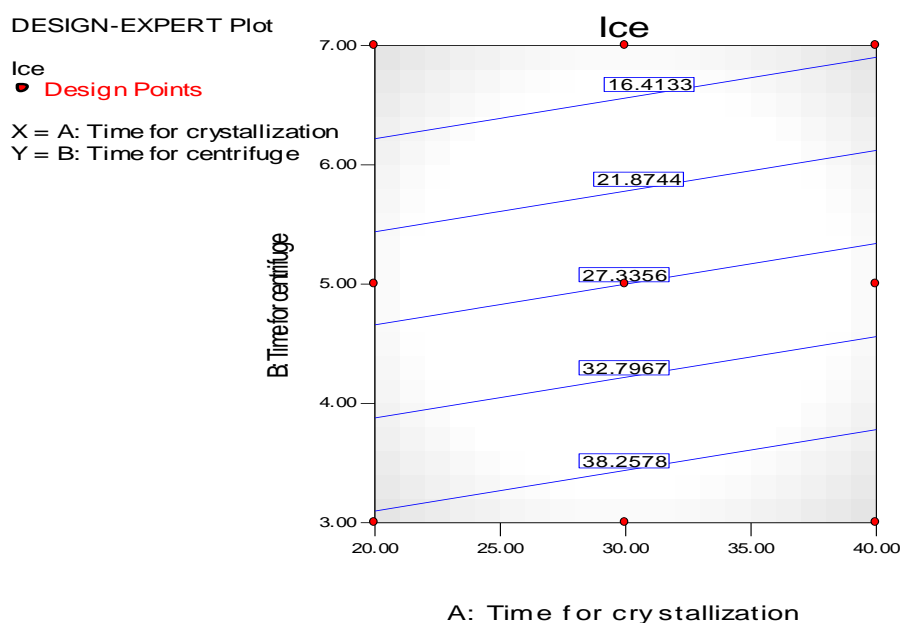
จากสมการความสัมพันธ์ในตาราง 4.23 เมื่อพิจารณาสัมประสิทธิ์ที่อยู่ข้างหน้าของแต่ละปัจจัย พบว่า เวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณลักษณะของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นมากกว่า เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งเมื่อใช้เวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งลดลง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้จากการเหวี่ยงแยก มีแนวโน้มลดลงตามลำดับ แต่ในทางกลับกัน ปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ทำให้ได้น้ำมะกึ่งสกัดที่เข้มข้นขึ้น และเมื่อใช้เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งนานขึ้น ปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้จากการเหวี่ยงแยก มีแนวโน้มลดลงตามลำดับ แต่ในทางกลับกัน ปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณของน้ำบริสุทธิ์ในน้ำมะกึ่งจะรวมตัวกันเป็นผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้สามารถแยกผลึกน้ำแข็งออกได้มากขึ้นด้วย (สีทอง, 2552) ซึ่งมีแนวโน้มเป็นไปตามกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น ปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นที่ได้ และปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้ดังภาพ 4.14 4.15 และ 4.16 ตามลำดับ



ภาพ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งยีสกักเข้มข้น



ภาพ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่มีต่อปริมาณน้ำมะกึ่งยีสกักเข้มข้นที่ได้



ภาพ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่มีต่อปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้

จากภาพ 4.14 4.15 และ 4.16 อธิบายได้ว่า การใช้ระยะเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งน้อยลง ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำมะกึ่งที่ได้จากการเหวี่ยงแยกมีแนวโน้มลดลง และปริมาณผลึกน้ำแข็งที่แยกได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เนื่องจากในกระบวนการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง น้ำมะกึ่งที่อยู่ในถังเหวี่ยงจะมีสถานะเป็นของแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วย น้ำบริสุทธิ์ และ สารละลายของตัวถูกละลาย ซึ่งในขั้นตอนการเหวี่ยงแยก จะอาศัยแรงเนื่องจากแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (สมบัติ, 2535) ทำให้ส่วนที่ถูกเหวี่ยงแยกออกมาก่อน คือ สารละลายของตัวถูกละลาย เนื่องจาก มีมวลโมเลกุลที่สูงกว่าน้ำบริสุทธิ์หากใช้ระยะเวลาในการเหวี่ยงนาน น้ำบริสุทธิ์จะถูกเหวี่ยงออกมาผสมกับสารละลายของตัวถูกละลาย และโอกาสที่น้ำมะกึ่งสัมผัสกับอากาศมีมากขึ้น โดยอากาศที่อุณหภูมิห้องมีอุณหภูมิสูงกว่า จึงสามารถถ่ายเทความร้อนไปยังน้ำมะกึ่งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าได้ น้ำมะกึ่งที่อยู่ในถังเหวี่ยงจึงเปลี่ยนสถานะกลายเป็นของเหลวเพิ่มขึ้น เมื่อของเหลวถูกกำจัดได้น้อยทำให้ได้น้ำมะกึ่งมีความเข้มข้นขึ้นเพียงเล็กน้อย

เมื่อนำสมการแสดงความสัมพันธ์ในตาราง 4.23 ไปหาเวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งและเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็งที่เหมาะสมโดยการ Optimization แบบ Numerical โดยกำหนดปัจจัยให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นสูงสุดปริมาณน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นต่ำสุด และปริมาณผลึกน้ำแข็งสูงสุด พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการทำน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นโดยเทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง คือ เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็ง 40 นาที และเวลาในการเหวี่ยงแยกผลึกน้ำแข็ง 3 นาที

2) การศึกษาแนวโน้มของค่าความเป็นกรด - ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเกลือสกัดเข้มข้น

การทดลองนี้มีปัจจัยทดลองคือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเกลือสกัดเริ่มต้นและจำนวนรอบในการทำเข้มข้น โดยนำน้ำมะเกลือสกัดเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่างกัน ได้แก่ 2, 3 และ 4 องศาบริกซ์ มาทำเข้มข้นจนครบ 3 รอบ จะได้น้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นทั้งหมด 9 สิ่งทดลอง แล้วนำน้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นที่ได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีกายภาพ จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) เพื่อทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยที่เป็นผลของปัจจัยทดลองในแง่อิทธิพลหลัก (main effect) และอิทธิพลร่วม (interaction effect) ของทั้งสองปัจจัย ดังแสดงในตาราง 4.24 และ 4.25 ตามลำดับ

คุณภาพด้านเคมีกายภาพของน้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นที่เกิดจากอิทธิพลหลัก ของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเกลือสกัดเริ่มต้นและจำนวนรอบในการทำเข้มข้นในตาราง 4.24 อธิบายได้ว่า น้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นที่เตรียมจากน้ำมะเกลือสกัดเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่างกันและจำนวนรอบในการทำเข้มข้นต่างกัน จะมีค่าความเป็นกรด - ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยน้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นที่เตรียมจากน้ำมะเกลือเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูง จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงกว่า และมีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำกว่า น้ำมะเกลือเข้มข้นที่เตรียมจากน้ำมะเกลือเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ำ ดังนั้นการสกัดน้ำมะเกลือจากผลมะเกลือที่มีระดับความสุกแตกต่างกัน เมื่อนำไปทำเข้มข้น จะได้น้ำมะเกลือสกัดเข้มข้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าความเป็นกรด - ด่างที่ต่างกัน จึงต้องมีการกำหนดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเกลือสกัดเริ่มต้น ก่อนเริ่มกระบวนการทำให้เข้มข้นโดยเทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง

ตาราง 4.24 คุณภาพด้านเคมีกายภาพของน้ำมะเงี๋ยงสกัดเข้มข้นที่เกิดจากอิทธิพลหลัก (main effect) ของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเงี๋ยงสกัดเริ่มต้นและจำนวนรอบในการทำเข้มข้น

สิ่งทดลอง	pH	TSS (°Brix)
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเงี๋ยงสกัดเริ่มต้น		
2 °Brix	2.97±0.02 ^a	4.9±0.8 ^c
3 °Brix	2.96±0.00 ^{ab}	5.7±0.5 ^b
4 °Brix	2.96±0.02 ^b	7.5±1.3 ^a
จำนวนรอบในการทำเข้มข้น		
1 รอบ	2.98±0.00 ^a	4.2±0.9 ^c
2 รอบ	2.97±0.00 ^b	6.2±1.0 ^b
3 รอบ	2.95±0.00 ^c	6.9±1.6 ^a

หมายเหตุ : - ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าตัวเลขเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จำนวนรอบในการทำเข้มข้นที่ต่างกันมีผลต่อคุณภาพของน้ำมะเงี๋ยงสกัดเข้มข้น กล่าวคือ น้ำมะเงี๋ยงสกัดเข้มข้นที่ใช้จำนวนรอบในการทำเข้มข้นที่ต่างกัน จะมีค่าความเป็นกรด - ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้พบว่า น้ำมะเงี๋ยงสกัดเข้มข้นจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นและมีค่าความเป็นกรด - ด่างลดลงตามการเพิ่มจำนวนรอบในการทำเข้มข้น ซึ่งให้ผลในทิศทางเดียวกันกับการเหวี่ยงแยกน้ำผลไม้ผสมเข้มข้น (น้ำหม่อน 15, น้ำเสาวรศ 14 และน้ำสับปะรด 71 ส่วนโดยน้ำหนัก) ที่ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในรอบแรก รอบที่สอง และรอบที่สาม เท่ากับ 24.8 ± 0.6 , 34.0 ± 0.2 และ 42.2 ± 0.2 องศาบริกซ์ ตามลำดับ (สีทอง, 2552) เนื่องจากการเพิ่มจำนวนรอบในการทำเข้มข้นนั้น น้ำภายในน้ำมะเงี๋ยงจะถูกกำจัดออกได้เพิ่มขึ้น สารอาหารต่าง ๆ มีเท่าเดิมแต่ปริมาณน้ำที่อยู่ในน้ำมะเงี๋ยงลดลง น้ำมะเงี๋ยงจึงมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำมะเงี๋ยงลดลง

ตาราง 4.25 คุณภาพด้านเคมีกายภาพของน้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นที่เกิดจากอิทธิพลร่วม (Interaction effect) ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเงี้ยวสกัดเริ่มต้นและจำนวนรอบในการทำเข้มข้น

สิ่งทดลอง	pH	TSS(°Brix)
1 (Raw2/Cycle1)	2.99±0.01 ^a	3.8±0.0 ^h
2 (Raw3/Cycle1)	2.98±0.00 ^{ab}	5.0±0.1 ^g
3 (Raw4/Cycle1)	2.97±0.00 ^{bc}	5.9±0.0 ^d
4 (Raw2/Cycle2)	2.97±0.0 ^{abc}	5.2±0.1 ^f
5 (Raw3/Cycle2)	2.96±0.00 ^{cd}	5.9±0.0 ^d
6 (Raw4/Cycle2)	2.97±0.00 ^{bc}	7.5±0.0 ^b
7 (Raw2/Cycle3)	2.95±0.00 ^{de}	5.6±0.0 ^e
8 (Raw3/Cycle3)	2.96±0.00 ^{cd}	6.1±0.1 ^c
9 (Raw4/Cycle3)	2.94±0.00 ^e	9.0±0.1 ^a

หมายเหตุ : - Raw คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะเงี้ยวสกัดเริ่มต้น (°Brix)

- Cycle คือ จำนวนรอบในการทำเข้มข้น (รอบ)

- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าตัวเลขเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05)

เมื่อพิจารณาคุณภาพของน้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นที่เกิดจากอิทธิพลร่วมของสองปัจจัย ใน **ตาราง 4.25** ให้ผลในทิศทางเดียวกันกับผลของแต่ละปัจจัยทดลอง โดยพบว่าน้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของค่าความเป็นกรด - ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ทั้งนี้ น้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นมีค่าความเป็นกรด - ด่างอยู่ระหว่าง 2.94 ± 0.00 ถึง 2.99 ± 0.01 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 3.8 ± 0.0 ถึง 9.0 ± 0.1 องศาบริกซ์ โดยที่ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด - ด่างและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่เป็นผลของปัจจัยทดลองในแง่อิทธิพลร่วม (interaction effect) ของสองปัจจัยสามารถแบ่งกลุ่มได้ **ดังตาราง 4.25** การนำน้ำมะเงี้ยวสกัดเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 3 องศาบริกซ์ มาทำให้เข้มข้น 2 รอบ กับการนำน้ำมะเงี้ยวสกัดเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 4 องศาบริกซ์ มาทำให้เข้มข้นเพียงรอบเดียว จะได้น้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากัน คือ 5.9 องศาบริกซ์

จาก**ตาราง 4.25** พบว่าการนำน้ำมะเงี้ยวสกัดเริ่มต้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 4 องศาบริกซ์ มาทำให้เข้มข้นทั้งหมด 3 รอบ จะได้น้ำมะเงี้ยวสกัดที่เข้มข้นที่สุด โดยมีค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) เท่ากับ 2.94 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 9.0 องศาบริกซ์

3) การศึกษาสูตรที่เหมาะสมของน้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้น

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ พบว่าปริมาณของอินูลิน กัมอารบิก และซูคราโลสที่ต่างกันมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังตาราง 4.26

ตาราง 4.26 ค่าคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพของน้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นเมื่อใช้ปริมาณอินูลิน กัมอารบิก และซูคราโลสต่างกัน

สิ่งทดลอง	TSS (°Brix)	pH	ค่าความหนืด (cP)
1 (I10/A0/S0)	16.7	2.93	3.0
2 (I5/A5/S0)	16.7	3.00	4.5
3 (I7.5/A2.5/S0)	16.7	2.94	3.5
4 (I9.97/A0/S0.03)	17.2	3.06	3.0
5 (I5/A4.97/S0.03)	18.1	3.07	5.0
6 (I7.48/A2.48/S0.03)	16.6	3.09	3.5
7 (I7.49/A2.49/S0.02)	16.8	3.09	3.5
8 (I8.73/A1.25/S0.02)	16.9	3.08	3.5
9. (I6.25/A3.73/S0.02)	16.8	3.08	3.5
10 (I8.32/A1.67/S0.01)	16.8	3.02	3.5
11 (I5/A5/S0)	16.7	2.98	4.5
12 (I10/A0/S0)	16.8	2.94	3.0
13 (I9.97/A0/S0.03)	17.0	2.98	3.0
<i>P-value</i>	<i>0.0032*</i>	<i>0.0074*</i>	<i>0.0062*</i>

I – ปริมาณอินูลิน, A - ปริมาณ กัมอารบิก และ S - ปริมาณซูคราโลส

* แสดงถึงแตกต่างในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่าค่าคะแนนความชอบด้าน ลักษณะปรากฏ กลิ่นรสมะเงี้ยว ความข้นหนืด ความหวาน ความเปรี้ยว และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์น้ำมะเงี้ยวสกัดเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยมีคะแนนความชอบอยู่ในช่วงไม่ชอบปานกลางถึงชอบปานกลาง (3.3-7.2) ดังตาราง 4.27

ตาราง 4.27 ค่าคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำมะเขีงสกัดเข้มข้นเมื่อใช้ปริมาณอินูลิน กัมอาร์บิก และซูคราโลสต่างกัน

สิ่งทดลอง	ลักษณะปรากฏ	กลิ่นรสมะเขีง	ความข้นหนืด	ความหวาน	ความเปรี้ยว	ความชอบโดยรวม
1 (I10/A0/S0)	6.0±1.1	6.0±1.3	5.8±0.9	4.2±1.6	4.4±1.5	4.9±1.6
2 (I5/A5/S0)	6.2±1.1	5.7±1.3	5.6±1.0	4.1±1.5	4.4±1.5	4.6±1.5
3 (I7.5/A2.5/S0)	6.4±1.3	6.1±1.4	6.1±1.0	6.0±2.0	5.7±1.7	5.9±1.8
4 (I9.97/A0/S0.03)	6.8±0.8	6.6±0.9	6.2±1.0	5.9±1.5	5.8±1.4	6.1±1.2
5 (I5/A4.97/S0.03)	6.9±1.1	6.7±1.1	6.4±1.1	6.4±1.5	5.9±1.6	6.4±1.4
6 (I7.48/A2.48/S0.03)	6.2±1.2	6.1±1.2	5.8±1.1	5.7±1.7	5.6±1.6	5.8±1.4
7 (I7.49/A2.49/S0.02)	6.6±1.0	5.7±1.1	6.0±1.1	5.3±1.4	5.1±1.4	5.4±1.2
8 (I8.73/A1.25/S0.02)	6.6±0.9	6.2±1.0	5.9±1.1	5.3±1.2	5.4±1.3	5.6±0.8
9. (I6.25/A3.73/S0.02)	6.7±0.7	5.8±1.5	5.8±1.1	5.2±1.6	5.1±1.8	5.2±1.3
10 (I8.32/A1.67/S0.01)	6.4±0.9	5.5±1.6	5.6±1.5	4.2±1.4	4.3±2.0	4.4±1.6
11 (I5/A5/S0)	5.7±1.2	5.4±1.7	5.8±1.3	3.3±1.3	3.5±1.8	3.9±1.5
12 (I10/A0/S0)	5.9±0.9	5.9±1.3	5.8±1.0	4.1±1.4	4.1±1.4	4.4±1.3
13 (I9.97/A0/S0.03)	7.2±0.7	6.4±1.3	6.4±1.1	6.0±2.0	5.8±2.0	6.2±2.0
P-value	0.0126*	0.0167*	0.0389*	0.0070*	0.0188*	0.0266*

I – ปริมาณอินูลิน, A - ปริมาณ กัมอาร์บิก และ S - ปริมาณซูคราโลส

* แสดงถึงแตกต่างในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

จากนั้นนำค่าคุณภาพด้านปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความหนืดของน้ำมะเขีงสกัดเข้มข้น ค่าคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรสมะเขีง ความข้นหนืด ความหวาน ความเปรี้ยวและความชอบโดยรวมมีค่าคะแนนความชอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ไปหาความสัมพันธ์โดยใช้โปรแกรม Design Expert 6.0.2 ได้สมการความสัมพันธ์ (Regression) ดังตาราง 4.28

เมื่อนำสมการแสดงความสัมพันธ์ในตาราง 4.28 ไปหาปริมาณอินูลิน กัมอาร์บิก และซูคราโลสที่เหมาะสมโดยทำการ optimization แบบ numerical โดยกำหนดปัจจัย คือ ค่าคะแนนความชอบในด้าน ลักษณะปรากฏ กลิ่นรสมะเขีง ความข้นหนืด ความหวาน ความเปรี้ยว และความชอบโดยรวม ให้มีค่ามากกว่า 6 คะแนน พบว่า การใช้อินูลินในปริมาณร้อยละ 5.00 กัมอาร์บิกร้อยละ 4.97 และซูคราโลส ร้อยละ 0.03 ในสูตรการผลิตทำให้น้ำมะเขีงสกัดเข้มข้นที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 18.0 องศา บริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่าง 3.06 ค่าความหนืด 4.8 เซนติพอยต์ และมีค่า

คะแนนความชอบด้าน ลักษณะปรากฏ กลิ่นรสเมื่อกี้ยว ความข้นหนืด ความหวาน ความเปรี้ยว และ ความชอบโดยรวม เท่ากับ 6.9, 6.7, 6.4, 6.4, 5.9 และ 6.4 ตามลำดับ

ดังนั้นสูตรที่เหมาะสมของน้ำมะกึ่งสกัดที่พัฒนาได้ ประกอบด้วย น้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น 9 องศาบริกซ์ ร้อยละ 100 โดยมีส่วนผสมอื่น ๆ เทียบกับน้ำหนักของน้ำมะกึ่ง ได้แก่ อินูลิน, กัมอารบิก, ซูคราโลสและเกลือในปริมาณร้อยละ 5.00, 4.97, 0.03 และ 0.05 ตามลำดับ

ตาราง 4.28 สมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินูลิน กัมอารบิก และซูคราโลสที่มีต่อคุณภาพ ทางด้านเคมีกายภาพ และทางด้านประสาทสัมผัสของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น

คุณลักษณะ	สมการความสัมพันธ์	Adj. R ²
TSS (°Brix)	-5209.17093*Sucralose +1.6763*Inulin +1.66512*Arabic +523.89915*Sucralose*Inulin +556.96822*Sucralose*Arabic -9.08255E -004*Inulin*Arabic -5.33270*Sucralose*Inulin*Arabic	0.8585
pH	-2450.4490*Sucralose +0.29347*Inulin +0.32150*Arabic +246.10072*Sucralose*Inulin +244.21234*Sucralose*Arabic -3.41413E-003*Inulin*Arabic +0.36325*Sucralose*Inulin*Arabic	0.8100
ค่าความหนืด (cP)	-1010.28187*Sucralose +0.30363*Inulin +0.74022*Arabic +101.49520*Sucralose*Inulin +112.39609*Sucralose*Arabic -0.030187*Inulin*Arabic -1.74520*Sucralose*Inulin*Arabic	0.8215
ลักษณะปรากฏ	-10866.92753*Sucralose +0.58904*Inulin +0.24376*Arabic +1093.62985*Sucralose*Inulin +1122.93081*Sucralose*Arabic +0.070808*Inulin*Arabic -6.0356*Sucralose*Inulin*Arabic	0.7706
กลิ่นรสเมื่อกี้ยว	+20006.68066*Sucralose +0.59274*Inulin +0.25693*Arabic -2004.64658*Sucralose*Inulin -1981.58603*Sucralose*Arabic +0.049965*Inulin*Arabic -3.86914*Sucralose*Inulin*Arabic	0.7464
ความข้นหนืด	+9122.83289*Sucralose +0.57843*Inulin +0.31237*Arabic -913.2499*Sucralose*Inulin -890.04232*Sucralose*Arabic +0.050126*Inulin*Arabic -4.4075*Sucralose*Inulin*Arabic	0.6552
ความหวาน	+41957.49589*Sucralose +0.40865*Inulin -1.2214*Arabic -4202.15104*Sucralose*Inulin -4137.21046 *Sucralose*Arabic +0.31052*Inulin*Arabic -11.89220*Sucralose*Inulin*Arabic	0.8141
ความเปรี้ยว	+35371.12282*Sucralose +0.4225*Inulin -0.81090*Arabic -3542.45276*Sucralose*Inulin -3498.86969*Sucralose*Arabic +0.23532*Inulin*Arabic -8.26906*Sucralose*Inulin*Arabic	0.7355
ความชอบโดยรวม	+35189.69365*Sucralose +0.45972*Inulin -0.66930*Arabic -3524.29123*Sucralose*Inulin -3475.45778*Sucralose*Arabic +0.21241*Inulin*Arabic -9.05429*Sucralose *Inulin*Arabic	0.6999

4) การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้

จากการพัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตในการทดลองข้างต้น ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมะเข็ญสกัดเข้มข้น ได้ทำการตรวจวัดคุณภาพทางด้านต่าง ๆ โดยสูตรสุดท้ายที่ใช้ในการทดสอบ คือ สูตรที่มีองค์ประกอบ ดังนี้คือ น้ำมะเข็ญสกัดเข้มข้น 9 องศาบริกซ์ ร้อยละ 100 โดยมีส่วนผสมอื่น ๆ เทียบกับน้ำหนักของน้ำมะเข็ญ ได้แก่ อินูลิน, กัมอารบิก, ซูคราโลสและเกลือ ในปริมาณร้อยละ 5.00, 4.97, 0.03 และ 0.05 ตามลำดับ

การตรวจวัดคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ได้ผลดังตาราง 4.29 พบว่ามีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 3.06 ± 0.02 ซึ่งจัดเป็นอาหารในกลุ่มที่มีลักษณะเป็นกรด (acid food) และเมื่อเปรียบเทียบกับข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำมะเข็ญ มผช. 484-2547 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมะเข็ญสกัดเข้มข้นที่พัฒนาได้มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน

ตาราง 4.29 คุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ และจุลินทรีย์ของน้ำมะเข็ญสกัดเข้มข้นที่พัฒนาได้

ค่าคุณภาพ	ปริมาณ
คุณภาพทางเคมีกายภาพ	
ค่าสี L*	20.05±0.04
ค่าสี a*	5.06±0.09
ค่าสี b*	2.44±0.01
ความหนืด (cP)	4.8±0.1
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS, °Brix)	18.0±0.1
ความเป็นกรด - ด่าง (pH)	3.06±0.02
ความเป็นกรดทั้งหมด (TA, %as critic acid)	1.75±0.35
วิตามินซี (mg/100ml)	12.13±3.00
แอนโทไซยานินทั้งหมด(mg/100ml)	8.57±0.08
ฟีนอลทั้งหมด(mg GAE/100ml)	121.44±0.14
ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด(mg QE/100ml)	4.69±0.01
คุณภาพทางจุลินทรีย์	
ปริมาณโคลิฟอร์มทั้งหมด (MPN/ml)	< 3
ยีสต์ - รา (CFU/ml)	1

4.3 ผลลัพธ์เพื่อสุขภาพชนิดเม็ดเคี้ยว

ยาเม็ดเคี้ยว เป็นรูปแบบยาเตรียมที่เป็นของแข็ง ซึ่งแตกตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเคี้ยวหรือปล่อยให้ละลายในปาก เหมาะสำหรับเด็กหรือคนแก่ที่มีปัญหาในการกลืน มีข้อดีคือ จะมีการดูดซึมของตัวยาอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการออกฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็วเช่นกัน การเตรียมสารสกัดจากผลมะเกี๋ยงในรูปแบบยาเม็ดเคี้ยว จึงเหมาะกับผู้บริโภคทุกวัย ทำให้ร่างกายได้รับประโยชน์จากสารสกัดมะเกี๋ยงอย่างคุ้มค่า และให้ผลของฤทธิ์ทางชีวภาพรวดเร็ว

ในการศึกษานี้ได้นำเนื้อผลมะเกี๋ยงแห้งและสารสกัดจากเนื้อผลมะเกี๋ยงมาใช้ในการเตรียมตำรับเม็ดเคี้ยว ซึ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ผลดังนี้

ตาราง 4.30 การประเมินตำรับยาเม็ดเคี้ยวมะเกี๋ยง

ลำดับ	รายการประเมิน	ตำรับที่					
		1	2	3	4	5	6
1	กระบวนการผลิตแกรนูล	สะดวก	สะดวก	สะดวก	สะดวก	สะดวก	สะดวก
2	สีแกรนูล	ม่วงแดง	ม่วงแดง	ม่วงแดง	ม่วงแดง	ม่วงแดง	ม่วงแดง
3	LOD %	1.36	1.17	6.04	2.50	2.00	2.38
4	การไหลของแกรนูล	ขึ้นง่าย	ขึ้นง่าย	ขึ้นง่าย	ดีมาก	ดีมาก	ดีมาก
5	กระบวนการตอกเม็ด	ติดสาก	ติดสาก	ติดสาก	ไม่ติดสาก	ไม่ติดสาก	ไม่ติดสาก
6	ความแข็ง (กก.)	8.77	6.89	15.40	3.33	5.00	8.07
7	สีของเม็ดยา	ลาย ม่วงแดง (ขึ้นง่าย)	ลาย ม่วงแดง (ขึ้นง่าย)	ลาย ม่วงแดง (ขึ้นง่าย)	ลาย ม่วงแดง มันวาว	ลาย ม่วงแดง มันวาว	ลาย ม่วงแดง มันวาว
8	รสชาติ กลิ่น	หวาน	หวาน	หวาน	เปรี้ยว กลิ่นมะเกี๋ยง	เปรี้ยว กลิ่นมะเกี๋ยง	เปรี้ยว กลิ่นมะเกี๋ยง
9	ความพึงพอใจ	น้อย	น้อย	น้อย	มาก	มาก	มาก

ตำรับที่ 1 จะใช้สารสกัดมะเกี๋ยงและสารช่วยในยาเม็ดเคี้ยวทั่วไป ที่จะต้องมีสารให้ความหวานคือ mannitol, xyletol, icing sugar และสารดูดซับ คือ lactose, corn starch ส่วนตำรับที่ 2 และ 3 จะมีการเติมเนื้อมะเกี๋ยงบดแห้งลงในตำรับด้วย แต่พบว่าตำรับทั้ง 3 ได้เม็ดยาที่มีความหวานไม่ได้รับรสชาติของมะเกี๋ยง และแกรนูลที่เตรียมได้ดูดความชื้นง่าย เมื่อนำไปตอกเป็นเม็ดยา ทำให้เม็ดยายึดติดกับหน้าสากล่าง แม้ว่าจะแก้ไขโดยการเติมสารดูดซับ คือ Cab-O-Sil ในปริมาณสูงก็ไม่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้

ในตำรับที่ 4 และ 5 จึงใช้เฉพาะเนื้อมะเกี๋ยงแห้งบด ซึ่งมีสีแดงสวย มีความชื้นต่ำ ไม่ชื้นง่าย มีรสชาติ และกลิ่นของมะเกี๋ยง มาผสมกับสารเพิ่มปริมาณ คือ Lactose และใช้สารยึดเกาะ คือ polyvinylpyrrolidone K90 5 % ในน้ำ เมื่อนำไปผลิตเป็นยาเม็ดพบว่าไม่มีปัญหาในกระบวนการผลิต

แต่ในตำรับที่ 6 จะมีการใส่สารสกัดมะเข็ญลงไปเพื่อให้มีปริมาณสารสำคัญต่อเม็ดสูงขึ้น เป็นผลให้ผู้บริโภคได้รับสารสำคัญต่อหน่วยบริโภคสูงขึ้นด้วย ซึ่งเม็ดยาที่ได้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของยา รูปแบบเม็ดเคี้ยวและไม่มีปัญหาในกระบวนการผลิต จึงเหมาะสมที่จะเป็นตำรับสำหรับการผลิตในปริมาณมากต่อไป

ตำรับยาเม็ดเคี้ยวมะเข็ญที่เหมาะสมประกอบด้วยสารสกัดมะเข็ญ 18.99 % เนื้อมะเข็ญบดแห้ง 18.99 % แลคโตส 56.98 % PVP K90 1.24 % Purified talc. 2.85 % และ Magnesium stearate 0.95 %

ผลจากการควบคุมคุณภาพของเม็ดยาจากหัวข้อต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

1) ลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

- เม็ดยา มีลักษณะกลมรี สีชมพูปนขาว ตมแล้วได้กลิ่นมะเข็ญ

2) ความแปรปรวนของน้ำหนักเม็ดยา

ตาราง 4.31 แสดงค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเม็ดยาที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	ความแปรปรวนของน้ำหนักเม็ดยา (g)
0	Room Temperature	1.1458 ± 0.0461
1	30	1.1460 ± 0.0567
	40	1.1480 ± 0.0591
3	30	1.1331 ± 0.0629
	40	1.1388 ± 0.0761
6	30	1.1639 ± 0.0535
	40	1.1415 ± 0.0657

3) ความแข็ง

ตาราง 4.32 แสดงค่าความแข็งของเม็ดยาที่เก็บไว้ในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	ความแข็ง (Kg)
0	Room Temperature	12.4 ± 3.3610
1	30	7.3 ± 2.8402
	40	6.2 ± 1.4376
3	30	4.7 ± 1.2483
	40	6.7 ± 1.3754
6	30	5.8 ± 1.5492
	40	5.9 ± 1.5776

4) ความกร่อน

ตาราง 4.33 แสดงค่าความกร่อนของเม็ดยาที่เก็บในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	ความกร่อน (%)
0	Room Temperature	0.0299
1	30	0.0061
	40	1.5454
3	30	0.0940
	40	0.0767
6	30	0.4241
	40	0.3292

5) การแตกตัว

ตาราง 4.34 แสดงค่าการแตกตัวของเม็ดยาที่เก็บในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลาที่เม็ดยาแตกตัว (min)
0	Room Temperature	18.95
1	30	26.51
	40	38.51
3	30	15.35
	40	25.95
6	30	15.45
	40	15.18

6) ความเป็นกรด - ต่าง

ตาราง 4.35 แสดงค่าความเป็นกรด-ต่างของเม็ดยาที่เก็บในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	ความเป็นกรด-ต่าง (pH)
0	Room Temperature	3.0
1	30	3.0
	40	3.0
3	30	3.0
	40	3.0
6	30	3.0
	40	3.0

7) การดูความชื้น

ตาราง 4.36 การดูความชื้นของเม็ดยาในสภาวะต่าง ๆ

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	การดูความชื้น
0	Room Temperature	3.81 ± 0.0700
1	30	0.31 ± 0.1274
	40	0.31 ± 0.1048
3	30	0.55 ± 0.0697
	40	0.57 ± 0.0529
6	30	5.04 ± 1.4175
	40	5.29 ± 1.3996

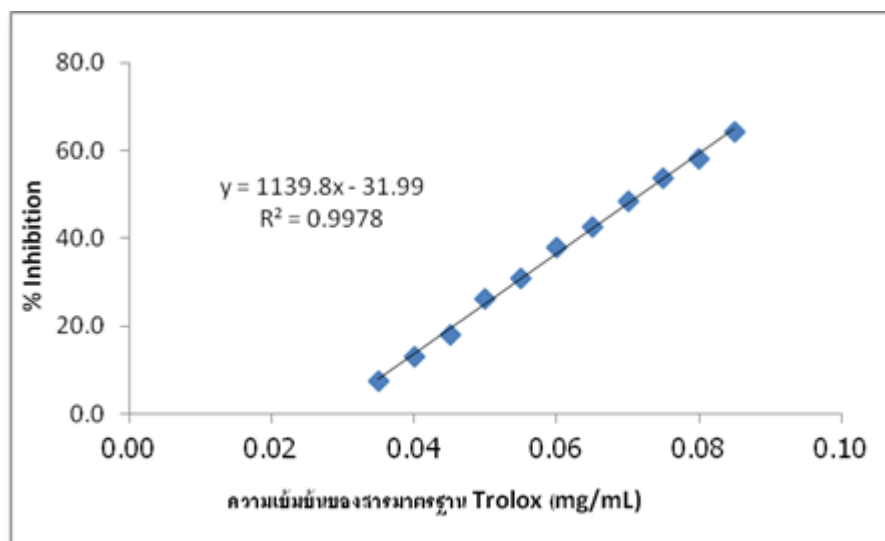
8) ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์สมุนไพรตามทีระบุใน TP Supplement 2005 (ภาคผนวก ง)

9) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ตาราง 4.37 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox และ % inhibition

Conc. Trolox (mg/mL)	%inhibition
0.035	7.46
0.040	13.00
0.045	18.09
0.050	26.24
0.055	30.89
0.060	37.85
0.065	42.46
0.070	48.49
0.075	53.62
0.080	58.08
0.085	64.24



ภาพ 4.17 แสดงความสัมพันธ์ของสารมาตรฐาน Trolox และ % inhibition

ตาราง 4.38 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างคำนวณเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และรายงานเป็นค่า TEAC values

Stability (month)	อุณหภูมิ (°C)	% Inhibition	TEAC (mg Trolox /g sample)
0	-	85.51	51.54 ± 0.34
1	30	80.65	48.73 ± 0.43
	40	80.26	48.50 ± 0.71
3	30	78.13	47.21 ± 0.17
	40	77.41	46.78 ± 0.54
6	30	78.40	47.38 ± 0.54
	40	76.96	46.50 ± 0.40

10) ผลจากการประเมินความพึงพอใจ

ระดับความพึงพอใจจากตัวอย่าง ลักษณะรูปทรงของเม็ดยามีความพึงพอใจมาก ส่วนความแข็งและสี มีความพึงพอใจน้อย เวลาชิมรู้สึกมีปริมาณแป้งอยู่ มีรสชาติเปรี้ยวมาก ไม่ค่อยมีรสฝาดและขม หวานน้อย โดยยาเม็ดเคี้ยวในตำรับที่ 6 ให้ความพึงพอใจในระดับสูงสุด ซึ่งหากมีการปรับปรุงรสชาติให้กลมกล่อมขึ้น น่าจะเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้ตำรับหนึ่ง

4. 4 ชาผลไม้พื้นบ้านเพื่อสุขภาพ

1) การศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาที่มีต่อมะเกี๋ยงอบแห้ง

ในการศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งมะเกี๋ยงได้ทำการวางแผนทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ที่ได้ผันแปรอุณหภูมิในการอบอยู่ในช่วง 60-90°C และเวลาในการอบอยู่ในช่วง 120-240 นาทีพบว่าจะทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยในช่วง 1.78-3.48 % ,ปริมาณน้ำอิสระเฉลี่ยในช่วง 0.28-0.38 และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยอยู่ในช่วง 3.78-4.04 ตามผลการทดลองตาราง 4.39 และเมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างพบว่า ร้อยละของความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้กำหนดให้การผลิตผลิตภัณฑ์ชาที่มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก และปริมาณน้ำอิสระไม่เกิน 0.5 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทดลองนี้สามารถใช้สิ่งทดลองใดก็ได้ในการผลิตมะเกี๋ยงอบแห้ง โดยในการทดลองต่อไปจะเลือกใช้สิ่งทดลองแรก คือ ใช้อุณหภูมิในการอบ 60°C และใช้เวลาในการอบนาน 120 นาทีที่ความเร็วลมในการอบเท่ากับ 5 ในการใช้มะเกี๋ยงอบแห้งเพื่อพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ต่อไป

ตาราง 4.39 ผลการทดลองผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีต่อมะเกี๋ยงอบแห้ง

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	%ความชื้น	A_w	pH
1	60.00	120.00	3.44±0.53	0.38±0.00	4.04±0.02
2	90.00	120.00	1.78±0.27	0.31±0.00	3.84±0.01
3	60.00	240.00	2.98±0.53	0.32±0.00	3.84±0.00
4	90.00	240.00	3.31±0.55	0.34±0.00	3.91±0.00
5	53.79	180.00	3.48±0.30	0.34±0.00	3.98±0.00
6	96.21	180.00	0.96±0.13	0.28±0.01	4.00±0.01
7	75.00	95.15	2.80±0.17	0.30±0.01	3.78±0.00
8	75.00	264.85	1.86±0.02	0.28±0.01	3.84±0.01
9	75.00	180.00	3.32±0.76	0.32±0.00	3.78±0.00
10	75.00	180.00	2.90±0.11	0.34±0.01	3.81±0.00

2) การสำรวจความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้ง

จากผลการทดสอบผู้บริโภคจำนวน (n=200) ที่มีอายุในช่วงระหว่าง 15-60 ปีพบว่าในการสำรวจผู้บริโภคเบื้องต้นเกี่ยวกับมะเกี๋ยงมีผู้บริโภครู้จักมะเกี๋ยงเพียงร้อยละ 25 และเมื่อทำการชิมชาจากมะเกี๋ยงผู้บริโภคมีความต้องการให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติหวานร้อยละ 81

ในการสำรวจการยอมรับของผู้บริโภคในคุณลักษณะต่าง ๆ ที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงโดยวิธี 9 point hedonic scale พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีชอบปานกลางถึงชอบมาก (7.1 ± 1.3) รสเปรี้ยวไม่ชอบเล็กน้อยถึงเฉยๆ (5.0 ± 1.6) กลิ่นรสมะเกี๋ยงเฉย ๆ ถึงชอบเล็กน้อย (5.5 ± 1.5) ความรู้สึกหลังกลืนเฉย ๆ ถึงชอบเล็กน้อย (5.1 ± 1.5) และความชอบโดยรวมเฉย ๆ ถึงชอบเล็กน้อย (5.7 ± 1.4) ดังตาราง 4.40

ดังนั้นในการทดลองที่ 3 จะทำการพัฒนาสูตรชามะเกี๋ยงอบแห้งโดยการนำพืชสมุนไพรมาใช้เพิ่มรสหวาน คือ กล้วยหวาน เนื่องจากกล้วยหวานมีสารให้ความหวานที่มีรสชาติหวานคล้ายคลึงกับน้ำตาลทราย แต่การออกรสหวานของสารหวานในกล้วยหวานจะไม่เหมือนกับของน้ำตาลทรายที่เดียวเพราะจะออกรสหวานช้ากว่าน้ำตาลทรายเล็กน้อยและรสหวานจะจางหายไปช้ากว่าน้ำตาลทรายนอกจากนี้ยังเป็นสารที่ไม่มีคุณค่าทางอาหารเพราะมีปริมาณแคลอรีต่ำมากเมื่อเทียบกับน้ำตาลทรายเนื่องจากไม่ถูกย่อยให้เกิดพลังงานในร่างกาย และสารหวานในกล้วยหวานยังทนต่อความร้อนและสภาวะความเป็นกรดเป็นด่างได้ดีรวมทั้งยังเป็นสารที่มีพิษเฉียบพลันต่ำและปลอดภัยสูงจึงเหมาะกับผู้รักสุขภาพ และเป็นโรคเบาหวาน ความดันต่ำ

ตาราง 4.40 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงอบแห้ง

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ*
สี	7.1 ± 1.3
รสเปรี้ยว	5.0 ± 1.6
กลิ่นรสมะเกี๋ยง	5.5 ± 1.5
ความรู้สึกหลังกลืน	5.1 ± 1.5
ความชอบโดยรวม	5.7 ± 1.4

หมายเหตุ: * ($X \pm SD$) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

3) การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งสูตรต้นแบบ

จากผลการทดสอบผู้ทดสอบ (n=50) สูตรที่มีมะเกี๋ยง 1.5 กรัม และหญ้าหวานอบแห้ง 0.5 กรัมโดยวิธี 9 point hedonic scale พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสี ชอบปานกลางถึงชอบมาก (7.1 ± 0.9) กลิ่นรสมะเกี๋ยงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.5 ± 1.2) รสเปรี้ยวชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.1 ± 1.3) รสหวานชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.5 ± 1.3) ความรู้สึกหลังกลืนชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.4 ± 1.4) และความชอบโดยรวมชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (6.5 ± 1.2) ดังตาราง 4.41 และเมื่อให้ผู้ทดสอบหาความพอดีของผลิตภัณฑ์ (JAR) ในคุณลักษณะต่าง ๆ ดังตาราง 4.42 พบว่าผู้ทดสอบมีความพอใจในสีของผลิตภัณฑ์ร้อยละ 69 กลิ่นรสมะเกี๋ยงผู้ทดสอบพอใจร้อยละ 57 รสเปรี้ยวผู้ทดสอบอยากให้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ร้อยละ 55 รสหวานผู้ทดสอบพอใจร้อยละ 58 ซึ่งจะเห็นได้ว่าผู้ทดสอบต้องการให้ปรับปรุงในคุณลักษณะต่าง ๆ ทั้งน้อยลงและมากขึ้น รวมทั้งคะแนนความพอดียังไม่ถึงร้อยละ 70 และเมื่อนำชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งไปวิเคราะห์ทางกายภาพพบว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.14 ± 0.04

ตาราง 4.41 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้ง
สูตรต้นแบบ

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ*
สี	7.1 ± 0.9
กลิ่นรสมะเกี๋ยง	6.5 ± 1.2
รสเปรี้ยว	6.1 ± 1.3
รสหวาน	6.5 ± 1.3
ความรู้สึกหลังกลืน	6.4 ± 1.4
ความชอบโดยรวม	6.5 ± 1.2

หมายเหตุ: * ($X \pm SD$) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ตาราง 4.42 คะแนนความพอดีในคุณลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้ง
สูตรต้นแบบ

คุณลักษณะ	ทิศทางในการปรับปรุงพัฒนาผลิตภัณฑ์(ร้อยละ)				
	อ่อนเกินไปมาก	อ่อนเกินไป	พอดี	เข้มเกินไป	เข้มเกินไปมาก
สี	0	31	69	0	0
กลิ่นรสมะเกี๋ยง	4	24	57	13	2
รสเปรี้ยว	2	55	35	8	0
รสหวาน	2	18	58	18	4

4) การศึกษาหาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้ง

จากการให้ผู้ทดสอบ (n=50) ให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะต่าง ๆ โดยวิธี 9 point hedonic scale ทั้ง 9 สูตรพบว่าเมื่อนำผลการวัดค่าทางประสาทสัมผัสได้คะแนนความชอบโดยเฉลี่ยในคุณลักษณะด้านสีอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงชอบมากโดยสูตรที่ 1 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น ๆ (7.6 ± 1.1) ด้านกลิ่นรสผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงชอบปานกลางโดยสูตรที่ 1 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น (6.3 ± 1.1) รสเปรี้ยว ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบเฉย ๆ ถึงชอบปานกลางโดยสูตรที่ 1 และ 4 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น ๆ สำหรับความชอบในด้านรสหวาน ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงชอบปานกลางโดยสูตรที่ 4 และ 6 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น (6.3 ± 1.3) และ (6.3 ± 1.5) ตามลำดับ ความรู้สึกหลังกลืน ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงชอบปานกลางโดยสูตรที่ 6 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น (6.2 ± 1.3) ความชอบโดยรวมผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉย ๆ ถึงชอบปานกลางโดยสูตรที่ 1 และ 4 ผู้ทดสอบจะให้คะแนนความชอบมากกว่าสูตรอื่น (6.3 ± 1.1) และ (6.3 ± 1.1) ตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติแบบ Response surface ใน 3-Level Factorial โดยกำหนดให้มะเกี๋ยง และหญ้าหวานอยู่ช่วงที่ศึกษา และให้ได้คะแนนค่าตอบสนองมากที่สุดได้ Model ของแต่ละคุณลักษณะ ดังตาราง 4.45 และได้สูตรที่เหมาะสมอยู่ทั้งหมด 2 สูตรที่ให้ค่าคาดคะแนนความชอบอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลางดังตาราง 4.46 เมื่อนำไปวัดค่าสี (L^* a^* b^*) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เพื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าค่าสี (L^* a^* b^*) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเมื่อทำการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างโดยวิธี LSD ได้ผลดังตาราง 4.47

ตาราง 4.43 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งในคุณลักษณะด้านสีกลิ่นรส รสเปรี้ยว ความรู้สึกหลังกลืน และความชอบโดยรวม

สิ่งทดลอง	มะเกี๋ยงอบแห้ง (กรัม)	หญ้าหวานอบแห้ง (กรัม)	คะแนนความชอบ*		
			สี	กลิ่นรส	รสเปรี้ยว
1	1.50	0.25	7.6±1.1	6.3±1.1	6.1±1.1
2	2.00	0.25	6.6±1.2	6.0±1.1	5.6±1.3
3	2.50	0.25	6.6±1.2	6.0±1.1	5.9±1.2
4	1.50	0.50	6.4±1.2	6.2±0.9	5.9±1.3
5	2.00	0.50	5.9±1.5	6.2±1.0	5.8±1.5
6	2.50	0.50	5.9±1.5	6.0±1.2	6.1±1.3
7	1.50	0.75	6.1±1.4	5.8±1.0	5.5±1.2
8	2.00	0.75	5.2±1.7	5.6±1.1	5.6±1.4
9	2.50	0.75	5.3±1.4	5.7±1.1	5.5±1.1

ตาราง 4.44 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งในคุณลักษณะด้านสีกลิ่นรส รสหวาน ความรู้สึกหลังกลืน และความชอบโดยรวม

สิ่งทดลอง	มะเกี๋ยง อบแห้ง (กรัม)	หญ้าหวาน อบแห้ง (กรัม)	คะแนนความชอบ*		
			รสหวาน	ความรู้สึก หลังกลืน	ความชอบ โดยรวม
1	1.50	0.25	5.7±1.3	6.1±1.0	6.3±1.1
2	2.00	0.25	5.8±1.4	5.7±1.3	5.8±1.3
3	2.50	0.25	5.8±1.3	5.9±1.3	5.9±1.2
4	1.50	0.5	6.3±1.3	6.1±1.2	6.3±1.2
5	2.00	0.5	5.7±1.3	5.9±1.4	5.9±1.3
6	2.50	0.5	6.3± 1.5	6.2±1.3	6.2±1.2
7	1.50	0.75	5.2±1.2	5.6±1.0	5.5±1.0
8	2.00	0.75	5.7±1.3	5.7±1.2	5.6±1.2
9	2.50	0.75	5.5±1.3	5.7±1.1	5.7±1.1

หมายเหตุ: * (X ± SD) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ตาราง 4.45 Model ของคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้ง

คุณลักษณะ	Model	P	Adj R ²
สี	+16.45556-7.63333*มะเกี๋ยง-6.26667*หญ้าหวาน + 1.66667* มะเกี๋ยง ² + 2.66667*หญ้าหวาน ² + 0.40000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.0086	0.9499
กลิ่นรส	+7.42222-1.46667*มะเกี๋ยง +2.13333*หญ้าหวาน +0.26667* มะเกี๋ยง ² -3.73333*หญ้าหวาน ² +0.40000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.0483	0.8374
ความชอบ โดยรวม	+9.92222-4.16667*มะเกี๋ยง+2.13333*หญ้าหวาน + 0.86667* มะเกี๋ยง ² -5.33333*หญ้าหวาน ² +1.20000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.0558	0.8203
ความรู้สึก หลังกลืน	+8.32222-2.96667*มะเกี๋ยง + 2.86667*หญ้าหวาน + 0.66667* มะเกี๋ยง ² -4.53333*หญ้าหวาน ² + 0.60000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.1670	0.6075
รสเปรี้ยว	+8.28889-2.86667*มะเกี๋ยง+ 2.26667*หญ้าหวาน + 0.66667* มะเกี๋ยง ² -3.73333*หญ้าหวาน ² +0.40000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.3354	0.3301
รสหวาน	+5.6222-1.13333*มะเกี๋ยง+6.33333*หญ้าหวาน+0.26667* มะเกี๋ยง ² -7.73333*หญ้าหวาน ² +0.40000*มะเกี๋ยง*หญ้าหวาน	0.4739	0.1040

ตาราง 4.46 สูตรที่เหมาะสมในการผลิตชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งจากการคัดคะแนนทางสถิติ

สูตรชามะเกี๋ยง	1	2
มะเกี๋ยง	1.50	2.50
หญ้าหวาน	0.38	0.42
สี	6.99697	6.05816
กลิ่นรส	6.32205	6.07962
รสเปรี้ยว	6.03902	6.00181
รสหวาน	6.03734	6.03734
ความรู้สึกล้นกลืน	6.14806	6.14806
ความชอบโดยรวม	6.34704	6.34704
<i>Desirability</i>	<i>0.881038</i>	<i>0.70282</i>

ตาราง 4.47 การวิเคราะห์ทางกายภาพในการวัดค่าสี และ pH ของผลิตภัณฑ์ชาจากมะเกี๋ยงผสม
หญ้าหวานอบแห้ง 9 สิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	มะเกี๋ยง		ค่าที่วัดได้			
	อบแห้ง (g)	หญ้าหวาน อบแห้ง (g)	pH	L*	a*	b*
1	1.50	0.25	4.22 ^{cd} ±0.01	29.13 ^{ab} ±0.04	1.96 ^{ab} ±0.18	1.50 ^e ±0.06
2	2.00	0.25	4.07 ^f ±0.01	29.10 ^{ab} ±0.09	1.70 ^{abcd} ±0.12	1.83 ^{de} ±0.21
3	2.50	0.25	4.23 ^c ±0.00	29.41 ^a ±0.14	1.27 ^{de} ±0.41	1.51 ^e ±0.14
4	1.50	0.5	4.27 ^b ±0.01	28.87 ^{abc} ±0.13	1.37 ^{cde} ±0.06	2.49 ^{cde} ±0.28
5	2.00	0.5	4.23 ^c ±0.01	28.35 ^{cd} ±0.80	1.86 ^{abc} ±0.30	2.60 ^{cde} ±0.61
6	2.50	0.5	4.30 ^a ±0.01	28.66 ^{bcd} ±0.23	1.45 ^{bcde} ±0.05	2.94 ^{bcd} ±0.68
7	1.50	0.75	4.12 ^e ±0.01	28.20 ^{cd} ±0.12	2.20 ^a ±0.35	3.08 ^{bc} ±0.06
8	2.00	0.75	4.30 ^a ±0.00	28.71 ^{bcd} ±0.06	0.92 ^e ±0.20	3.81 ^{ab} ±0.92
9	2.50	0.75	4.20 ^d ±0.01	28.12 ^d ±0.26	1.02 ^e ±0.28	4.25 ^a ±0.73
<i>P-value</i>			<i>0.0000</i>	<i>0.0222</i>	<i>0.0066</i>	<i>0.0039</i>

หมายเหตุ: * ($X \pm SD$) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

5) การศึกษาหาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ขามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งผลิตภัณฑ์สุดท้าย

จากการให้ผู้ทดสอบ (n=50) ให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะต่าง ๆ โดยวิธี 9 point hedonic scale พบว่าผู้ทดสอบมีความชอบด้านสีมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบปานกลางถึงชอบมาก กลิ่นรสมะเกี๋ยงมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบปานกลางถึงชอบมาก รสเปรี้ยวมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง รสหวานมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบปานกลางถึงชอบมาก ความรู้สึกหลังกลืนมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบปานกลางถึงชอบมาก และความชอบโดยรวมมีคะแนนความชอบเฉลี่ยอยู่ระหว่างชอบปานกลางถึงชอบมาก ดังตาราง 4.48 และเมื่อทดสอบหาความพอดีของคุณลักษณะต่าง ๆ พบว่าทุกคุณลักษณะมีคะแนนความพอดีมากกว่าร้อยละ 70 ดังตาราง 4.49

เมื่อนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายไปวิเคราะห์คุณภาพได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 20.14 mg GAE/g, ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด 1.45 mg QE/g, ร้อยละความชื้น 5.9, ปริมาณน้ำอิสระ 0.45, ค่าสี L*, a*, b* เท่ากับ 29.16, 1.1.9 และ 1.51 ตามลำดับค่า pH 4.30 จำนวนแอโรบิกแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่า 1×10^3 cfu/g และจำนวนยีสต์และเชื้อรา น้อยกว่า 10 cfu/g ดังตาราง 4.50

ตาราง 4.48 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ขามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวานอบแห้งผลิตภัณฑ์สุดท้าย

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ*
สี	7.2±1.2
กลิ่นรสมะเกี๋ยง	7.2±0.8
รสเปรี้ยว	6.9±1.1
รสหวาน	7.1±1.3
ความรู้สึกหลังกลืน	7.0±0.9
ความชอบโดยรวม	7.3±0.7

หมายเหตุ: * ($X \pm SD$) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2= ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4= ไม่ชอบเล็กน้อย 5= เฉยๆ 6= ชอบเล็กน้อย 7= ชอบปานกลาง 8= ชอบมาก 9= ชอบมากที่สุด

ตาราง 4.49 คะแนนความพอดีในคุณลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวาน
อบแห้งผลิตภัณฑ์สุดท้าย

คุณลักษณะ	ทิศทางการปรับปรุงพัฒนาผลิตภัณฑ์ (ร้อยละ)				
	อ่อนเกินไปมาก	อ่อนเกินไป	พอดี	เข้มเกินไป	เข้มเกินไปมาก
สี	0	6	88	6	0
กลิ่นรสมะเกี๋ยง	0	14	84	2	0
รสเปรี้ยว	0	26	72	2	0
รสหวาน	0	12	84	4	0

หมายเหตุ: * ($X \pm SD$) 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2= ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4= ไม่ชอบเล็กน้อย
5= เฉยๆ 6= ชอบเล็กน้อย 7= ชอบปานกลาง 8= ชอบมาก 9= ชอบมากที่สุด

ตาราง 4.50 ค่าที่วัดได้จากการประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ลักษณะคุณภาพ	ค่าที่วัดได้
คุณภาพทางกายภาพ	
L*	29.16
a*	1.19
b*	1.51
pH	4.30
คุณภาพทางเคมี	
ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด(mg GAE/g)	20.14
ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg QE/g)	1.45
ปริมาณน้ำอิสระ (Aw)	0.45
ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	5.9
คุณภาพทางจุลินทรีย์	
แอโรบิกแบคทีเรีย (cfu/g)	น้อยกว่า 1×10^3
ยีสต์และเชื้อรา(cfu/g)	น้อยกว่า 10

6) ผลการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ชามะเกี๋ยงผสมหญ้าหวาน

ตาราง 4.51 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างคำนวณเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และรายงานเป็นค่า TEAC values ในตัวอย่างชาชงที่เวลา 3 นาที

Stability (เดือน)	sample	% DPPH scavenging	TEAC (mg Trolox /g sample)
0	1	62.52	13.89 ± 0.01
	2	59.59	
	3	69.27	
	เฉลี่ย	63.79	
1	1	60.24	13.45 ± 1.45
	2	61.87	
	3	63.13	
	เฉลี่ย	61.75	
3	1	60.37	13.09 ± 0.84
	2	59.16	
	3	60.78	
	เฉลี่ย	60.10	
6	1	59.18	12.84± 0.70
	2	58.14	
	3	59.47	
	เฉลี่ย	58.93	

ตาราง 4.52 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างคำนวณเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox และรายงานเป็นค่า TEAC values ในตัวอย่างชาชงที่เวลา 5 นาที

Stability (เดือน)	sample	% DPPH scavenging	TEAC (mg Trolox /g sample)
0	1	64.70	13.81 ± 0.00
	2	63.98	
	3	61.73	
	เฉลี่ย	63.47	
1	1	62.51	13.66 ± 0.77
	2	63.64	
	3	62.15	
	เฉลี่ย	62.77	
3	1	62.61	13.66 ± 0.15
	2	62.85	
	3	62.87	
	เฉลี่ย	62.78	
6	1	61.57	13.56 ± 0.64
	2	62.54	
	3	62.79	
	เฉลี่ย	62.30	

5. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

5.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

5.1.1 ผลการทดสอบการละลายของสารสกัด

การทดสอบการละลายของสารสกัด ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น , 95 % ethanol, glycerin, propylene glycol, cetiol, mineral oil , 10 % tween 20, 20 % tween 20 โดยเติมตัวทำละลายในสารสกัดให้มีความเข้มข้น 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เขย่าด้วย vortex mixer ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตลักษณะการละลายที่ได้ จากนั้นทดสอบความคงสภาพของสารละลายดังกล่าว พบว่าให้ผลดังแสดงในตาราง 4.53

ตาราง 4.53 ผลการทดสอบการละลายของสารสกัดมะเกี๋ยงในตัวทำละลายต่าง ๆ

สารละลาย	ผลการละลาย		
	อัตราส่วน 1:1 (1mg : 1mg)	อัตราส่วน 1:10 (1mg:10mg)	อัตราส่วน 1:100 (1mg :100mg)
1.น้ำกลั่น	ละลาย	ละลาย	ละลาย
2.Ethanol	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
3.Glycerin	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
4.Propylene Glycol	ละลาย	ละลาย	ละลาย
5.Cetiol	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
6.Mineral oil	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
7.Tween 80	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
8.Isopropyl alcohol	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
9. 10%Tween 20	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี
10. 20%Tween20	ละลายดี	ละลายดี	ละลายดี

พบว่าสารสกัดดังกล่าวละลายได้ดีในน้ำกลั่น, propylene glycol และ tween 20

5.1.2 ผลการทดสอบความคงสภาพต่อความเป็นกรดแก่และต่างแก่ของสารสกัดมะเขี๋ยง

เติมกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 20 % N และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 M ลงในสารละลายของสารสกัดเพื่อปรับสภาพความเป็นกรด-ต่าง ให้มีค่าความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 (โดยให้ค่า pH ของสารละลายสารสกัดที่ยังไม่ได้เติมกรดหรือต่างเป็นตัวควบคุม) สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเกิดขึ้นทันที และเมื่อเก็บสารละลายสารสกัดดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิห้องที่ป้องกันแสง, อุณหภูมิ 4°C, 45°C และระบบ Heating/Cooling สลับกัน 6 รอบ เป็นเวลา 6 เดือน

จากผลการทดลอง pH 1-12 ในสภาวะต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า pH ที่อยู่ในช่วงที่เป็นกรด (1-5) จะไม่ค่อยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี โดยเฉพาะที่สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากสารสกัดมะเขี๋ยงนั้นมีค่า pH ที่อยู่ในช่วงกรด คือ 3.28 จึงทำให้สามารถทนสภาพความเป็นกรดได้ ส่วน pH ที่อยู่ในช่วงที่เป็นเบส (8-12) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสี และบางตัวอย่างเกิดการตกตะกอนทั้งนี้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา ระหว่างสารสกัดกับต่าง รายละเอียดดังแสดงในตาราง 4.54

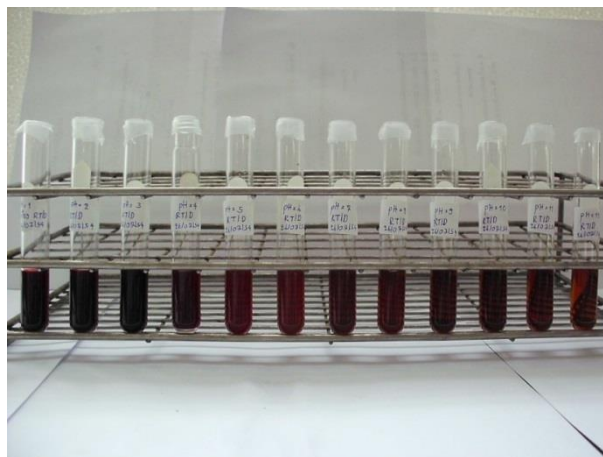
ตาราง 4.54 ผลการทดสอบความคงสภาพต่อความเป็นกรดแก่และเบสแก่

(สังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเกิดขึ้นทันที)

pH	การเปลี่ยนแปลงของ pH เริ่มต้น
1	สีแดง (***)
2	สีแดง (****)
3	สีแดงเข้ม (*****)
4	สีแดง (**)
5	สีแดง (*)
6	สีแดงอมส้ม
7	สีแดงอมเขียว
8	สีแดงอมส้ม
9	สีส้มอมเหลือง (****)
10	สีส้มอมเหลือง (***)
11	สีส้มอมเหลือง (**)
12	สีส้มอ่อน

หมายเหตุ ระดับความเข้ม กำหนด

*****	มากที่สุด	**	น้อย
****	มาก	*	น้อยที่สุด
***	ปานกลาง		



ภาพ 4.18 แสดงผลการเปลี่ยนแปลงสารละลายสารสกัดมะเขีง ที่ pH 1-12

ตาราง 4.55 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารสกัดมะเขีง ที่ pH 1-12

pH	การเปลี่ยนแปลง ของ pH เริ่มต้น	อุณหภูมิ 4 ° C	อุณหภูมิ 45 ° C	อุณหภูมิห้อง (สว่าง)	อุณหภูมิห้อง (มืด)	Cycling 6 รอบ
1	สีแดง (***)	สีแดง (***)	สีแดง (***)	สีแดง (***)	สีแดง (****)	สีแดง (***)
2	สีแดง (****)	สีแดง(****)	สีแดง (****)	สีแดงขุ่น (***)	สีแดง (***)	สีแดง (****)
3	สีแดงเข้ม (*****)	สีแดง(*****)	สีแดง(*****)	สีแดงขุ่น(*****)	สีแดงเข้ม(*****)	สีแดง (*****)
4	สีแดง (**)	สีแดง(**)	สีแดง (**)	สีส้มขุ่น	สีแดง (**)	สีแดง (**)
5	สีแดง (*)	สีแดง(*)	สีแดง (*)	สีแดงอมส้ม	สีแดง (*)	สีแดงอมส้ม
6	สีแดงอมส้ม	สีแดงอมส้ม	สีส้มใส	สีน้ำตาลอมส้มขุ่น (****)	สีแดงอมส้ม	สีส้มอมเหลือง
7	สีแดงอมเขียว	สีน้ำตาลอมส้ม (***)	สีน้ำตาลอมส้มขุ่น	สีน้ำตาลอมส้มใส (***)	สีส้มขุ่น (***)	สีน้ำตาลอมส้ม (***)
8	สีแดงอมส้ม	สีน้ำตาลอมส้ม (**)	สีส้มขุ่น	น้ำตาลอมส้มใส (***)	สีแดงอมส้มขุ่น	สีน้ำตาลอมส้ม (**)
9	สีส้มอมเหลือง(*****)	สีน้ำตาลอมส้ม (**)	สีน้ำตาลอมส้มขุ่น เข้ม	น้ำตาลอมส้มใส (***)	สีส้มใส (**)	สีน้ำตาลอมส้ม (**)
10	สีส้มอมเหลือง(***)	สีน้ำตาลขุ่น	สีส้มอมเหลืองใส	สีเหลืองขุ่น ตกตะกอน	สีส้มใส (**)	สีส้มใส (**)
11	สีส้มอมเหลือง (**)	สีน้ำตาลอมส้ม (*)	สีส้มอ่อนขุ่น	สีน้ำตาลเข้มขุ่น (*****)	สีส้มใส (**)	สีน้ำตาลอมส้ม (***)
12	สีส้มอ่อน	สีเหลืองใส	สีเหลืองใส	สีเหลืองใส	สีเหลืองใส	สีเหลืองอมส้ม

หมายเหตุ ระดับความเข้ม กำหนด

*****)	มากที่สุด	**	น้อย
****)	มาก	*	น้อยที่สุด
***)	ปานกลาง		



ภาพ 4.19 ผลการเปลี่ยนแปลงสารละลายสารสกัดมะเขีง ที่ pH 1-12 ณ อุณหภูมิ 5 ° C และ 45 ° C



ภาพ 4.20 ผลการเปลี่ยนแปลงสารละลายสารสกัดมะเขีง ที่ pH 1-12 ณ อุณหภูมิห้อง (สว่าง) และ อุณหภูมิห้อง (มืด)



ภาพ 4.21 ผลการเปลี่ยนแปลงสารละลายสารสกัดมะเขีง ที่ pH 1-12 Cycling 6 รอบ

5.1.3 ผลการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของสารสกัด

การทดสอบอาการระคายเคืองเบื้องต้นของสารสกัดเมล็ด และเนื้อมะเขือขี้ในกระต่าย พบว่าสารสกัดเมล็ดและเนื้อมะเขือขี้ทั้ง 6 ตัวอย่างไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่าย (ค่า PDII<0.5) ดังแสดงในตาราง 4.56

ตาราง 4.56 คะแนนการประเมินอาการแดงและบวมในกระต่าย

เวลา (ชั่วโมง)	คะแนนเฉลี่ยอาการบวม								
	D	SD	M	SM	T	ST	Blank	1.5%SLS	PG
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PDI ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PDII ³	0	0	0	0	0	0	0	0	0
เวลา (ชั่วโมง)	คะแนนเฉลี่ยอาการแดง								
	D	SD	M	SM	T	ST	Blank	1.5%SLS	PG
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PDI ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PDII ³	0	0	0	0	0	0	0	0	0

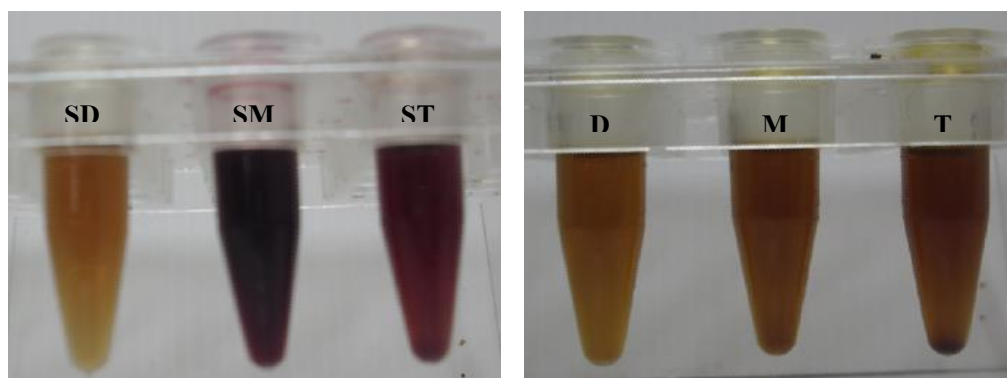
¹ คะแนนเฉลี่ยจากกระต่ายทั้ง 3 ตัว

² PDI คือ คะแนนเฉลี่ยอาการแดง / คะแนนเฉลี่ยอาการบวม

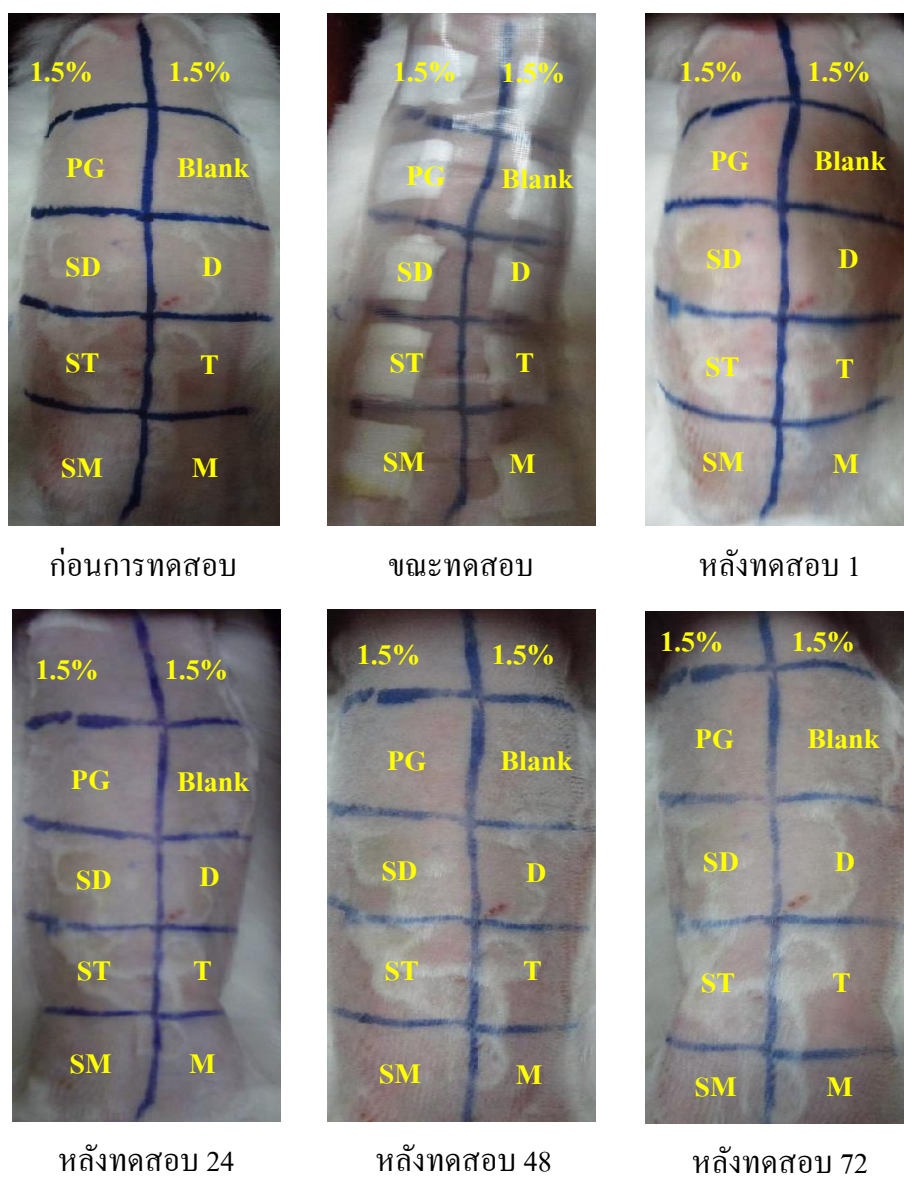
³ คะแนนเฉลี่ยรวมของอาการแดงและอาการบวมที่ช่วงเวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ของกระต่ายทั้ง 3 ตัว ทหารด้วยจำนวนเวลาที่ประเมิน

SLS Positive control

PG (Propylene glycol) Negative control



ภาพ 4.22 ลักษณะของสารสกัดมะเกี๋ยงโดยใช้ Propylene glycol เป็นตัวทำละลาย



ภาพ 4.23 ผลการทดสอบการระคายเคืองของสารสกัดมะเกี๋ยงในกระต่าย

5.2 ผลการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์พอกหน้า (face mask)

ในการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์พอกหน้า ได้เตรียมตำรับพื้นทั้งหมด 10 สูตร (M1A-M1D, M2A-M2F) โดยมีส่วนผสมของ kaolin light, magnesium carbonate, titanium dioxide, glycerin, corn starch, vitamin E acetate, ดินสอพอง, xanthan gum, methyl cellulose, conc. paraben และ water ปริมาณต่าง ๆ กัน ในตำรับ

พิจารณาลักษณะทางกายภาพเพื่อคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุด ผลดังแสดงในตาราง 4.57 พบว่าตำรับสูตรที่ดีที่สุดคือ M1D และ M2E เนื่องจากเนื้อของครีมพอกหน้าเนียนคล้ายครีม มีความหนืดพอดี เมื่อทากระจายตัวดี และล้างออกง่าย pH อยู่ในช่วงที่เป็นกลาง จึงเหมาะสำหรับใบหน้า นำมาศึกษาความคงสภาพเบื้องต้นใน 5 สภาวะคือ อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิห้อง (ป้องกันแสง), อุณหภูมิ 4⁰ C, อุณหภูมิ 45⁰ C และ อุณหภูมิร้อน (45⁰C) – เย็น (4⁰C) สลับกัน 6 รอบ ผลการศึกษาพบว่า มีความคงตัวดี

ผลิตภัณฑ์พอกหน้าจัดทำเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่สามารถนำสารสกัดมะเกี๋ยงมาใช้ในรูปแบบนี้ได้ แต่ไม่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการใช้ ในงานวิจัยนี้

ตาราง 4.57 ผลการประเมินตำรับครีมพอกหน้า

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ	ลักษณะทั่วไปเมื่อทา
M1A	เนื้อครีมเหลว เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวไม่ค่อยดี แห้งช้า ไม่ติดผิว ล้างออกง่าย
M1B	เนื้อครีมคล้ายโลชั่น หนืดกว่า M1A เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวไม่ค่อยดี แห้งดีขึ้นกว่า M1A ไม่ค่อยติดผิว ล้างออกง่าย
M1C	เนื้อครีมหนืดคล้ายครีมขึ้น เนื้อเนียน ไม่เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M1D	เนื้อครีมหนืดขึ้นพอดี เนื้อเนียน ไม่แยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M2A	เนื้อครีมหนืดมาก เนื้อไม่ค่อยเนียนไม่เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ไม่ติดผิว ล้างออกง่าย
M2B	เนื้อครีมหนืดน้อยลง เนื้อเนียน กว่า M2A ไม่เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M2C	เนื้อครีมหนืดน้อย เนื้อเนียน ไม่เกิดการแยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M2D	เนื้อครีมหนืดขึ้น เนื้อเนียน ไม่แยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M2E	เนื้อครีมหนืดพอดี เนื้อเนียน ไม่แยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย
M2F	เนื้อครีมหนืดขึ้น เนื้อเนียน ไม่แยกชั้น มีกลิ่นคล้ายแป้ง	กระจายตัวดี แห้งเร็ว ติดผิวดี ล้างออกง่าย



M1D

M2E



M1D

M2E

ภาพ 4.24 ลักษณะทางกายภาพตำรับผลิตภัณฑ์พอกหน้า สูตร M1D และ M2E และที่ผสมสารสกัดจากมะเขือ

5.3 ผลการพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว (body lotion)

ในการเตรียมตำรับโลชั่นบำรุงผิว ได้เตรียมตำรับทั้งหมด 10 สูตร (1A-4A, 1B-3B, 1C-3C) โดยส่วนผสมของ stearic acid, cetyl alcohol, jojoba oil, isopropyl palmitate, lanolin alcohol, squalane, glyceryl monostearate, vitamin E acetate, propylene glycol, tween 80, mineral oil, conc. paraben และ water ปริมาณต่าง ๆ กัน ในตำรับ

พิจารณาลักษณะทางกายภาพเพื่อคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุด ดังแสดงในตาราง 4.58 พบว่าตำรับที่ดีที่สุดคือ สูตร 1D, 2C และ 3B เนื่องจากเนื้อครีมเหลวคล้ายโลชั่น เนื้อเนียน เมื่อทาจะกระจายตัวดี ซึมซับดี และมีความมันที่เหมาะสม หลังจากทำการศึกษาความคงสภาพ พบว่าเนื้อโลชั่นไม่มีการแยกชั้นทั้ง 3 สูตร นำมาศึกษาความคงสภาพเบื้องต้นใน 5 สภาวะคือ อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิห้อง (ป้องกันแสง), อุณหภูมิ 4⁰ C, อุณหภูมิ 45⁰ C และ อุณหภูมิร้อน (45⁰C) – เย็น (4⁰C) สลับกัน 6 รอบ ตำรับที่มีความคงสภาพดีนั้น นำมาทำการผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง และศึกษาความคงสภาพของโลชั่นมะเกี๋ยง ตำรับที่ดีเลือกไปทดสอบประสิทธิภาพในการใช้ ดังรายละเอียดในส่วนของ การทดสอบประสิทธิภาพในอาสาสมัคร

ตาราง 4.58 ผลการประเมินตำรับโลชั่น

สูตรที่	ลักษณะทางกายภาพ	ลักษณะทั่วไปเมื่อทา
1A	เนื้อโลชั่นคล้ายเนื้อครีม เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับช้า มีความมันมาก
1B	เนื้อโลชั่นคล้ายเนื้อครีมน้อยกว่า1A เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ไม่ค่อยมัน
1C	เนื้อเหลวเป็นโลชั่น เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ไม่ค่อยมัน
1D	เนื้อเหลวเป็นโลชั่น เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ความมันพอดี
2A	เนื้อคล้ายเนื้อครีม เนื้อไม่ค่อยเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ไม่ค่อยมัน
2B	เนื้อโลชั่นคล้ายเนื้อครีม เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับช้า มีความมันมาก
2C	เนื้อเหลวเป็นโลชั่น เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ความมันพอดี
3A	เนื้อโลชั่นคล้ายเนื้อครีม เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ไม่ค่อยมัน
3B	เนื้อเหลวเป็นโลชั่น เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ความมันพอดี
3C	เนื้อเหลวมาก เนื้อเนียน	กระจายตัวดี ซึมซับดี ความมันพอดี



ภาพ 4.25 ลักษณะทางกายภาพตำรับโลชั่นบำรุงผิวที่คัดเลือก และที่ผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

ตาราง 4.61 การตั้งตำรับสบู่อะลูมิเนียม Tex-AD-Am สูตรที่ 6.2/1-6.2/5

สูตรที่	6.2/1	6.2/2	6.2/3	6.2/4	6.2/5
Texapon N40	15	15	15	15	15
plantacare	8	8	8	8	8
AD 25	4	4	4	4	4
Aminon	2	2	2	2	2
Glycerin	5	5	5	3.5	4.5
NaCl	2	2	2	3.5	2.5
Bronidox	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Citric acid (20%)	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Eucalyptus oil	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
DI water	63.17	62.97	62.77	63.17	63.17
Vitamin E acetate	-	-	0.2	-	-
น้ำผึ้ง	-	-	0.2	-	-
Coconut oil	-	0.2	-	-	-

ตาราง 4.62 การตั้งตำรับสบู่อะลูมิเนียม Tex-AB-Am

สูตรที่	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8
Texapon N40	8	7	7	8	7	7	7	10
plantacare	4	2	2	2	2	2	2	4
AB 25	2	2	2	2	2	2	2	-
Aminol	2	3	4	4	3	4	4	3
Glycerin	2	2	2	2	2	2	3	5
NaCl	2.5	1.5	-	-	-	-	-	-
Bronidox	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Eucalybtus oil	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Propylene glycol	-	2	2	2	2	2	3	5
Vitamin E acetate	-	-	0.25	-	-	-	-	-
น้ำผึ้ง	-	-	-	-	3	2	-	-
AB 55	-	-	-	-	-	-	-	5
Water	29	30	29	29	28	28	28	15.5

สปูเหลวพื้นที่ตั้งตำรับ แบ่งเป็นกลุ่ม ๆ ตามองค์ประกอบสำคัญที่ใช้ได้ ดังนี้

1. สูตร Tex-AD มี 6 สูตร คือ 1-6
2. สูตร AD มี 9 สูตร คือ 4-12
3. สูตร Tex-AD-Am มี 5 สูตร คือ 6.2/1-6.2/5
4. สูตร Tex-AB-Am Y1-Y8

ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.63 ผลการทดลองสรุปได้ว่า สปูเหลวพื้นที่ที่ดีที่สุดของการทดลองนี้ คือ Tex-AD สูตรที่ 6, Tex-AD-Am สูตรที่ 6.2/5 และสูตร Y7 ที่ 1 เนื่องจากสปูมีความใส ไม่เกิดการแยกชั้น pH ค่อนข้างเป็นกลางเหมาะสำหรับผิวหนัง และ มีความหนืดดี

สูตรสปูเหลวพื้นที่คัดเลือกแล้ว เพียงสูตรเดียวได้แก่ Y7 สูตรที่1 ศึกษาความคงสภาพ ในสภาวะที่กำหนดหลังผ่านสภาวะต่างกัน 5 สภาวะ คือ เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง (มืด และสว่าง) , 4 °C, 45 °C และ สลับอุณหภูมิ 4 °C และ 45 °C 6 รอบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง สปูเหลวมีค่า pH เท่ากับ 5-6 ซึ่งอยู่ใน ช่วงที่ค่อนข้างเหมาะสมกับผิวและเหมาะสมกับสารสกัดมะเขือ ซึ่งค่อนข้างเป็นกรด จึงมีความเหมาะสม อีกทั้งมีความหนืดปานกลาง หลังล้าง สะอาด ผิวไม่แห้ง

ตาราง 4.63 ผลการตั้งตำรับสปูเหลวพื้น Tex-AD, AD สูตรที่ 4-12, Tex-AD-Am สูตรที่ 6.2/1-6.2/5 และ สูตรสปูเหลวพื้น Y1-Y8 สูตรที่ 1

สูตรที่	pH	ลักษณะ	ระดับความหนืด
Tex-AD 1	6-7	ขุ่น ไม่เกิดการแยกชั้น	+
Tex-AD 2	6-7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
Tex-AD 3	6-7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
Tex-AD 4	6-7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Tex-AD 5	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Tex-AD 6	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
AD 4	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
AD 5	8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
AD 6	8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
AD 7	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
AD 8	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
AD 9	6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
AD 10	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
AD 11	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
AD 12	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
Tex-AD-Am 6.2/1	8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
Tex-AD-Am 6.2/2	5	เกิดการแยกชั้น ขุ่น	++
Tex-AD-Am 6.2/3	5	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
Tex-AD-Am 6.2/4	6	ขุ่น เกิดการแยกชั้น	+++
Tex-AD-Am 6.2/5	6 - 7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
Y1	7-8	ขุ่น เกิดการแยกชั้น	++
Y2	8	ขุ่น เกิดการแยกชั้น	++
Y3	8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Y4	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Y5	6-7	สีเหลืองใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Y6	6-7	สีเหลืองใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
Y7	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
Y8	7-8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++

การประเมินผล สบู่เหลว

การทดสอบคุณสมบัติด้านต่าง ๆ ของสบู่เหลว ดังแสดงรายละเอียดในตาราง 4.64 – 4.65

ตาราง 4.64 ผลการประเมินสบู่เหลวตามคุณสมบัติด้านต่าง ๆ

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ	ปริมาณฟอง	ความอ่อนโยน ต่อผิวหนัง	การชำระล้าง สิ่งสกปรก	การล้างออก ด้วยน้ำ
AD 5	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++	++++	+++	+++
AD 6	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++	++++	+++	+++
AD 7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	++++	+++	+++
AD 8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	+++	+++	++++
AD 9	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	+++	+++	++++
AD 10	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++	+++	+++	+++
AD 11	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++	+++	+++	+++
AD 12	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	+++	+++	+++
Tex-AD-Am 6.2/1	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	++++	+++	+++
Tex-AD-Am 6.2/2	เกิดการแยกชั้น ชุ่น	++	+++	++	++
Tex-AD-Am 6.2/3	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++	++++	++	+++
Tex-AD-Am 6.2/4	เกิดการแยกชั้น ชุ่น	+++	+++	+++	++
Tex-AD-Am 6.2/5	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++	+++	+++	++++
Y1	ชุ่น เกิดการแยกชั้น	+++	+++	++	+++
Y2	ชุ่น เกิดการแยกชั้น	+++	+++	++	+++
Y3	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++++	++++	+++	++++
Y4	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++++	++++	+++	++++
Y5	สีเหลืองใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++	+++++	++++	++++
Y6	สีเหลืองใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++	+++++	++++	++++
Y7	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++++	+++++	++++	++++
Y8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++++	+++++	++++	++++

หมายเหตุ การให้คะแนนเป็นดังนี้

- +++++ = ดีมาก
- ++++ = ดี
- +++ = ปานกลาง
- ++ = พอใช้
- + = ควรปรับปรุง

ตาราง 4.65 การประเมินผลฟองของสบู่เหลว

สูตร	0 min		5 min		10 min		15 min		20 min	
	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด
AD5	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD6	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD7	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD8	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD9	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD10	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD11	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
AD12	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	<100	<50	<100
Tex-AD- Am 6.2/1	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Tex-AD- Am 6.2/2	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Tex-AD- Am 6.2/3	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Tex-AD- Am 6.2/4	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Tex-AD- Am 6.2/5	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y1	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y2	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Y3	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Y4	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100	<50	>100
Y5	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y6	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y7	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y8	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100

ผลการทดสอบการผสมสปู่เหลวกับสารสกัดมะเกี๋ยง

จากการทดสอบผสมสปู่เหลวที่เลือกจากสูตรที่ดีที่สุด คือ สปู่เหลวสูตร Y7 กับสารสกัดมะเกี๋ยง 0.5 % แล้วนำมาศึกษาความคงสภาพ สภาวะคือที่ อุณหภูมิ 5 °C , อุณหภูมิ 45 °C, อุณหภูมิห้องมืด, อุณหภูมิห้องสว่าง, อุณหภูมิ 30 °C 65 %, อุณหภูมิ 40 °C 75 % และ cycling ปรากฏว่า ผลของสปู่เหลวพื้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่สปู่เหลวที่ผสมสารสกัดมะเกี๋ยงเกิดการแยกชั้น จึงมีการพัฒนาสปู่เหลวสูตร Y8 ซึ่งได้ทำการศึกษาความคงสภาพเบื้องต้นของสปู่เหลวพื้นในสภาวะที่ อุณหภูมิ 5 °C, อุณหภูมิ 45 °C, อุณหภูมิห้องมืด, อุณหภูมิห้องสว่าง และ cycling ปรากฏว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด สปู่เหลวสูตร Y8 นำไปผสมกับสารสกัดมะเกี๋ยง

สปู่เหลวมะเกี๋ยง หลังปรับบัฟเฟอร์ ให้มีค่าความเป็นกรดต่างเข้าใกล้คุณสมบัติของมะเกี๋ยง ได้ค่าความเป็นกรด ต่าง ที่ 6 โดยค่าก่อนปรับบัฟเฟอร์ มีค่าความเป็นกรด ต่าง เป็น 7.5 ความหนืดคงเดิม เช่นเดียวกับลักษณะทางกายภาพ ปริมาณฟอง ความอ่อนโยนต่อผิวหนัง การชำระล้างสิ่งสกปรก การล้างออกด้วยน้ำ และ ปริมาณ และ ความเสถียรของฟอง มีค่าไม่แตกต่างกัน (ตาราง 4.66-4.67) โดยผลการศึกษาความคงตัวของสปู่เหลว (ดังตาราง 4.68-4.70) พบว่า สปู่เหลวมะเกี๋ยงเมื่อทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง และ สภาวะร้อนสลับเย็น รวมเป็นเวลาสามเดือน พบว่า ค่าค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ไม่เกินหนึ่งหน่วย (ตาราง 4.69) สปู่เหลว มีสีเปลี่ยนแปลงไปทางส้มอมแดง จากเดิมมีสีแดง ใส จะเห็นว่าแม้จะทดสอบสภาวะเร่ง แต่สีไม่เปลี่ยนแปลง แต่ในสภาวะอื่น เช่นที่อุณหภูมิ 4 °C ผ่านไป 3 เดือน สีเปลี่ยนแปลง แสดงว่าการปรับ ค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) สามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับการไม่เติมบัฟเฟอร์ แต่ความคงตัวของฟองยังไม่เปลี่ยนแปลง (ตาราง 4.70) ผลความพึงพอใจแสดงในตาราง 4.71

ตาราง 4.66 ผลทางกายภาพของสปู่เหลวสูตร Y8 และ Y8*

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ	pH	ปริมาณ ฟอง	ความอ่อนโยน ต่อผิวหนัง	การชำระล้าง สิ่งสกปรก	การล้างออก ด้วยน้ำ
Y8	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	7.5	+++++	+++++	++++	++++
Y8 *	ใส ไม่เกิดการแยกชั้น	6	+++++	+++++	++++	++++

หมายเหตุ การให้คะแนนเป็นดังนี้

+++++ = มาก +++++ = ดี +++ = ปานกลาง
 ++ = พอใช้ + = ควรปรับปรุง

ตาราง 4.67 การประเมินผลฟองของสปู่เหลว Y8 และ Y8*

สูตร	0 min		5 min		10 min		15 min		20 min	
	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด
Y8	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Y8*	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100

ตาราง 4.68 ผลการทดสอบความคงตัวของสปู่เหลวผสมสารสกัดมะเกี๋ยง สูตร Y8*

ระยะเวลา	ลักษณะ	ระดับความหนืด
เริ่มต้น	สีแดงเข้มใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++++
4°C 1 เดือน	สีแดงเข้มใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
4°C 3 เดือน	สีส้มอมแดงใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
45°C 1 เดือน	สีแดงเข้มใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
45°C 3 เดือน	สีส้มอมแดงใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+
RT 1 เดือน	สีแดงเข้มใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++
RT 3 เดือน	สีส้มอมแดงใส ไม่เกิดการแยกชั้น	++
Cyclic	สีแดงเข้มใส ไม่เกิดการแยกชั้น	+++

ตาราง 4.69 ผลการเปลี่ยนแปลง ค่า pH ของสปู่เหลวผสมสารสกัดมะเกี๋ยง สูตร Y8*

สูตรที่	อุณหภูมิ (°C)	pH				
		ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	เฉลี่ย	±SD
Y8*	RT 1 เดือน	5.41	5.34	5.47	5.406667	0.065
	RT 3 เดือน	5.12	5.23	5.31	5.22	0.095
	4°C 1 เดือน	5.4	5.36	5.42	5.3933	0.030
	4°C 3 เดือน	5.33	5.41	5.45	5.3967	0.061
	45°C 1 เดือน	5.23	5.28	5.13	5.2133	0.076
	45°C 3 เดือน	4.92	4.84	5.12	4.96	0.144
	Cyclic	5.2	5.1	5.4	5.2333	0.153

ตาราง 4.70 ผลการทดสอบปริมาณฟองของสปู่เหลวผสมสารสกัดมะเกี๋ยง สูตร Y8*

สูตร	0 min		5 min		10 min		15 min		20 min	
	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด	หยาบ	ละเอียด
เริ่มต้น	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
4°C 1 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
4°C 3 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
45°C 1 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
45°C 3 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
RT 1 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
RT 3 เดือน	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100
Cyclic	>50	>100	>50	>100	>50	>100	<50	>100	<50	>100

ตาราง 4.71 ความพึงพอใจในการใช้สบู่เหลวมะเกี๋ยง Y8* (จำนวน n= 20)

ความพึงพอใจ					
ลักษณะของสบู่เหลว	ดีมาก	ดี	พอใช้	น้อย	ควรปรับปรุง
ก่อนใช้					
1. สี	6	12	2	-	-
2. กลิ่น	6	10	3	1	-
3. ความหนืด	5	9	6	1	-
4. ปริมาณฟอง	3	9	7	1	-
5. การกระจายบนผิว	9	9	2		-
จำนวนคน	5	5	5	3	-
รวม 405 คะแนน	145	196	60	4	-
ร้อยละคะแนนรวม	35.8	48.4	14.81	0.99	-
หลังใช้					
1. กลิ่น	3	13	3	1	-
2. ความสะอาด	7	8	5	-	-
3. ความชุ่มชื้น	7	9	4	-	-
4. ความตึงผิว	6	10	3	-	-
5. ความพึงพอใจโดยรวม	4	13	3	-	-
จำนวนคน	5	5	5	1	-
รวม 405 คะแนน	135	212	54	4	-
ร้อยละคะแนนรวม	33.3	52.4	13.33	0.99	-
ก่อนใช้					
1. สี	6	12	2	-	-
2. กลิ่น	6	10	3	1	-
3. ความหนืด	5	9	6	1	-
4. ปริมาณฟอง	3	9	7	1	-
5. การกระจายบนผิว	9	9	2		-
จำนวนคน	5	5	5	3	-
รวม 405 คะแนน	145	196	60	4	-
ร้อยละคะแนนรวม	35.8	48.4	14.81	0.99	-
หลังใช้					
1. กลิ่น	3	13	3	1	-
2. ความสะอาด	7	8	5	-	-
3. ความชุ่มชื้น	7	9	4	-	-
4. ความตึงผิว	6	10	3	-	-
5. ความพึงพอใจโดยรวม	4	13	3	-	-
จำนวนคน	5	5	5	1	-
รวม 405 คะแนน	135	212	54	4	-
ร้อยละคะแนนรวม	33.3	52.4	13.33	0.99	-

จากตารางแสดงความพึงพอใจของอาสาสมัครที่ใช้สบู่เหลวมะเกี๋ยง จะเห็นได้ว่า คະแนนโดยรวมของผลิตภัณฑ์อันได้แก่ สี กลิ่น การกระจายบนผิว ความสะอาด และ ความชุ่มชื้นผิว จะอยู่ในช่วงดีมาก ถึงดีโดยด้านความพึงพอใจระดับดีมากมีคะแนนความถี่สูงสุด (9 คน ใน 20 คน) คือ การกระจายบนผิว ของสบู่เหลว รองลงมาคือ ความสะอาด และ ความชุ่มชื้นผิว (7 คนใน 20 คน) อาสาสมัครเห็นว่า กลิ่น ควรทำการปรับปรุงเล็กน้อย

หลังจากการนำสบู่เหลวสูตร Y 8 มาปรับโดยใช้สารละลาย buffer pH 5.4 เป็นสูตร Y8* แล้วนำมาผสมกับสารสกัดมะเกี๋ยง 0.5 % จากนั้นนำไปทำ stability ที่สภาวะ 4°C, 45°C, RT เป็นเวลา 1- 3 เดือน และ cycling 6 รอบ (4 °C 48 ชั่วโมง สลับ 45 °C 48 ชั่วโมง) ปรากฏว่า สบู่มะเกี๋ยงมีสีแดงเข้ม สีความหนืดดี เมื่อล้างมีฟองมากและ ละเอียดย ล้างออกง่าย หลังจากล้าง ผิวไม่แห้ง และรู้สึกสะอาด แต่หลังจากผ่านมา 3 เดือน สีของมะเกี๋ยงเริ่มเปลี่ยนจากสีแดงเข้มเป็นสีส้มอมแดงใส ความหนืดลดลงเล็กน้อย แต่การทำความสะอาดยังได้ผลดีเหมือนเดิม

ข้อเสนอแนะ การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสบู่เหลว อาจมีผลดีในการปรับคุณสมบัติด้านสีของสารสกัดมะเกี๋ยง เพียงเล็กน้อย อาจพิจารณา วิธีการเพิ่มความคงตัวของสารสกัดในระยะต่อไป หรือปรับเปลี่ยนรูปแบบสบู่เหลว ที่ไม่มีประจุ และ มีความเป็นกลางมากขึ้น



ภาพ 4.26 สบู่มะเกี๋ยง Y8* ณ วันที่ 0



ภาพ 4.27 สบู่มะเกี๋ยง Y8* เก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน

5.5 ผลการพัฒนาเจลล้างหน้า

หลักการเลือกใช้สารองค์ประกอบที่อ่อนโยนไม่ระคายเคือง สารทำความสะอาดต้องไม่เป็นสารที่เป็นต่างมากเกินไป ควรมี ค่า pH อยู่ระหว่าง 4-5 มีสารก่อกเจลที่ทำให้ผิวหน้าอ่อนนุ่ม ล้างแล้วเย็นผิวหน้า สารทุกตัว มีรายงานว่าปลอดภัยสำหรับผิวหน้า ดังนี้

ตาราง 4.72 สารองค์ประกอบในเจลล้างหน้า

สาร	ประโยชน์
Glycerin	ช่วยในการหล่อลื่น และ บำรุงผิวพรรณ
Xanthan gum	ทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืด เพิ่มความคงตัว และทำให้อุณหภูมิแขวนลอยได้ดี
Aluminium phosphate gel / Carbopol 941	ใช้เป็นสารก่อกอเจล
EDTA	เสริมประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวและทำให้น้ำเป็นด่าง เพิ่มการทำความสะอาด
Cocamidopropyl betaine (AB 55)	สารช่วยให้เกิดฟองและช่วยชำระล้างชนิดสองประจุ
Silicone oil	สารทำให้เนื้อครีมข้นและช่วยในการละลายตัวของผลิตภัณฑ์ได้ดีขึ้น
Triethanolamine	สารช่วยให้เกิดเจล
Allantoin	-เพิ่มการดูดซึมของ Cephalin ดีขึ้น -ให้ความชุ่มชื้นกับแผลเป็น ทำให้แผลเป็นนูน นุ่มขึ้น -บรรเทาอาการคัน ป้องกันไม่ให้แผลเป็นนูนขยายมากขึ้น -กระตุ้นการสมานแผล -กระตุ้นการสร้างผิวหนัง
Sodium cocyl isethionate	-สารลดแรงตึงผิว,ลดการระคายเคืองต่อผิว

การตั้งตำรับเจลล้างหน้าสารสกัดมะเกี๋ยง

การตั้งตำรับเจลพื้นประกอบด้วยสารก่อเจล สารทำความสะอาดที่อ่อนโยนและสารเพิ่มความชุ่มชื้น ดังแสดงในตาราง 4.73

ตาราง 4.73 เจลพื้นที่ตั้งตำรับ สูตร 1-7

สูตรที่	1	2	3	4	5	6	7
Glycerin	2.5	2.5	2.8	8	8	5	6.5
Xanthan gum	20	20	20	10	15	15	15
Carbopol 941 (2%)	19	19	20	10	10	15	15
EDTA(1%)	0.5	0.5	0.5	2	0.75	0.75	0.75
Aminon	3.5	3.8	3	0.8	2	2.25	2.25
AB 55	1.3	1.5	1.5	0.75	1	1.25	1.25
Silicone oil	1	1	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25
Triethanolamine	1	1	1	5	5	5	3
Allantoin (1%)	0.2	0.2	0.2	3.2	3	3	2.5
Sodium cocyl isethionate	1	0.5	0.5	10	5	2.5	3.5

จากการพัฒนาเจลพื้น สูตร1-7 ได้ผลการทดลองดังตาราง 4.74

ตาราง 4.74 ลักษณะทางกายภาพของเจลพื้น

สูตรที่	pH	ลักษณะของเนื้อเจล	ระดับความหนืด
1	6	สีขาวขุ่น เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	++++
2	6	สีขาวขุ่น เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	++++
3	6	สีขาวขุ่น เนื้อละเอียด มีไม่มีฟองอากาศ	++++
4	5	สีเหลืองอ่อนใส เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	++
5	5	สีเหลืองขุ่น เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	+++
6	6	สีขาวขุ่น เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	+++
7	6	สีเหลืองเข้มขุ่น เนื้อละเอียด ไม่มีฟองอากาศ	+++

เนื้อเจลที่ดีที่สุดของการทดลองนี้ คือ เนื้อเจลสูตรที่ 6 เนื่องจากเนื้อเจลมีสีขาว เนื้อละเอียด มีความหนืดปานกลาง และ pH ค่อนข้างเป็นกลางเหมาะสำหรับผิวหน้า ซึ่งตำรับที่ดีที่สุดคัดเลือกมาแล้วทำการผสมสารสกัดมะเกี๋ยง และการศึกษาความคงสภาพ พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดี

5.6 การพัฒนาตำรับครีมบำรุงมือ

ครีมบำรุงมือใช้ในการดูแลมือไม่ให้แห้ง มีความชุ่มชื้น ในการพัฒนาตำรับครีมบำรุงมือนั้น ต้องทำการปรับคุณสมบัติให้เหมาะสมกับผิว โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม และมีการเพิ่มคุณค่าโดยเติมสารสกัดมะเกี๋ยงในปริมาณ 0.1 % โดยน้ำหนัก ผลการศึกษามีรายละเอียดดังแสดงในตาราง 4.75

ตาราง 4.75 ครีมพื้นบำรุงมือ สูตรพื้นฐาน F 1- F 4

วิธภาค	F 1	F 2	F 3	F 4
น้ำมัน	Stearyl alcohol Cetyl alcohol White bee wax Cetomacrogol1000 Liquid parafin	Cetyl alcohol White bee wax Lanolin oil Squalene Glyceryl monostearate Vitamin E acetate Span 60	Silicon oil 350 Span 60 Cetostearyl alcohol agent Liquid paraffin Hard parafin	Cetyl alcohol Petrolatum Liquid paraffin Isopropyl myristate Glyceryl monostearate Vitamin E acetate Silicone 350 Polyethylene glycol 40 stearate BHT
น้ำ	Propylene glycol Tween 80 Conc. paraben water	Propylene glycol Tween 60 Conc. paraben Water	Glycerin Tween 60 Conc. paraben Water	Carbopol 941 Conc. paraben water

ตาราง 4.76 ครีมพื้นบำรุงมือ สูตรพื้นฐาน F 2-1, TeA, DiM, YAM และ Moist HD

วิธภาค	F 2-1	TeA	DiM	YAM	Moist HD
น้ำมัน	Coconut oil Glyceryl - monostearate Mineral oil Stearic acid	Cetyl alcohol Coconut oil Mineral oil Span 80 Stearyl alcohol	Cetostearyl alcohol Coconut oil Dimethicone Hard paraffin Liquid paraffin Span 80	Cetyl alcohol Coconut oil Glyceryl monostearate Span 80 Squalane Vitamin E White bees wax	BHT Cetyl alcohol Coconut oil Dimethicone Mineral oil Petrolatum Span 80 Stearic acid Vitamin E acetate
น้ำ	Glycerin Triethanolamine Water	Conc. paraben Propylene glycol Tween 80 Water	Conc. paraben Glycerin Tween 80 Water	Conc. paraben Propylene glycol Tween 80 Water	Citric acid Conc. Paraben Glycerin Propylene glycol Triethanolamine Tween 80 Water

ตาราง 4.77 ครีมพื้นบำรุงมือ สูตร RxB และ MHL0

วิธภาค	RxB	MHL0
น้ำมัน	BHT Cetyl alcohol Coconut oil Glyceryl monostearate Isopropyl myristate Mineral oil PEG-40 stearate Petrolatum Silicone oil	Bee wax Cetyl alcohol Span 20
น้ำ	Carbopol 941 Conc. paraben Water	Conc. paraben Lactic acid Sorbitol solution Tween 20

ตาราง 4.78 ครีมพื้นสูตรบำรุงมือสูตร RxB1 และ RxB2 พัฒนาจาก RxB

วิธภาค	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)	
		RxB 1	RxB 2
น้ำมัน	Glyceryl monostearate	2	4
	Cetyl alcohol	2	4
	Petrolatum	2	2
	Mineral oil	1	2
	Isopropyl myristate	1	1
	Avocado oil	2	2
	BHT	0.01	0.01
	PEG- 40 stearate	2	3
	Silicone oil	1.5	2.5
	ไขกระบก	2	2
น้ำ	Carbopol 941 2%	7	8
	Conc.paraben	1	1
	Water	76.49	68.5

ตาราง 4.79 ครีมพื้นบำรุงมือ Lactic acid cream (สูตรดั้งเดิม)

วิธภาค	สารเคมี	ปริมาณ (กรัม)			
		สูตร1	สูตร2	สูตร3	สูตร4
น้ำมัน	Cetyl alcohol	20	25	18	15
	Bee wax	3	5	4	3
	Span 20	3.08	0.54	3.85	3.73
น้ำ	Sorbital 70%	15	15	15	15
	Conc.paraben	2	1	1	1
	Tween 20	13.18	9.46	6.15	6.27
	Lactic acid 20%	1	2	1	1
	Water	58.74	42	51	55

ตาราง 4.80 ครีมพื้นบำรุงมือจาก Lactic acid Cream (สูตรปรับปรุง ครั้งที่ 1)

วัสดุภาค	สารเคมี	ปริมาณ (g)	
		สูตร1	สูตร2
น้ำมัน	Cetyl alcohol	10	10
	Bee wax	2	2
	Silicone oil	1	2
	Isopropyl myristate	1	1
	Mineral oil	1	-
	Span 80	0.35	0.35
น้ำ	Sorbitol 70%	7	7
	Conc.paraben	1	0.5
	Tween 80	0.5	1
	Lactic acid 20%	4.65	4.65
	Water	67.5	67.5

ตาราง 4.81 ครีมพื้นบำรุงมือ Lactic acid Cream สูตรปรับปรุง (ครั้งที่ 2)

วัสดุภาค	สารเคมี	ปริมาณ (g)		
		1	2	3
น้ำมัน	Cetyl alcohol	10	12	10
	Glyceryl monostearate	2	4	2
	Silicone oil	2	2	2
	Isopropyl myristate	1	1	1
	Avocado oil	1	1	1
	Span 80	0.05	1.11	0.05
น้ำ	Sorbitol 70%	5	5	5
	Conc.paraben	1	1	1
	Tween 80	4.95	3.89	4.95
	Lactic acid 20%	0.5	0.5	0.5
	Carbopol 940 2%	-	-	5
	Water	72.5	68.5	67.5

จากการพัฒนาครีมพื้น สูตรต่าง ๆ ได้ครีมพื้นี่พัฒนาได้ 22 สูตร มีค่าความเป็นกรด ต่าง แสดงในตาราง 4.82 มีลักษณะทางกายภาพ แสดงในตาราง 4.83 และมีความหนืด แสดงในตาราง 4.84 ดังนี้

ตาราง 4.82 ค่า pH ของครีมพื้นสูตรที่พัฒนา 22 สูตร

หมายเลขที่	ตำรับ	pH
1	F 1	5
2	F 2	5
3	F 3	6
4	F 4	6
5	F 2 – 1	8
6	TeA	5
7	Dim	6
8	YAM	6
9	Moist HD	6
10	RxB	6
11	MHLo	8
12	RXB 1	5-6
13	RXB 2	5-6
14	Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 1	5
15	Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 2	5
16	Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 3	5
17	Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 4	5
18	Lactic acid cream สูตรปรับปรุง 1	4-5
19	Lactic acid cream สูตรปรับปรุง 2	4-5
20	Lactic acid cream สูตรใหม่ 1	4-5
21	Lactic acid cream สูตรใหม่ 2	4-5
22	Lactic acid cream สูตรใหม่ 3	4-5

ตาราง 4.83 ลักษณะของครีมพื้น 22 ตำรับ

ตำรับ	ลักษณะทางกายภาพ	ความเป็นมัน การแผ่กระจาย เมื่อทดลองทา
F 1	หนืด เนื้อเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ไม่ค่อยติดผิวดี ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
F 2	หนืดแข็ง เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
F 3	ไม่ค่อยหนืด เนื้อเนียน คล้ายโลชั่น ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
F 4	หนืด เนื้อเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
F 2 – 1	หนืด เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่ค่อยวาว	ไม่ค่อยมัน ไม่ค่อยติดผิว ดูดซึมดี แผ่กระจายเล็กน้อย
TeA	หนืด เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่ค่อยวาว	ไม่ค่อยมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายเล็กน้อย
DiM	หนืดแข็ง เนื้อเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
YAM	หนืดแข็ง เนื้อเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
MoistHD	หนืด เนื้อคล้าย vasalin วาว	เป็นมัน ติดผิวดี ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
RxB	หนืด เนื้อเนียน ไม่ค่อยวาว	เป็นมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
MHLo	หนืด เนื้อค่อนข้างเนียน ไม่วาว	เป็นมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี
RXB 1	หนืดคล้ายโลชั่น เนื้อเนียน วาว	ไม่ค่อยมัน ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
RXB 2	หนืดคล้ายครีม เนื้อเนียน วาว	เป็นมันดี ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี
Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 1	หนืดมาก แข็งคล้าย wax เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่ค่อยวาว	ไม่เป็นมัน ไม่ค่อยติดผิว ดูดซึมเร็ว ไม่ค่อยแผ่กระจาย
Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 2	หนืดมาก แข็งคล้าย wax เนื้อไม่ค่อยเนียน ไม่ค่อยวาว	ไม่เป็นมัน ไม่ค่อยติดผิว ดูดซึมเร็ว ไม่ค่อยแผ่กระจาย
Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 3	หนืดจับตัวเป็นก้อน เนื้อเนียน วาว	ไม่ค่อยมัน ไม่ค่อยติดผิว ดูดซึมเร็ว แผ่กระจายเล็กน้อย
Lactic acid cream สูตรดั้งเดิม 4	หนืดจับตัวเป็นก้อน เนื้อเนียน วาว	ไม่ค่อยมัน ไม่ค่อยติดผิว ดูดซึมเร็ว แผ่กระจายเล็กน้อย
Lactic acid cream สูตรปรับปรุง 1	หนืดจับตัวเป็นก้อน เนื้อเนียน วาว	ไม่ค่อยมัน ติดผิวเล็กน้อย ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
Lactic acid cream สูตรปรับปรุง 2	หนืดจับตัวเป็นก้อน เนื้อเนียน วาว	ไม่ค่อยมัน ติดผิวเล็กน้อย ไม่ค่อยดูดซึม แผ่กระจายดี
Lactic acid cream สูตรใหม่ 1	หนืด ลักษณะคล้ายโลชั่น เนื้อค่อนข้างเนียน วาว	มันเล็กน้อย ติดผิวเล็กน้อย ดูดซึมดี แผ่กระจายเล็กน้อย
Lactic acid cream สูตรใหม่ 2	หนืด ลักษณะคล้ายครีม เนื้อเนียน วาว	มันดี ติดผิวเล็กน้อย ดูดซึมดี แผ่กระจายเล็กน้อย
Lactic acid cream สูตรใหม่ 3	หนืด ลักษณะคล้ายครีม เนื้อเนียน วาว	มันดี ติดผิวดี ดูดซึมดี แผ่กระจายดี

ตาราง 4.84 ความหนืดของครีม

ตำรับ	% ความหนืด (Pa s)
F 2 – 1	0.7232
TeM	0.7035
DiM	1.0122
YAM	1.6847
MoistHD	1.3565
RxB2	0.2218
MHLo	0.5756
Lactic acid cream สูตรใหม่ 3	0.7726

สูตรที่เหมาะสมสำหรับการทำครีมบำรุงมือ ของ มะเกี๋ยง คือ สูตร RxB เนื่องจากมีความหนืดปานกลาง เนื้อเนียน ไม่เป็นวาว เป็นมันไม่มากนัก ติดผิวดี ดูดซึมน้ำดี และ แผ่กระจายดี รวมทั้งยังมี ค่า pH ที่สามารถเข้ากับสารสกัดมะเกี๋ยงได้

ผลการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง เมื่อครบเวลา 6 รอบ สามารถผ่านการทดสอบได้ จึงสามารถนำไปพัฒนาเป็นครีมมะเกี๋ยง 0.1 % ครีม กลิ่น powdery โดยได้พัฒนาขยายการผลิตเป็น 400 กรัม และนำไปทดสอบในอาสาสมัคร จำนวน 15 คน ที่โรงงานแห่งหนึ่งในจังหวัดลำพูน

การประเมินความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์ โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางจากสารสกัดมะเกี๋ยง โดยอาสาสมัคร จำนวน 15 คน ได้ผลสรุปดังนี้

การประเมินผลผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงมือเบื้องต้น

จากการขยายการผลิต บรรจุในตลับครีม และนำไปศึกษาความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์ของพนักงานโรงงานแห่งหนึ่งในจังหวัดลำพูน จำนวน 15 คน อายุ 40-50 ปี เพศหญิง โดยใช้หลังจากล้างมือทุกครั้ง เป็นเวลา 1 เดือน ประเมินผลจากแบบสอบถาม อาสาสมัครให้ความเห็นดังนี้คือ

ตาราง 4.85 ผลการประเมินความพึงพอใจ

ลักษณะของครีม	ความพึงพอใจ				
	ดีมาก (5)	ดี (4)	พอใช้ (3)	น้อย (2)	ควรปรับปรุง (1)
1.ความเนียนของเนื้อครีม	2	9	3	-	-
2.สี	1	10	3	-	-
3.กลิ่น	3	8	2	-	-
4.การซึมสู่ผิวหนัง	1	9	3	-	-
5.ความมัน	1	4	9	-	-
6.การกระจายบนผิวขณะทา	2	8	2	1	-
7.การติดทน	2	3	9	-	-
8.ความชุ่มชื้น	1	9	3	-	-
9.ความเหนอะหนะ	7	4	3	-	-
10.ความพึงพอใจโดยรวม	2	11	1	-	

ความเนียนของเนื้อครีม สี กลิ่น การซึมสู่ผิวหนัง ความมัน การกระจายบนผิวขณะทา การติดทนนาน ความชุ่มชื้นและความเหนอะหนะ อยู่ในระดับดี โดยประเมินความเนียน การซึมเข้าสู่ผิวหนัง และความชุ่มชื้น เท่ากันคือ ร้อยละ 60% (จำนวน 9 คนใน 15 คน) โดย ความพึงพอใจโดยรวม คิดเป็น ร้อยละ 73% (จำนวน 11 คนใน 15 คน)

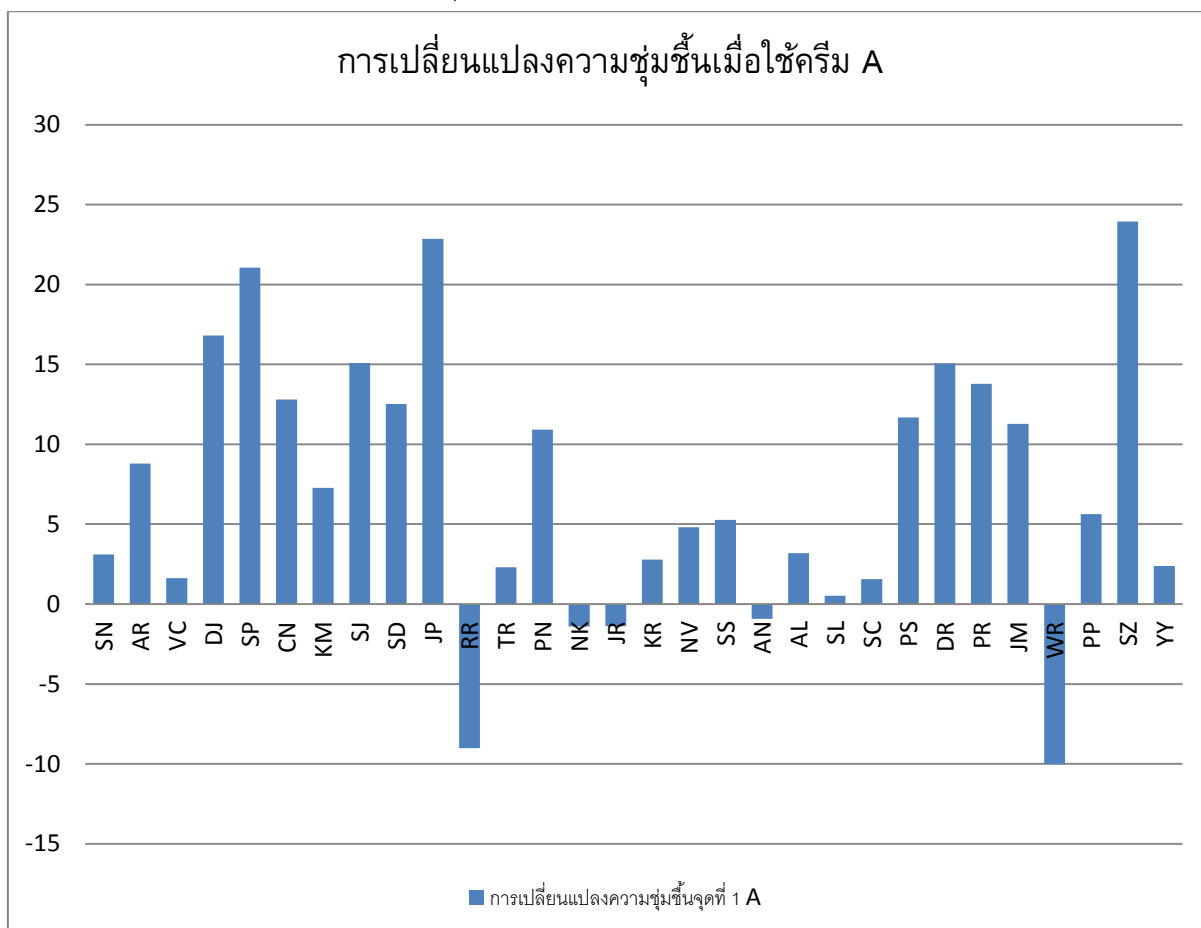
สรุปจากการสอบถามจะเห็นว่าระดับความพอใจ อยู่ในระดับ ดี แต่ยังมีสิ่งที่จะต้องปรับปรุง จากความคิดเห็นของผู้ใช้ ดังนี้คือเนื้อครีมค่อนข้างเหลว ควรเพิ่มความหนืดและแต่งกลิ่นด้วยน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ เพิ่มความมันเล็กน้อย ควรใช้กลิ่นผลไม้มากกว่า แต่บางความคิดเห็น พอใจในเนื้อครีม นำวางจำหน่าย ใช้แล้วนุ่มมือ เป็นต้น

ผลการวิจัยดังกล่าว ผู้วิจัยได้นำมาพัฒนา RxB เป็น RxB1 , RxB2 โดยเพิ่มความหนืดและแต่งกลิ่นจากพืชสกุลส้ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีความคงตัวดี และนำไปทดสอบในอาสาสมัครจำนวน 30 คน มีรายละเอียดผลการทดสอบดังนี้

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

1) การทดสอบความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร

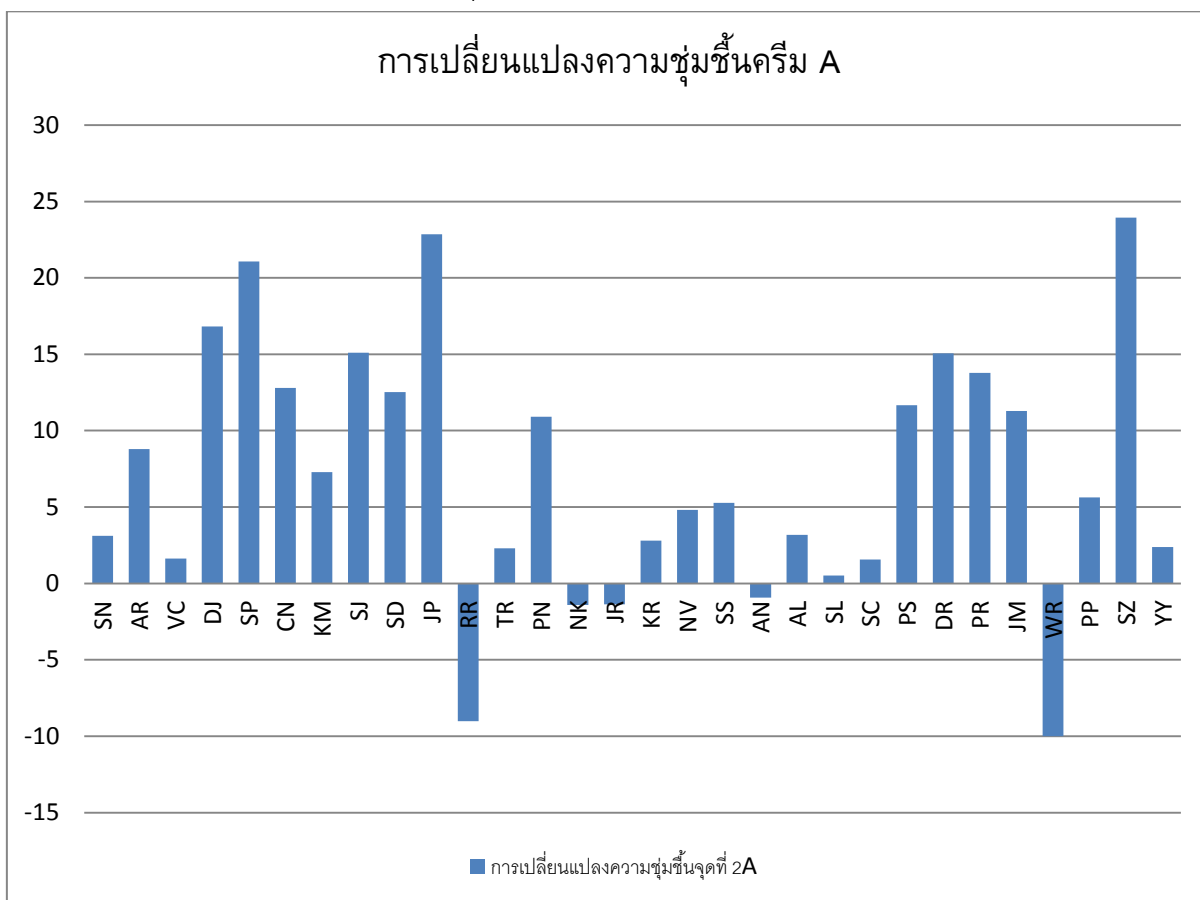
ผลการทดสอบการใช้ครีม A (ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด) ครบ 7 วัน



ภาพ 4.28 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม A (ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด) เป็นเวลาครบ 7 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีม A ที่ผิวบริเวณท้องแขน เป็นเวลาครบ 7 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง แต่มีการเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มขึ้นมากกว่า

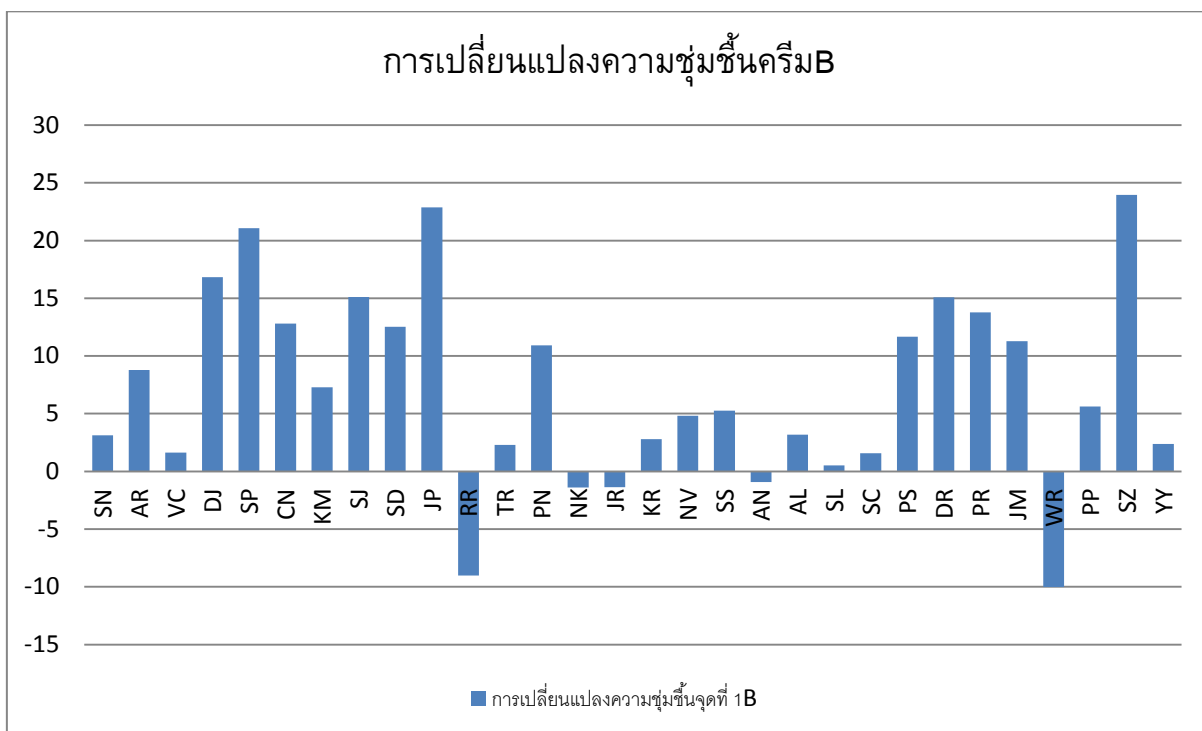
ผลการทดสอบการใช้ครีม A (ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด) ครบ 14 วัน



ภาพ 4.29 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม A (ครีมบำรุงผิวที่มีวางขายในท้องตลาด) เป็นเวลาครบ 14 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีมที่ผิวบริเวณท้องแขน เป็นเวลาครบ 14 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มขึ้น

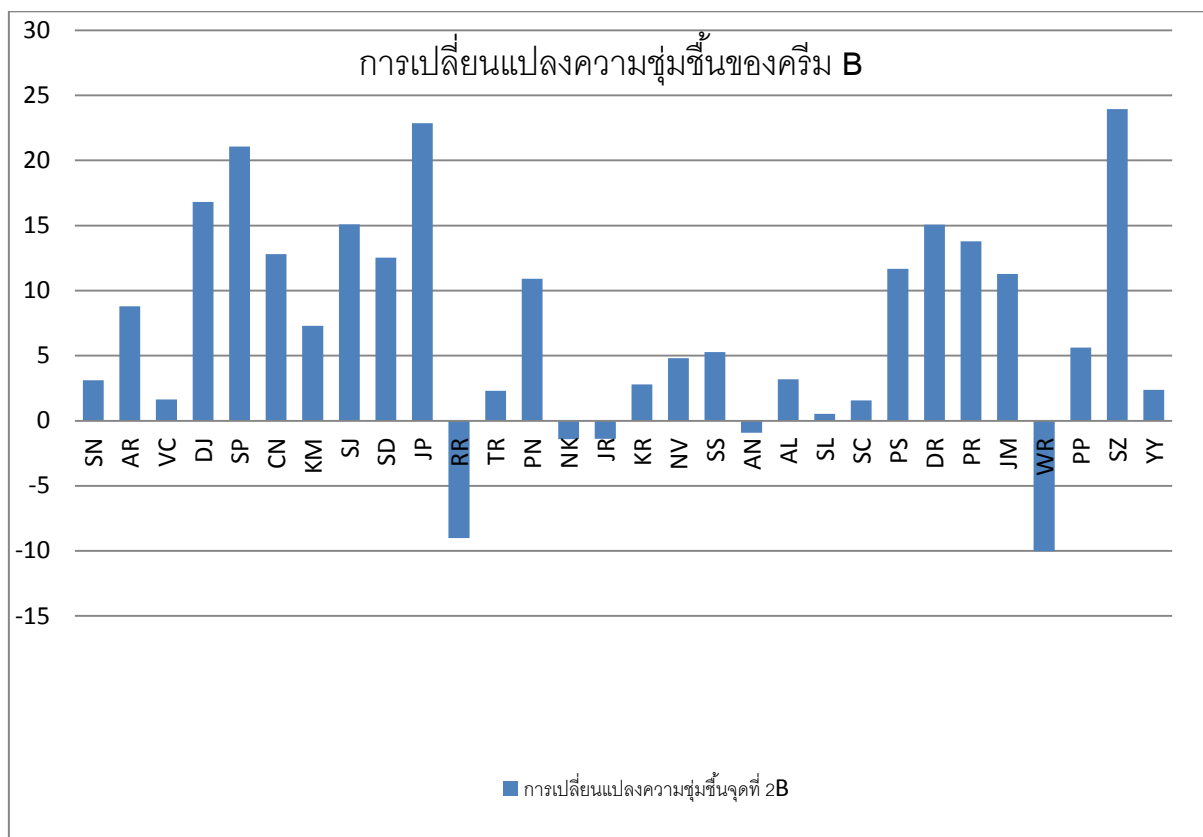
ผลการทดสอบการใช้ครีม B (ครีมมะเกี๋ยง) ครบ 7 วัน



ภาพ 4.30 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม B (ครีมมะเกี๋ยง) เป็นเวลาครบ 7 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีมที่ผิว เป็นเวลาครบ 7 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง โดยมีการเปลี่ยนแปลงทางบวก หรือเพิ่มขึ้น

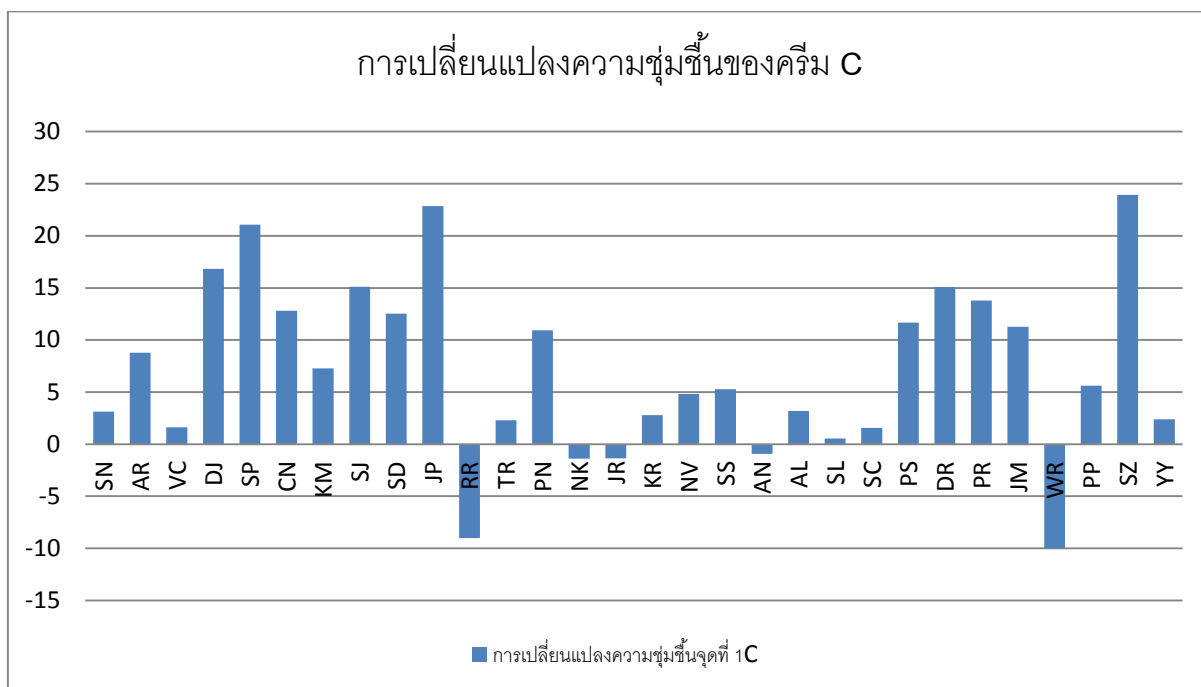
ผลการทดสอบการใช้ครีม B (ครีมมะเกี๋ยง) ครบ 14 วัน



ภาพ 4.31 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม B (ครีมมะเกี๋ยง) เป็นเวลาครบ 14 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีม B เป็นเวลาครบ 14 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง ส่วนใหญ่จะมีการเปลี่ยนแปลงทางเพิ่มขึ้น

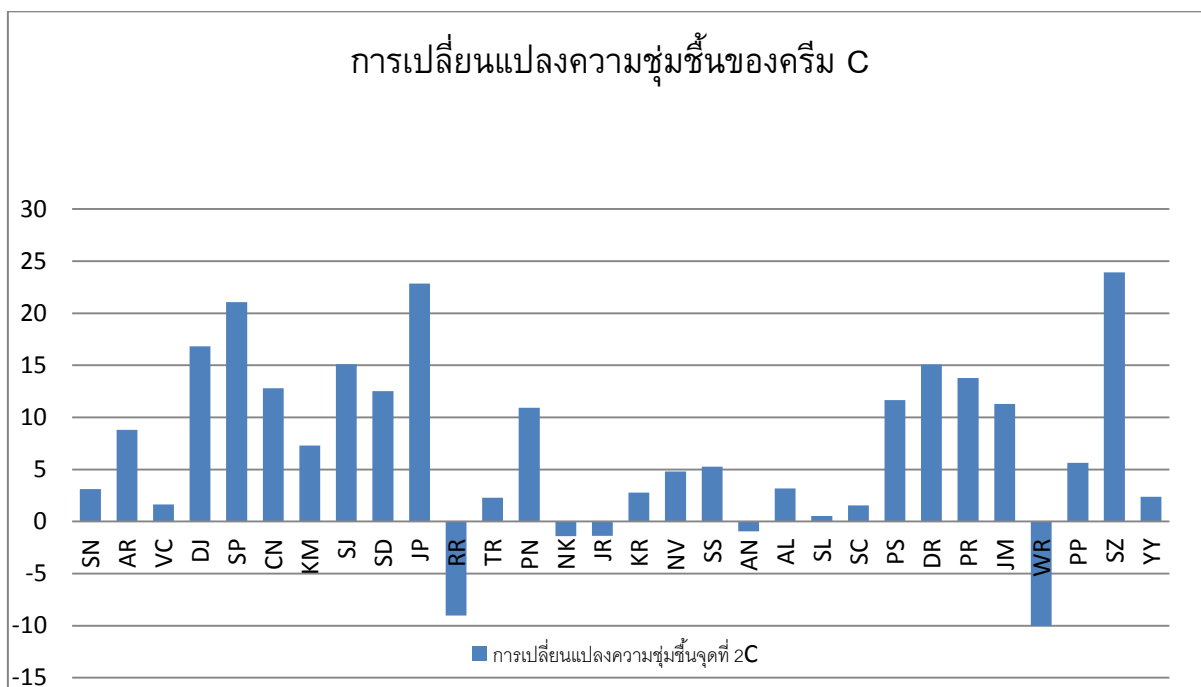
ผลการทดสอบการใช้ครีม C (ครีมพื้้นมะเกี๋ยง) ครบ 7 วัน



ภาพ 4.32 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม C (ครีมพื้้นมะเกี๋ยง) เป็นเวลาครบ 7 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีม C เป็นเวลาครบ 7 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง ส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มขึ้น

ผลการทดสอบการใช้ครีม C (ครีมพื้่มะเกี๋ยง) ครบ 14 วัน



ภาพ 4.33 ความชุ่มชื้นบริเวณท้องแขน ในอาสาสมัคร 30 คนที่ใช้ครีม C (ครีมพื้่มะเกี๋ยง) เป็นเวลาครบ 14 วัน

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าหลังจากการใช้ครีม C เป็นเวลาครบ 14 วัน ความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้น

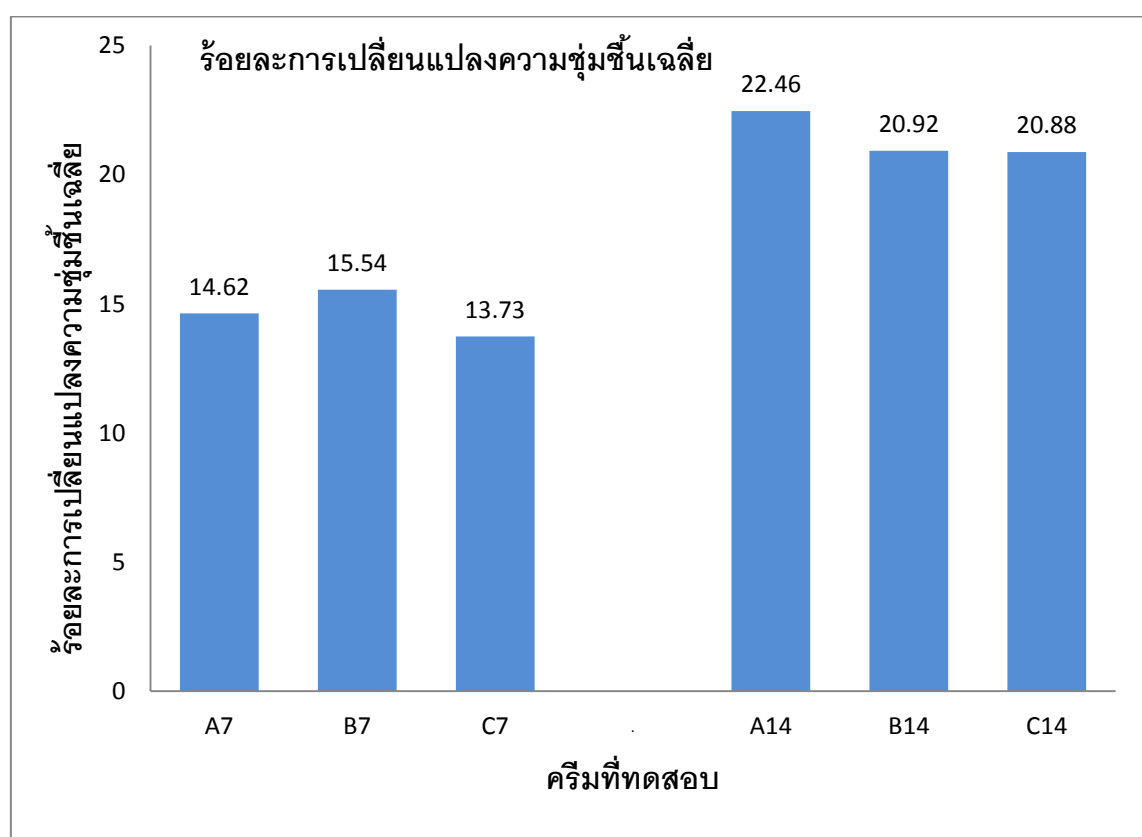
ตาราง 4.86 สรุปความชุ่มชื้นของผิวหนังอาสาสมัครก่อนและหลังใช้ครีม A, B และ C เป็นเวลา 7 และ 14 วัน

เวลาที่วัด	ค่าความชุ่มชื้นของผิวหนังอาสาสมัครเฉลี่ย					
	ครีม A		ครีม B		ครีม C	
	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน
ก่อนใช้ครีม	37.14±7.11	37.97±8.57	37.67±6.69	37.67±6.69	37.90±6.40	37.90±6.40
หลังใช้ครีม	52.13±8.21	59.47±7.93	52.49±8.13	58.60±7.17	51.63±9.00	58.78±9.00

หมายเหตุ ครีม A คือ ครีมควบคุม (positive control)

ครีม B คือ ครีมมะเกี๋ยง

ครีม C คือ ครีมเบสมะเกี๋ยง (negative control)



ภาพ 4.34 ร้อยละการเปลี่ยนแปลงของความชุ่มชื้นเฉลี่ยของผิวหนังอาสาสมัครหลังการทดสอบเป็นเวลา 7 และ 14 วัน

หมายเหตุ A7 คือ ครีม A หลังทดสอบครบ 7 วัน

B7 คือ ครีม B หลังทดสอบครบ 7 วัน

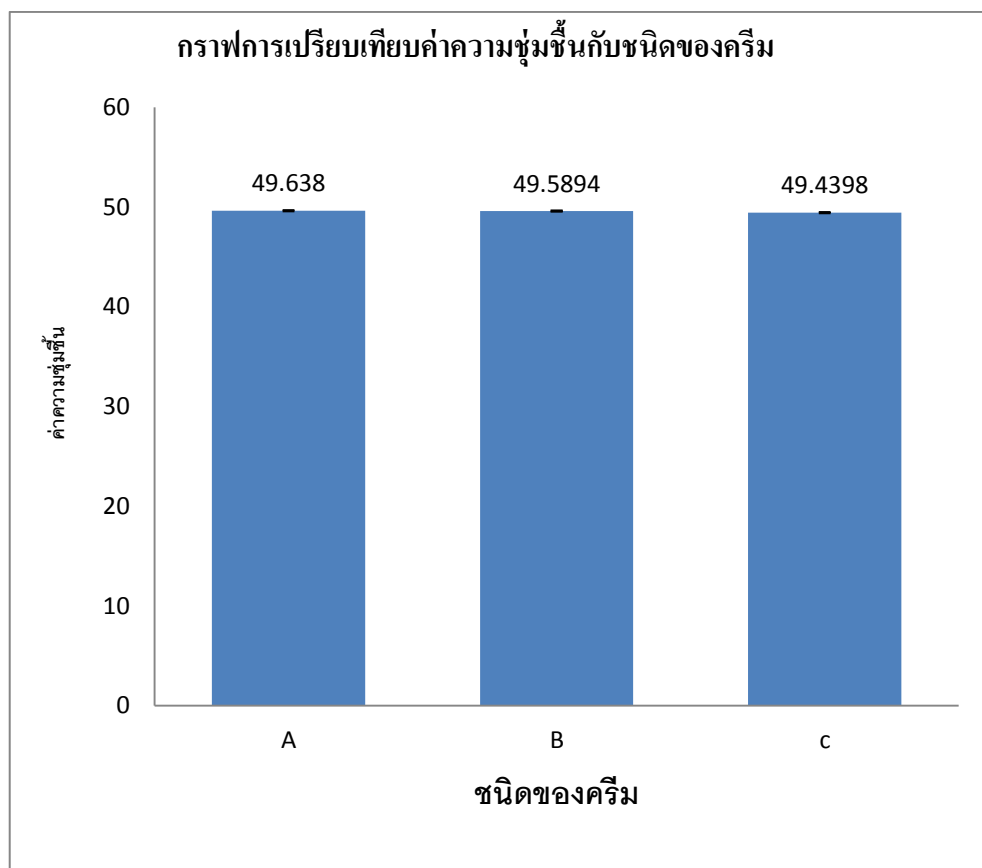
C7 คือ ครีม C หลังทดสอบครบ 7 วัน

A14 คือ ครีม A หลังทดสอบครบ 14 วัน

B14 คือ ครีม B หลังทดสอบครบ 14 วัน

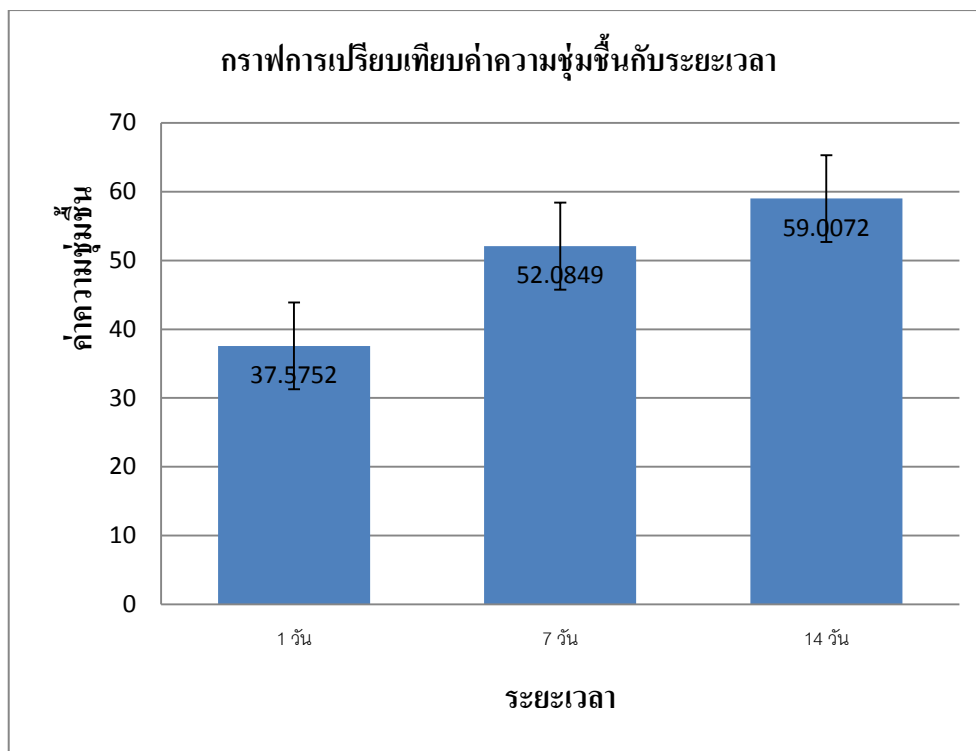
C14 คือ ครีม C หลังทดสอบครบ 14 วัน

จากภาพ จะเห็นว่า อาสาสมัคร 30 คน เมื่อใช้ครีม A B และ C มีการเปลี่ยนแปลงความชุ่มชื้นเฉลี่ยในทางเพิ่มขึ้นทุกตำรับ โดยครีม มะเกี๋ยง เมื่อใช้ครบ 7 วัน จะมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่าครีม A B และ C เมื่อผ่านไป 14 วัน ครีม A มีการเปลี่ยนแปลงความชื้นเฉลี่ยมากกว่า ครีม B และ C แต่เมื่อทดลองศึกษาผลของชนิดของครีม 3 ชนิด คือ A, B, C และผลของเวลาที่ทดลอง ต่อ ความชื้นของผิวหนัง พบว่า ชนิดของครีมมีผลต่อความชื้นของผิวหนังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



ภาพ 4.35 ความแตกต่าง ของค่าความชุ่มชื้น และ ชนิดของครีม A B C

สำหรับเวลาในการทาครีมให้ผลต่อความชื้นของผิวหนังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาในรายละเอียดโดยการทำ Multiple comparison ด้วยวิธี Bonferroni พบว่า ระยะเวลาในการให้ครีม 0, 7, 14 วัน ให้ผลต่อความชื้นต่างกันในทุกเวลา ($p < 0.05$) ดังภาพ 4.36



ภาพ 4.36 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงความชุ่มชื้นเฉลี่ย ครีม A, B และ C กับเวลา

สรุปผลการเปรียบเทียบครีมมะเกี๋ยง ครีมพื้นก่อนใส่มะเกี๋ยง (negative control) และ ครีมที่ใช้เป็นตัวควบคุม (positive control) จากตารางจะเห็นค่าเปรียบเทียบของครีม A,B และ C ของแต่ละคู่ มีค่า significance (sig) มากกว่าค่า alpha (α) = 0.05 แสดงว่า ค่าความชุ่มชื้นของแต่ละคู่มิค่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเทียบช่วงเวลาที่ 1 หรือ (วันเริ่มต้น) , 7 และ 14 วัน มีค่า sig น้อยกว่า alpha (α) = 0.05 แสดงว่า ค่าความชุ่มชื้นของแต่ละคู่มิค่าสำคัญ หรือ มีค่าที่แตกต่างกัน หรือ ค่าความชุ่มชื้นนั้นมีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ไม่ว่าจะใช้ครีม A,B หรือ C ก็ตาม ซึ่งให้ความชุ่มชื้นไม่แตกต่างกัน

2) ผลการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังในอาสาสมัคร

การทดสอบนี้จะช่วยให้ทำนายหรือคาดได้ว่า เครื่องสำอางนั้นจะก่อให้เกิดอาการแพ้หรือไม่ เมื่อนำออกสู่ท้องตลาด

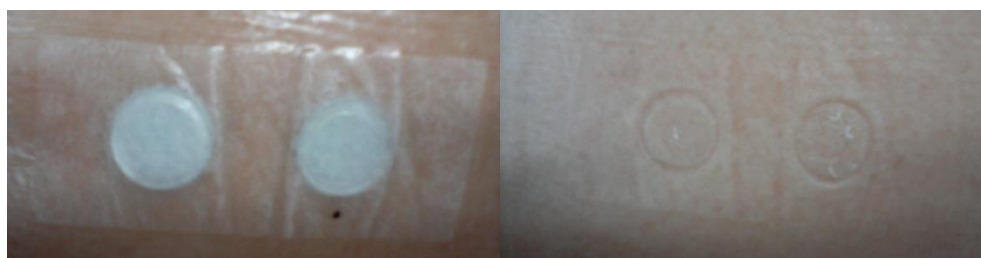
การทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังของตำรับก่อนที่จะนำไปทดสอบประสิทธิภาพและความพึงพอใจในอาสาสมัคร ผู้วิจัยได้นำครีมบำรุงผิวที่วางขายในท้องตลาด ครีมมะเกี๋ยง และ ครีมพืนมะเกี๋ยง โดยทำการทดสอบในอาสาสมัครจำนวน 30 คน ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.87 พบว่าหลังจากทาผลิตภัณฑ์บนผิวหนังอาสาสมัครแล้วปิดผ้าก๊อซทิ้งไว้เป็นเวลาต่าง ๆ พบว่าไม่มีครีมตำรับใดที่ทำให้ผิวหนังอาสาสมัครบวมแดง ระคายเคืองหรือเกิดอาการไม่พึงประสงค์อื่น ๆ แสดงให้เห็นว่า ครีมพืนมะเกี๋ยง สาระสกัดมะเกี๋ยง ที่พัฒนาขึ้นน่าจะมีความปลอดภัยในการนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการบำรุงผิวต่อไป

ตาราง 4.87 คะแนนการประเมินการเกิดอาการบวมแดง และระคายเคืองต่อผิวหนังในอาสาสมัคร 30 คน หลังใช้ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ณ เวลาต่าง ๆ กัน

ตำรับ	คะแนนเฉลี่ยอาการบวมแดงของผิวหนังอาสาสมัคร หลังปิดผ้าก๊อซเป็นเวลา		
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
ครีมบำรุงผิวที่วางขายในท้องตลาด A	0	0	0
ครีมมะเกี๋ยง B	0	0	0
ครีมพืนมะเกี๋ยง C	0	0	0

ประเมินผลการเกิดการบวมหรือแดงตามค่าระดับคะแนนดังนี้คือ

- 0 = ไม่เกิดอาการบวมแดง
- 1 = เกิดอาการบวมแดงน้อยมาก
- 2 = เกิดอาการบวมแดงเล็กน้อย
- 3 = เกิดอาการบวมแดงปานกลางถึงมาก
- 4 = เกิดอาการบวมแดงรุนแรง
- 5 = เกิดอาการบวมแดงชัดเจน



ก

ข

ภาพ 4.37 ก แสดงการแพ้แผ่นทดสอบการแพ้ในครีม ข แสดงหลังการเอาแผ่นแปะออก

3) ผลการทดสอบความพึงพอใจในการใช้ครีมมะเกี๋ยง

ผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 30 คน เป็นชาย 10 คน หญิง 20 คน

อายุ 20 - 29 ปี จำนวน 3 คน

อายุ 30 - 39 ปี จำนวน 6 คน

อายุ 40 - 49 ปี จำนวน 12 คน

อายุ 50 - 59 ปี จำนวน 8 คน

อายุ 60 - 69 ปี จำนวน 1 คน

ผลการทดสอบการใช้ครีม ในช่วงเวลาที่ประเมิน 14 วัน แสดงดังตาราง 4.88

ตาราง 4.88 ความพึงพอใจในการใช้ครีมมะเกี๋ยง (จำนวนผู้ตอบ 30 คน)

ลักษณะของครีม	ระดับความพึงพอใจ				
	ดีมาก (5)	ดี (4)	พอใช้ (3)	น้อย (2)	ควรปรับปรุง (1)
1.ความเนียนของเนื้อครีม	17	11	2	-	-
2.สี	6	16	8	-	-
3.กลิ่น	13	14	3	-	-
4.การซึมสู่ผิวหนัง	10	16	4	-	-
5.ความมัน	9	13	6	-	2
6.การกระจายบนผิวขณะทา	8	16	5	1	-
7.การติดทน	14	12	4	-	-
8.ความชุ่มชื้น	18	9	3	-	-
9.ความเหนอะหนะ	3	15	7	4	1
10.ความพึงพอใจโดยรวม	17	9	3	-	1
จำนวนคน	10	10	10	2	3
รวม 1,248 คะแนน	575	524	135	10	4
ร้อยละคะแนนรวม	46.07	41.99	10.82	0.8	0.32

จากตารางแสดงความพึงพอใจของอาสาสมัครที่ใช้ครีม จะเห็นได้ว่า คะแนนโดยรวมของผลิตภัณฑ์อันได้แก่ สี กลิ่น การซึมสู่ผิวหนัง ความมัน การกระจายบนผิวขณะทา การติดทน ความชุ่มชื้น และความเหนอะหนะ จะอยู่ในช่วงดีมากร้อยละ 46.07 ถึงดี ร้อยละ 41.99 โดยด้านความพึงพอใจระดับดีมาก มีคะแนนความถี่สูงสุด (17 -18 คน ใน 30 คน) คือ ความเนียนของเนื้อครีม และ ความชุ่มชื้น ของครีม รองลงมาคือ กลิ่น และ การติดทน (13 - 14 คนใน 30 คน) อาสาสมัครเห็นว่า ความมัน และความเหนอะหนะ ควรทำการปรับปรุงเล็กน้อย แต่การพัฒนาครีมดังกล่าว เป็นครีมบำรุงมือ จึงอาจต้องมีความมันมากกว่าครีมบำรุงผิวทั่วไป

5.7 ผลการทดลองการพัฒนาผลิตภัณฑ์ซีรัมที่ผสมสารสกัดจากมะเขี๋ยง

จากการพัฒนาตำรับซีรัม ได้เตรียมซีรัมทั้งหมด 10 สูตร (M1-M10) เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพดี จึงได้คัดเลือกตำรับที่ดีที่สุด คือ สูตร M8 เนื่องจากมีเนื้อเนียน เมื่อทาจะกระจายตัวดี ซึมซาบสู่ผิวได้ดี และมีความมันที่เหมาะสม นำมาศึกษาความคงตัวเบื้องต้นใน 5 สภาวะคือ อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิห้อง(ป้องกันแสง), อุณหภูมิ 4⁰ C, อุณหภูมิ 45⁰ C และ อุณหภูมิร้อน(45⁰C) –เย็น(4⁰C) สลับกัน 6 รอบ หลังจากทำการศึกษาความคงตัว พบว่า เนื้อซีรัมไม่มีการแยกชั้น จากนั้นจึงทำการผสมสารสกัดจากมะเขี๋ยงในความเข้มข้น 0.5% และศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน ได้ผลดังแสดงในตาราง 4.89 – 4.92

ตาราง 4.89 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ซีรัม (หลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน)

ลักษณะผลิตภัณฑ์	ตำรับ	
	ซีรัมพื้น (M-8)	ซีรัมผสมสารสกัดมะเขี๋ยง
สี	สีขาว	สีน้ำตาลอ่อน
กลิ่น	(ไม่ได้แต่งกลิ่น)	กลิ่นของสารสกัดมะเขี๋ยง
เนื้อผลิตภัณฑ์	เป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อเนียนละเอียด มีเนื้อสัมผัสที่ดี กระจายได้ดีเมื่อทา	เป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อเนียนละเอียด มีเนื้อสัมผัสที่ดี กระจายได้ดีเมื่อทา
pH	5.0	4.0
ความหนืด (Pas)	0.1183±0.1	0.0897±0.05

ตาราง 4.90 ความรู้สึกเมื่อทาผลิตภัณฑ์ซีรัมบนผิวหนังของผลิตภัณฑ์ซีรัมหลังเตรียมใหม่ๆ

ความรู้สึกบนผิวหนัง	ตำรับ	
	ซีรัมพื้น (M-8)	ซีรัมผสมสารสกัดมะเขี๋ยง
ความเนียน	รู้สึกเนียนนุ่ม	รู้สึกเนียนนุ่มกว่าซีรัมพื้น
ความเหนอะหนะ	เหนอะหนะน้อย	เหนอะหนะน้อย
ความชุ่มชื้น	ให้ความรู้สึกชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ดี	ให้ความรู้สึกชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ดี
การซึมสู่ผิว	การซึมสู่ผิวปานกลาง	การซึมสู่ผิวปานกลาง
การกระจายบนผิว	ง่าย กระจายบนผิวหนังได้ดี	ง่าย กระจายบนผิวหนังได้ดี

ตาราง 4.91 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ซีรัม หลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน

ลักษณะผลิตภัณฑ์	ตำรับ	
	ซีรัมพื้น (M-8)	ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง
สี	สีขาว	สีน้ำตาลอ่อน
กลิ่น	(ไม่ได้แต่งกลิ่น)	กลิ่นของสารสกัดมะเกี๋ยง
เนื้อผลิตภัณฑ์	เป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อเนียนละเอียด มีเนื้อสัมผัสที่ดี กระจายได้ดีเมือทา	เป็นเนื้อเดียวกัน เนื้อเนียนละเอียด มีเนื้อสัมผัสที่ดี กระจายได้ดีเมือทา
pH	5.0	4.0
ความหนืด (Pas)	0.2117±0.03	0.1679±0.11

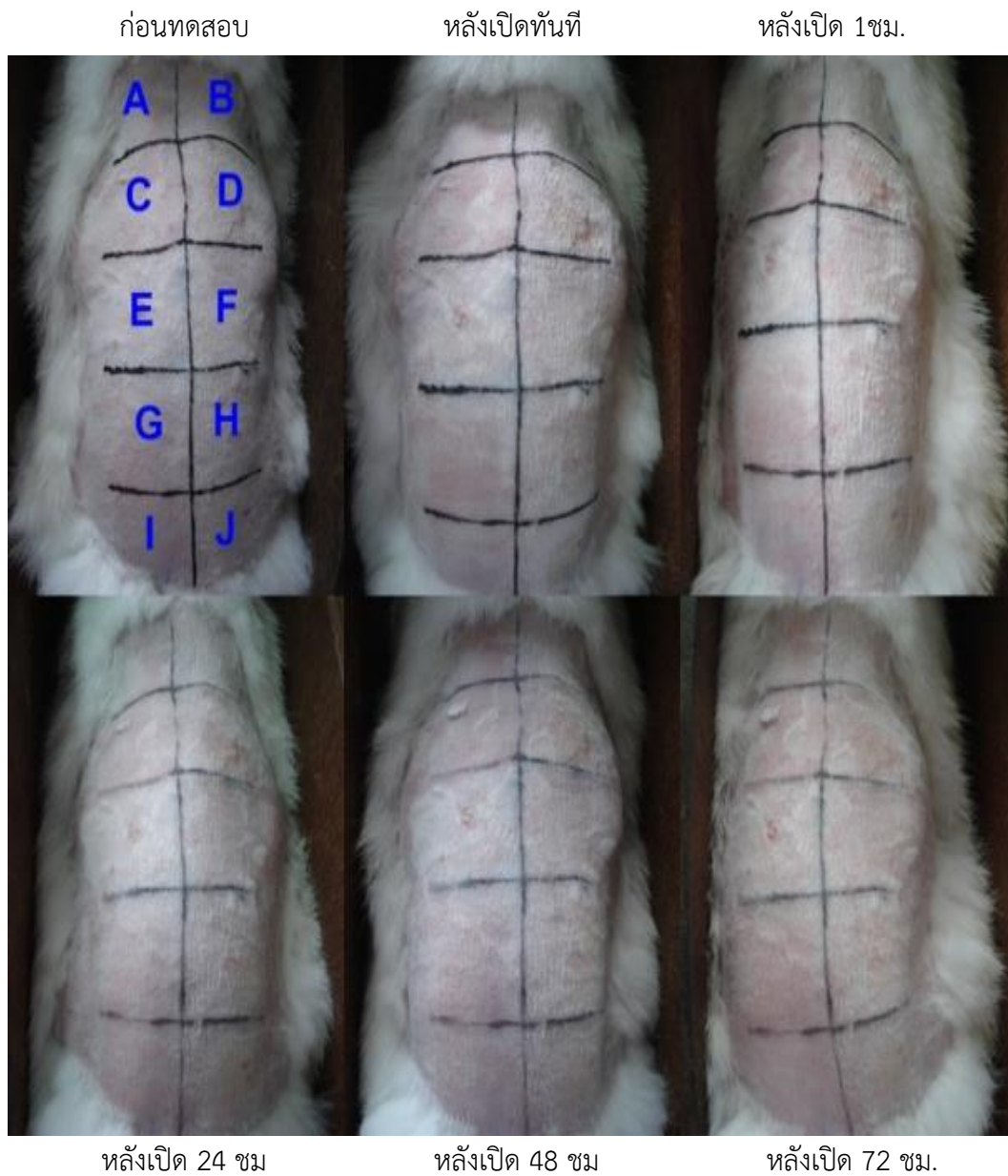
ตาราง 4.92 ความรู้สึกเมื่อทาผลิตภัณฑ์ซีรัมบนผิวหนังของผลิตภัณฑ์ซีรัมหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน

ความรู้สึกบนผิวหนัง	ตำรับ	
	ซีรัมพื้น (M-8)	ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง
ความเนียน	รู้สึกเนียนนุ่ม	รู้สึกเนียนนุ่มกว่าซีรัมพื้น
ความเหนอะหนะ	เหนอะหนะน้อย	เหนอะหนะน้อย
ความชุ่มชื้น	ให้ความรู้สึกชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ดี	ให้ความรู้สึกชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ดี
การซึมสู่ผิว	การซึมสู่ผิวปานกลาง	การซึมสู่ผิวปานกลาง
การกระจายบนผิว	ทาง่าย กระจายบนผิวหนังได้ดี	ทาง่าย กระจายบนผิวหนังได้ดี



ภาพ 4.38 ซีรัมพื้นและซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยงหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องแบบโดนแสง และไม่โดนแสงนาน 6 เดือน

ผลการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในกระต่ายของตำรับ



ภาพ 4.39 ลักษณะของผิวหนังกระต่ายภายหลังจากเอาผ้าก๊อซออกที่เวลา 0, 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง สังเกตอาการแดง (erythema) และอาการบวม (edema) ของแต่ละตำแหน่ง โดยตำแหน่งทดสอบ: A คือผิวหนังเปล่า, B คือน้ำกลั่น, C, D คือ โลชันพื้น E, F คือ โลชันผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง G,H คือซีรัมพื้น, I, J คือซีรัมผสมสารสกัดจากมะเกี๋ยง

ผลการประเมิน Primary irritation test

ตาราง 4.93 ผลการทดสอบการระคายเคืองผิวหนังเบื้องต้นของตำรับในกระต่าย

กระต่ายตัวที่	ที่ 1 ชั่วโมง		ที่ 24 ชั่วโมง		ที่ 48 ชั่วโมง		ที่ 72 ชั่วโมง	
	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม
ผิวหนังเปล่า								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							
น้ำกลั่น								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							
โลชั่นพืชน								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							
โลชั่นผสมสารสกัดมะเขือขี้								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							
ซีรัมพืชน								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							
ซีรัมผสมสารสกัดมะเขือขี้								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
PD I	0		0		0		0	
PD II	0							

PD I (Primary Dermal Irritation) = คะแนนเฉลี่ยของความแดงและการบวม PDII (Primary Dermal Irritation Index) = ผลบวกของค่าPDI ของแต่ละช่วงเวลาที่ประเมินหารด้วยจำนวนช่วงเวลาที่ประเมิน จากผลการประเมินค่า PDII พบว่าทุกตำรับ ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย

ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของผลิตภัณฑ์ที่ผสมสารสกัดจากมะเขี๋ยง

จากการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในอาสาสมัคร พบว่า สารทดสอบที่ก่อระคายเคือง ได้แก่ positive control (1% w/v SLES) สำหรับสารซีรัมพื้น โลชันพื้น ซีรัมผสมสารสกัดมะเขี๋ยง และ โลชันผสมสารสกัดมะเขี๋ยง ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง (non-irritating) ดังตาราง 4.94 เมื่อพิจารณาจากการก่อการระคายเคืองทุกตำรับมีความปลอดภัยในการนำไปศึกษาต่อไป

ตาราง 4.94 ผลการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในอาสาสมัคร

สารทดสอบ	PDII	ชนิดการก่อระคายเคือง
1. 1% SLS	0.53	ก่อระคายเคืองเล็กน้อย
2. โลชันพื้น (A)	0.008	ไม่ก่อระคายเคือง
3. โลชันผสมสารสกัดมะเขี๋ยง (B)	0	ไม่ก่อระคายเคือง
4. ซีรัมพื้น (C)	0.008	ไม่ก่อระคายเคือง
5. ซีรัมผสมสารสกัดมะเขี๋ยง (D)	0.042	ไม่ก่อระคายเคือง

หมายเหตุ :PDII (Primary Dermal Irritation Index) = ผลบวกของค่า PDI ของแต่ละช่วงเวลาที่ประเมิน
หารด้วยจำนวนช่วงเวลาที่ประเมิน

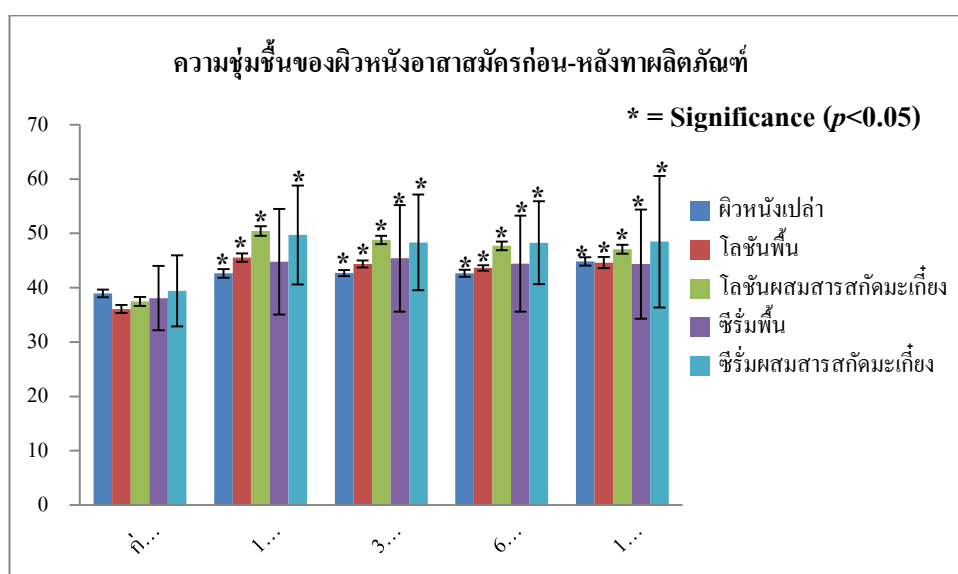
ผลการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

1) การทดสอบความชุ่มชื้นของผิวในอาสาสมัคร

จากการทดสอบในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีจำนวน 28 คน ด้วยเครื่องมือ Corneometer พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นพื้น, โลชั่นพื้นผสมสารสกัดมะเกี๋ยง, ซีรัมพื้น และซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง สามารถเพิ่มเติมความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังชั้น stratum corneum ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งที่เวลา 15 นาที, 30 นาที, 60 นาที และ 14 วัน หลังการใช้ผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตาราง 4.95 และภาพ 4.40

ตาราง 4.95 ค่าเฉลี่ยความชุ่มชื้นของผิวในอาสาสมัครที่ใช้โลชั่น, โลชั่นมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยงก่อนและหลังใช้ผลิตภัณฑ์ 15, 30, 60 นาที และ 14 วัน

ผลิตภัณฑ์ทดสอบ	ความชุ่มชื้นของผิวในอาสาสมัครที่ใช้ผลิตภัณฑ์ \pm SD				
	ก่อนทาครีม	หลังทาครีม 15 นาที	หลังทาครีม 30 นาที	หลังทาครีม 60 นาที	หลังทาครีม 14 วัน
1. ผิวหนังเปล่า	38.92 \pm 0.71	42.63 \pm 0.77	42.69 \pm 0.56	42.64 \pm 0.65	44.83 \pm 0.76
2. โลชั่นพื้น (A)	36.07 \pm 0.73	45.54 \pm 0.74	44.35 \pm 0.64	43.63 \pm 0.49	44.62 \pm 1.05
3. โลชั่นผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (B)	37.46 \pm 0.81	50.41 \pm 0.88	48.76 \pm 0.77	47.7 \pm 0.8	47.07 \pm 0.8
4. ซีรัมพื้น (C)	38.09 \pm 5.93	44.78 \pm 9.74	45.4 \pm 9.83	44.42 \pm 8.85	44.36 \pm 10.04
5. ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (D)	39.41 \pm 6.53	49.7 \pm 9.08	48.34 \pm 8.78	48.28 \pm 7.61	48.46 \pm 12.09

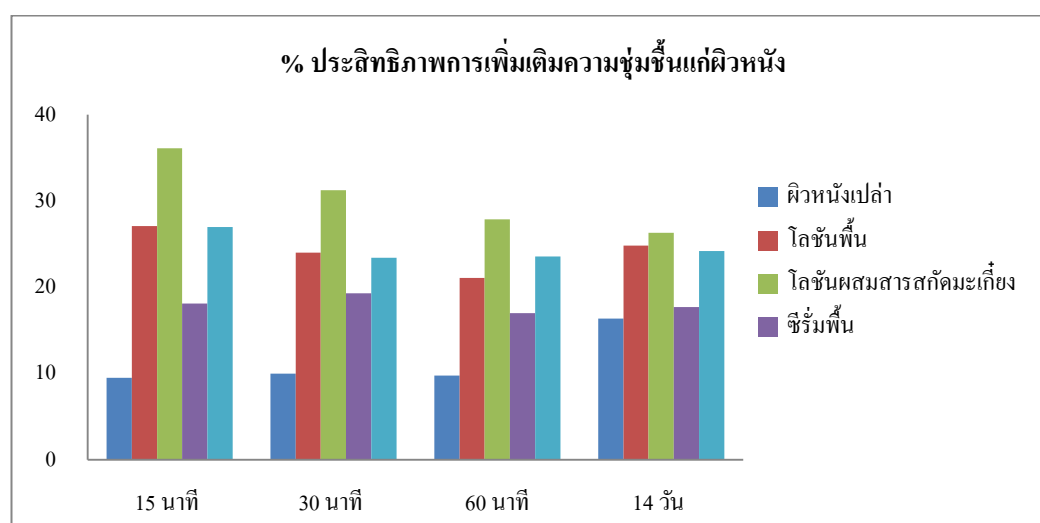


ภาพ 4.40 ความชุ่มชื้นของผิวหนังในอาสาสมัครจำนวน 28 คน ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์โลชั่น, โลชั่นมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิดและการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ใด ๆ (ตาราง 4.96 และภาพ 4.41) พบว่า ผลิตภัณฑ์ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการใช้ผลิตภัณฑ์ จะเห็นได้ทุกผลิตภัณฑ์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นสูงสุดหลังใช้ 15 นาที หลังจากนั้นประสิทธิภาพจะเริ่มลดลงหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ 30 นาที และ 60 นาทีตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทำการวัดความชุ่มชื้นของผิวหนังหลังจากให้อาสาสมัครทาผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าผิวมีความชุ่มชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนใช้ผลิตภัณฑ์

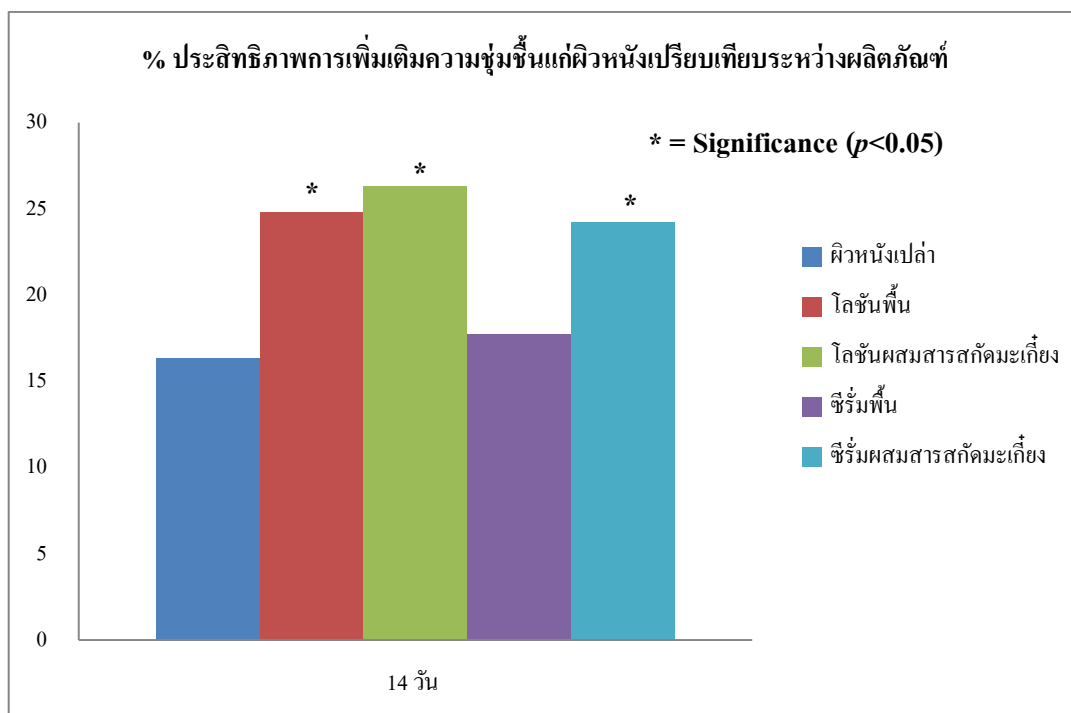
ตาราง 4.96 % ประสิทธิภาพการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังอาสาสมัครจำนวน 28 คน ภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ทดสอบที่เวลา 15, 30, 60 นาที และ 14 วัน

ผลิตภัณฑ์ทดสอบ	% ประสิทธิภาพการเพิ่มเติมความชุ่มชื้น			
	15 นาที หลังการใช้ ผลิตภัณฑ์	30 นาที หลังการใช้ ผลิตภัณฑ์	60 นาที หลังการใช้ ผลิตภัณฑ์	14 วัน หลังการใช้ ผลิตภัณฑ์
1.ผิวหนังเปล่า	9.51 ± 10.87	9.98 ± 13.49	9.76 ± 12.91	16.35 ± 26.74
2.โลชั่นพื้น (A)	27.07 ± 14.41	24.01 ± 17.5	21.08 ± 15.96	24.82 ± 29.78
3.โลชั่นผสมสารสกัด มะเกี๋ยง (B)	36.12 ± 15.82	31.26 ± 16.42	27.87 ± 12.82	26.31 ± 24.95
4.ซีรัมพื้น (C)	18.12 ± 19.79	19.31 ± 18.85	17.01 ± 16.38	17.71 ± 26.4
5.ซีรัมผสมสารสกัด มะเกี๋ยง (D)	26.97 ± 17.59	23.43 ± 16.71	23.57 ± 14.27	24.2 ± 29.28



ภาพ 4.41 % ประสิทธิภาพการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นของผิวหนังในอาสาสมัครจำนวน 28 คน ภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์โลชั่น, โลชั่นมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยง ทดสอบที่เวลา 15, 30, 60 นาทีและ 14 วัน

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังระหว่างผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ พบว่าโลชั่นพื้น โลชั่นผสมสารสกัดมะเกี๋ยง ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยงสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังอาสาสมัครได้มากกว่าผิวหนังที่ไม่ได้ทาผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่า โลชั่นผสมสารสกัดมะเกี๋ยงให้ผลในการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังมากที่สุด รองลงมาคือ โลชั่นพื้น ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง และซีรัมพื้นตามลำดับ



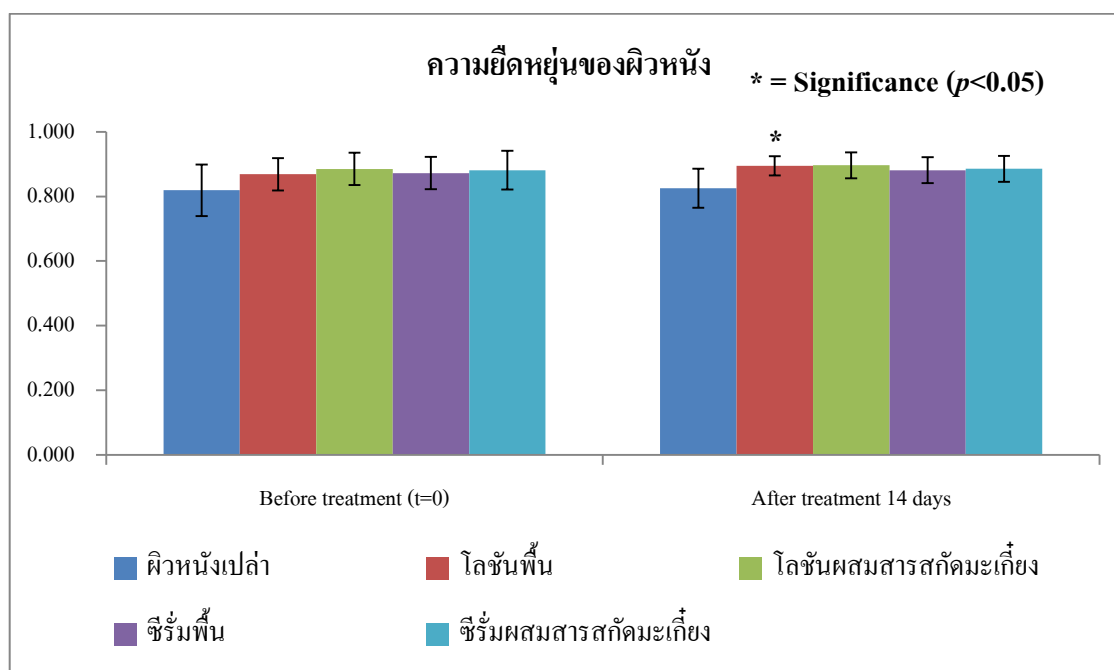
ภาพ 4.42 เปรียบเทียบ %ประสิทธิภาพการเพิ่มเติมความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังอาสาสมัครระหว่างผลิตภัณฑ์ภายหลังการใช้ 14 วัน

2. การทดสอบความยืดหยุ่นของผิวหนังอาสาสมัคร

จากการทดสอบในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีจำนวน 28 คน ด้วยเครื่องมือ Cutometer พบว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบความยืดหยุ่นก่อนใช้ผลิตภัณฑ์กับหลังใช้ผลิตภัณฑ์ 14 วันพบว่าโลชั่นผสมสารสกัดมะเกี๋ยง, ซีรัมพื้ และซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง ไม่ได้ทำให้ความยืดหยุ่นของผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงมากนัก แต่จากการทดลองพบว่าโลชั่นพื้มีผลทำให้ความยืดหยุ่นของผิวหนังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตาราง 4.97 และภาพ 4.43

ตาราง 4.97 ค่าเฉลี่ยความยืดหยุ่นของผิวในอาสาสมัครที่ใช้โลชั่น, โลชั่นมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยงก่อนและหลังใช้ผลิตภัณฑ์ 14 วัน

ผลิตภัณฑ์ทดสอบ	ความชุ่มชื้นของผิวในอาสาสมัครที่ใช้ผลิตภัณฑ์ \pm SD	
	ก่อนทาครีม	หลังทาครีม 14 วัน
1. ผิวหนังเปล่า	0.819 \pm 0.08	0.825 \pm 0.06
2. โลชั่นพื้ (A)	0.869 \pm 0.05	0.895 \pm 0.03
3. โลชั่นผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (B)	0.885 \pm 0.05	0.896 \pm 0.04
4. ซีรัมพื้ (C)	0.872 \pm 0.05	0.881 \pm 0.04
5. ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (D)	0.881 \pm 0.06	0.886 \pm 0.04

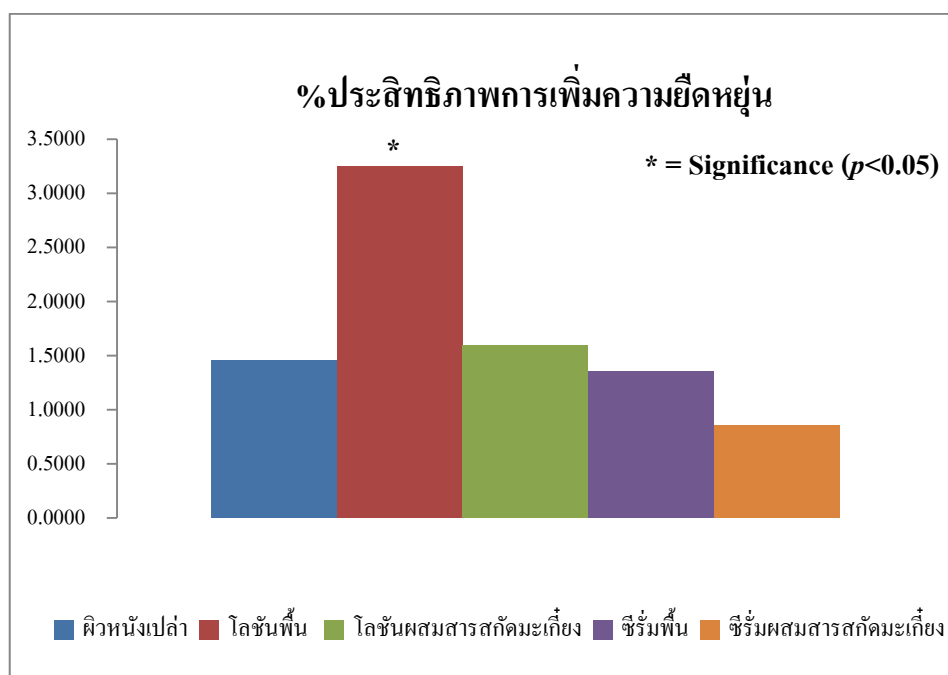


ภาพ 4.43 ความยืดหยุ่นของผิวหนังในอาสาสมัครจำนวน 28 คน ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์โลชั่น, โลชั่นมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยง

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ผิวหนังระหว่างผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ พบว่า โลชันพื้นให้ผลในการเพิ่มความยืดหยุ่นแก่ผิวหนังมากที่สุด รองลงมาคือ โลชันผสมสารสกัดมะเกี๋ยง ซีรัมพื้น และซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยงตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 4.98 และภาพ 4.44

ตาราง 4.98 % ประสิทธิภาพการเพิ่มความยืดหยุ่นแก่ผิวหนังอาสาสมัครจำนวน 28 คน ภายหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ทดสอบเป็นเวลา 14 วัน

ผลิตภัณฑ์ทดสอบ	% ประสิทธิภาพการเพิ่มความยืดหยุ่น
	14 วัน หลังการใช้ผลิตภัณฑ์
1. ผิวหนังเปล่า	1.4557 ± 9.68
2. โลชันพื้น (A)	3.2524 ± 5.87
3. โลชันผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (B)	1.5983 ± 7.21
4. ซีรัมพื้น (C)	1.3554 ± 6.76
5. ซีรัมผสมสารสกัดมะเกี๋ยง (D)	0.8519 ± 7.8



ภาพ 4.44 % ประสิทธิภาพการเพิ่มความยืดหยุ่นของผิวหนังในอาสาสมัครจำนวน 28 คน ภายหลังจากการใช้ผลิตภัณฑ์โลชัน, โลชันมะเกี๋ยง, ซีรัม และซีรัมมะเกี๋ยง เป็นเวลา 14 วัน

3) ผลการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

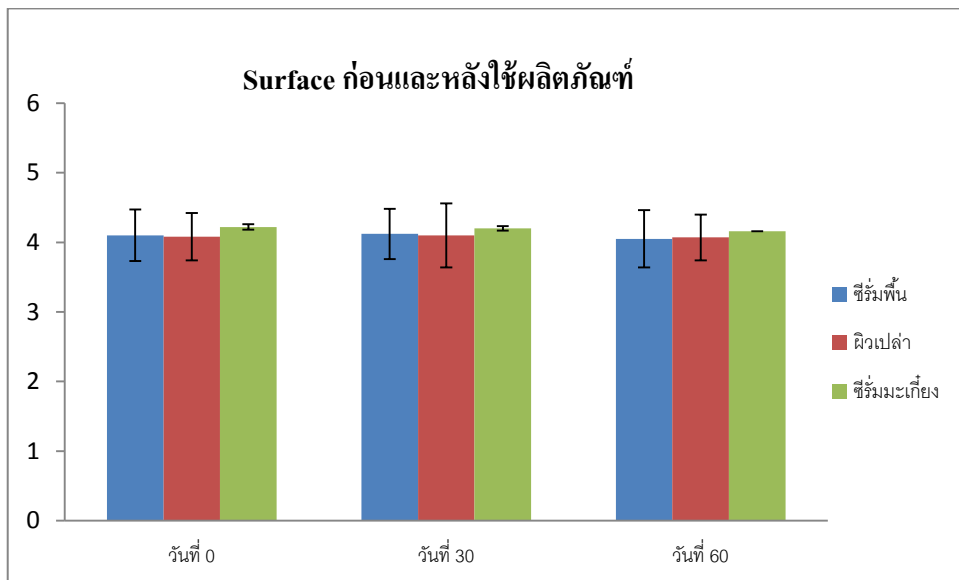
3.1 การทดสอบประสิทธิภาพในการลดริ้วรอย

จากการทดสอบในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีจำนวน 30 คน ด้วยเครื่องมือ visiometer โดยทำการเปรียบเทียบตัวแปร surface, volume, Ra และ Rz ก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ หลังใช้ผลิตภัณฑ์นาน 30 วัน และ 60 วัน พบว่าบริเวณผิวที่ทาซีรัมพื้นและผิวเปล่าให้ค่า surface, volume, Ra และ Rz ไม่แตกต่างกันเลยในแต่ละครั้งที่ทำการทดสอบ แต่ซีรัมมะเกี๋ยงพบว่าตัวแปร volume, Ra และ Rz ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตาราง 4.99-4.100

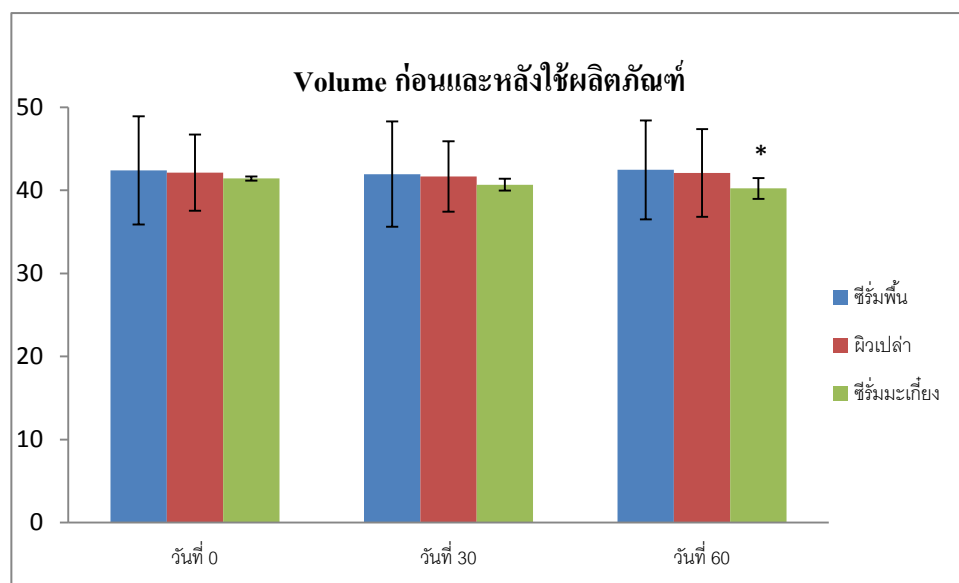
ตาราง 4.99 ผลการวัดริ้วรอยของผิวหนังหลังจากใช้ตำรับต่าง ๆ เป็นเวลา 1 และ 2 เดือน ตามลำดับ

Treatment area	Wrinkle reducing parameter			
	Surface	Volume	Ra	Rz
Serum base				
Day 0	4.1 ± 0.37^a	42.41 ± 6.51^a	9.43 ± 1.36^a	39.22 ± 4.77^a
Day 30	4.12 ± 0.36^a	41.95 ± 6.33^a	9.62 ± 1.51^a	40.03 ± 5.51^a
Day 60	4.05 ± 0.41^a	42.46 ± 5.96^a	9.26 ± 1.29^a	38.94 ± 5.05^a
Untreated skin				
Day 0	4.08 ± 0.34^a	42.12 ± 4.59^a	9.02 ± 1.39^a	38.68 ± 5.62^a
Day 30	4.1 ± 0.46^a	41.68 ± 4.24^a	9.15 ± 1.49^a	39.15 ± 6.27^a
Day 60	4.07 ± 0.33^a	42.11 ± 5.28^a	9.03 ± 1.34^a	38.75 ± 5.01^a
ซีรัมมะเกี๋ยง				
Day 0	4.22 ± 0.04^a	41.42 ± 0.26^a	9.7 ± 0.09^a	40.05 ± 0.36^a
Day 30	4.2 ± 0.03^a	$40.68 \pm 0.71^{a,b}$	$9.58 \pm 0.14^{a,b}$	$39.5 \pm 0.49^{a,b}$
Day 60	4.16 ± 0.00^a	$40.23 \pm 1.25^{*b,c}$	$9.43 \pm 0.11^{*b,c}$	$38.9 \pm 0.3^{*b,c}$

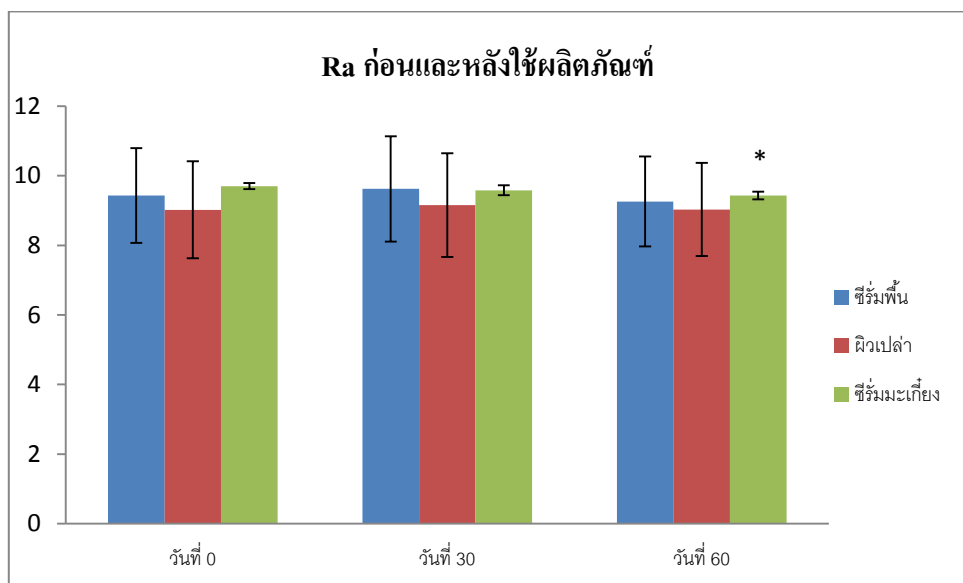
*significant at p-value < 0.05



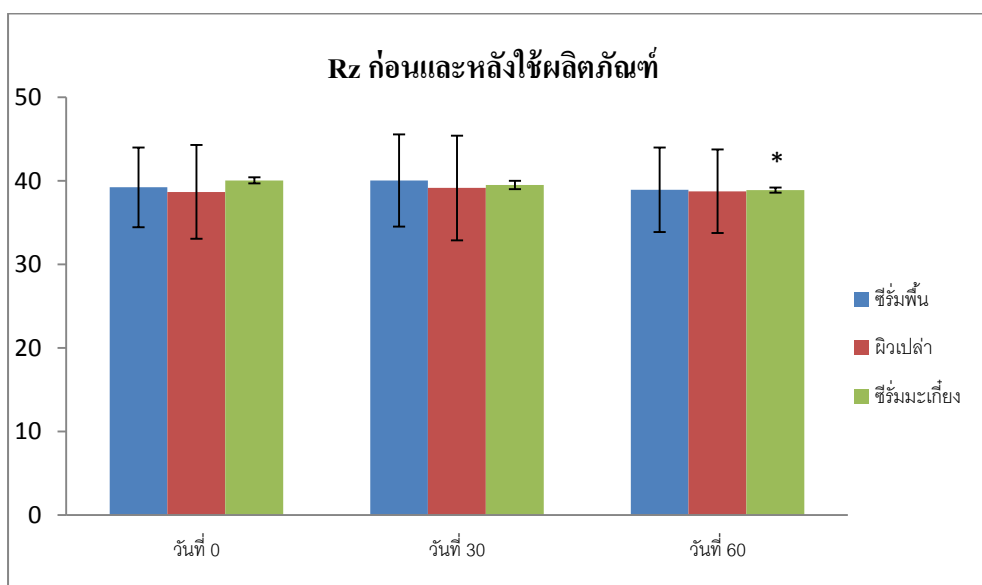
ภาพ 4.45 surface ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์นาน 30 วันและ 60 วัน



ภาพ 4.46 Volume ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์นาน 30 วันและ 60 วัน



ภาพ 4.47 Ra ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์นาน 30 วันและ 60 วัน



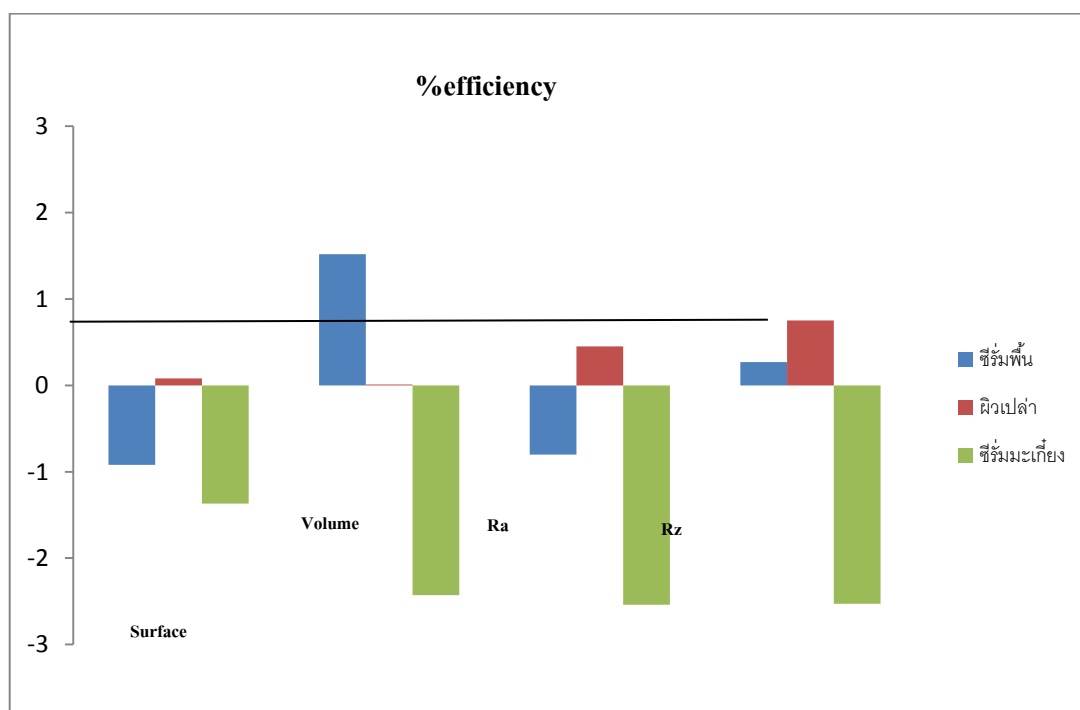
ภาพ 4.48 Rz ก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์นาน 30 วันและ 60 วัน

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดริ้วรอยของผิวหนังระหว่างผลิตภัณฑ์ พบว่าซีรัมพื้น ซีรัมมะเขี๋ยง และผิวหนังที่ไม่ได้ทาผลิตภัณฑ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ซีรัมมะเขี๋ยงให้ผลในการลดริ้วรอยแต่ผลในการลดริ้วรอยยังไม่ชัดเจนอาจเนื่องมาจากการใช้ผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาน้อยเกินไป ซึ่งมีแนวโน้มที่จะทำให้ริ้วรอยลดลงเมื่อใช้ไปในระยะเวลาที่นานขึ้น

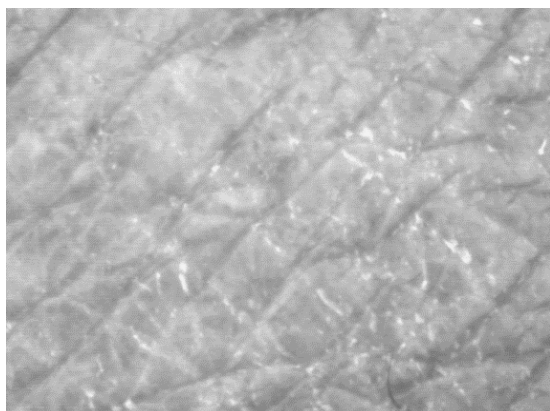
ตาราง 4.100 %efficiency การลดริ้วรอยเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ในแต่ละบริเวณที่ทำการวัด หลังใช้ผลิตภัณฑ์ 2 เดือน

Treatment area	%efficiency			
	Surface	Volume	Ra	Rz
Serum base	-0.92	1.52	-0.8	0.27
Untreated skin	0.08	0.01	0.45	0.75
ซีรัมมะเกี๋ยง	-1.37	-2.43*	-2.54*	-2.53*

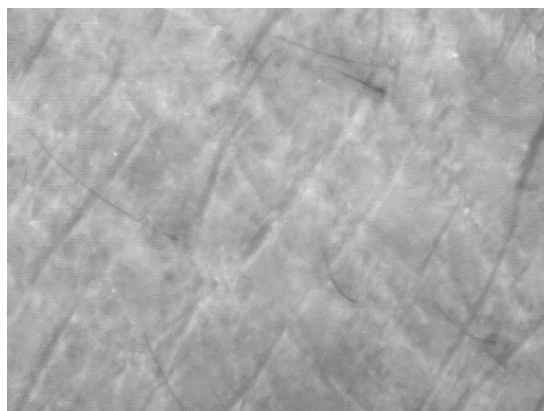
*significant at p-value < 0.05



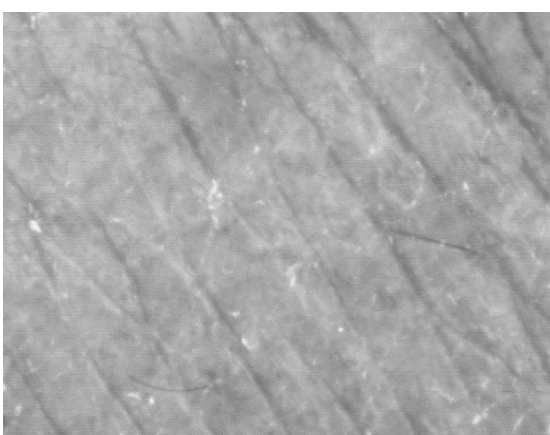
ภาพ 4.49 %efficiency การลดริ้วรอยเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ในแต่ละบริเวณที่ทำการวัด หลังใช้ผลิตภัณฑ์ 2 เดือน



ซีรัมพิน ก่อนใช้



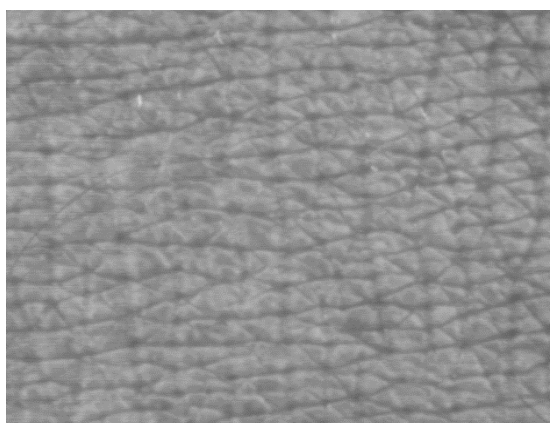
หลังใช้ 2 เดือน



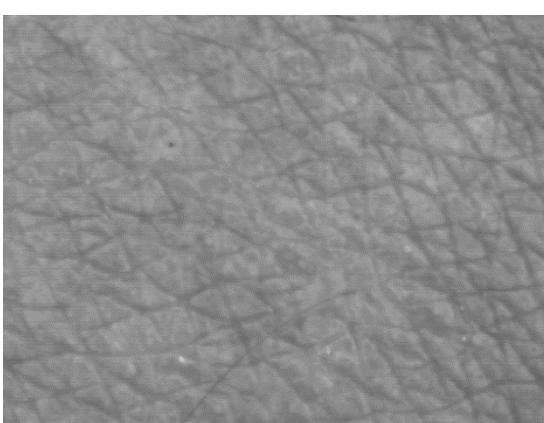
ผิวหนังปลา ก่อนใช้



หลังใช้ 2 เดือน



ซีรัมมะเกียง ก่อนใช้

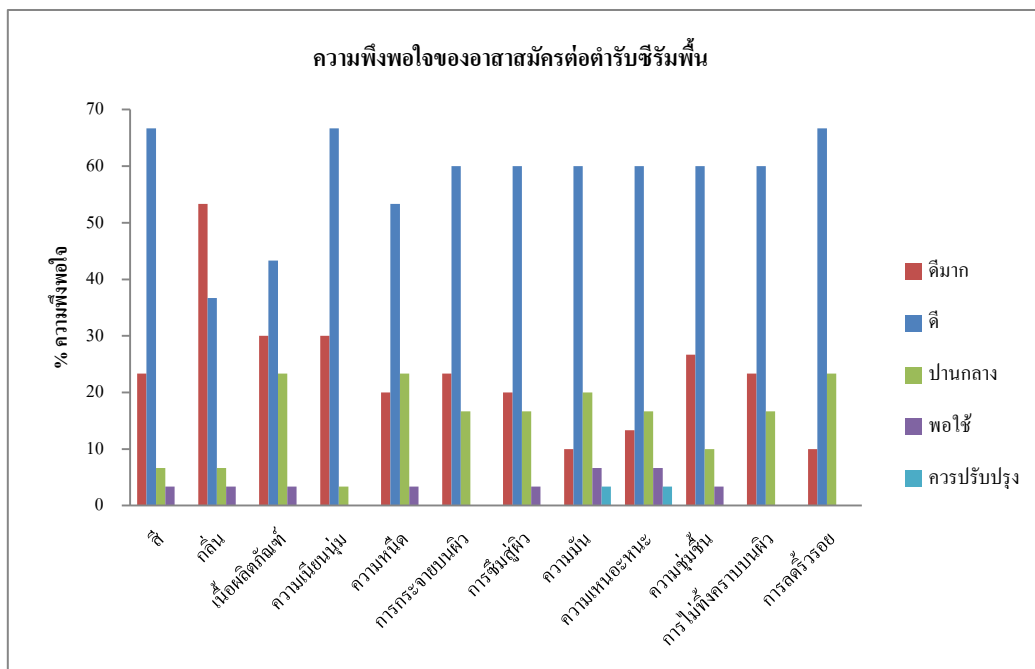


หลังใช้ 2 เดือน

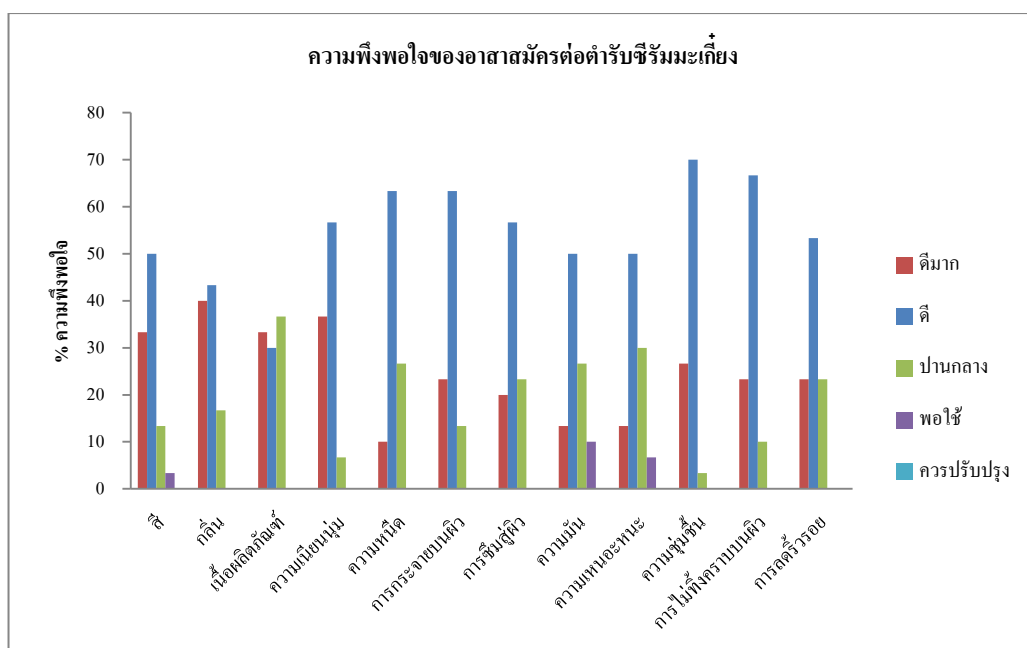
ภาพ 4.50 การลดของริ้วรอยในอาสาสมัคร เปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ในแต่ละบริเวณที่ทำการวัด หลังใช้ผลิตภัณฑ์ 2 เดือน

3.2 ผลการทดลองการประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร

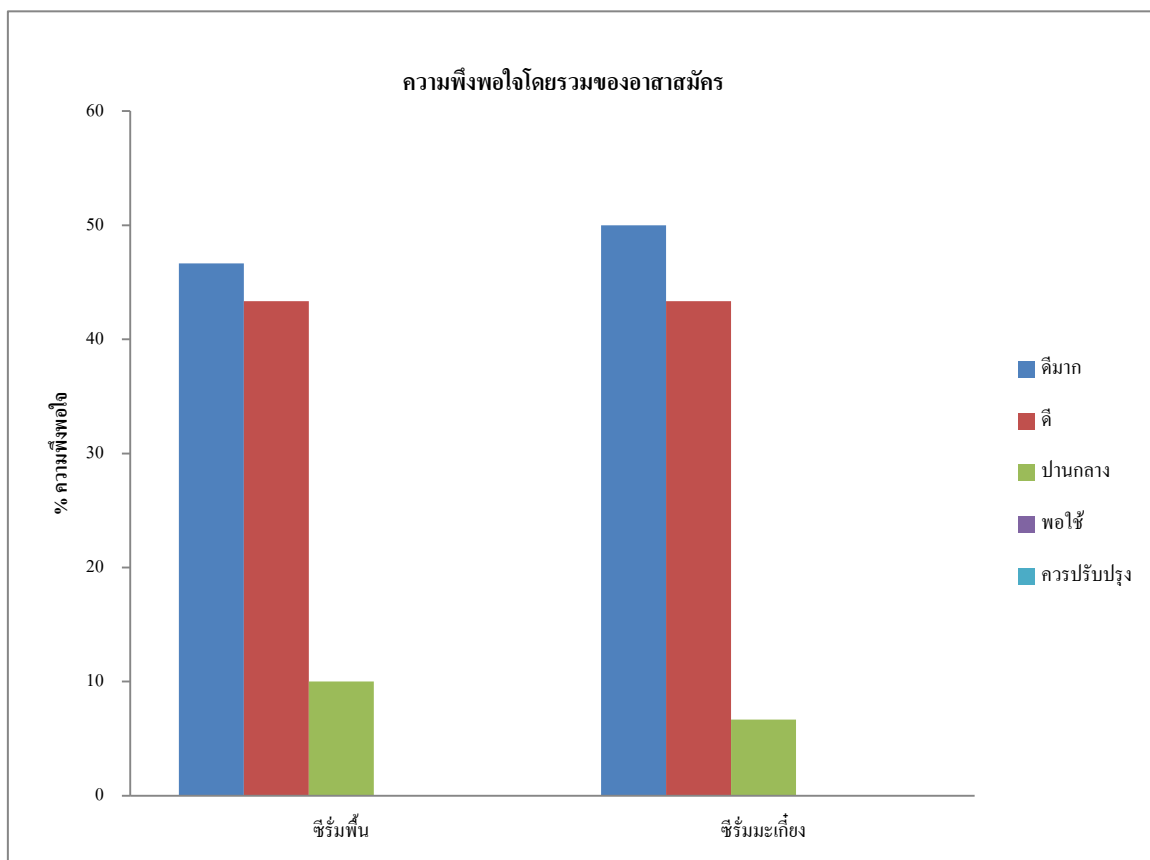
จากการประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ในหัวข้อต่าง ๆ ซึ่งจากผลการประเมินในภาพรวมพบว่าผลิตภัณฑ์ทั้งสองอยู่ในระดับความพึงพอใจที่ดี และอาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมมะเกี๋ยงมากกว่าซีรัมพื้น



ภาพ 4.51 การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมพื้น



ภาพ 4.52 การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมมะเกี๋ยง



ภาพ 4.53 การประเมินความพึงพอใจโดยรวมของผลิตภัณฑ์ที่ทำทดสอบ

ตาราง 4.101 การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมพีน และซีรัมมะเกี๋ยง

ลักษณะทั่วไปของ ผลิตภัณฑ์	ซีรัมพีน (%)				
	ควรปรับปรุง	พอใช้	ปานกลาง	ดี	ดีมาก
สี	23.33	66.67	6.67	3.33	0.00
กลิ่น	53.33	36.67	6.67	3.33	0.00
เนื้อผลิตภัณฑ์	30.00	43.33	23.33	3.33	0.00
ความเนียนนุ่ม	30.00	66.67	3.33	0.00	0.00
ความหนืด	20.00	53.33	23.33	3.33	0.00
การกระจายบนผิว	23.33	60.00	16.67	0.00	0.00
การซึมสู่ผิว	20.00	60.00	16.67	3.33	0.00
ความมัน	10.00	60.00	20.00	6.67	3.33
ความเหนอะหนะ	13.33	60.00	16.67	6.67	3.33
ความชุ่มชื้น	26.67	60.00	10.00	3.33	0.00
การไม่ทิ้งคราบบนผิว	23.33	60.00	16.67	0.00	0.00
การลดริ้วรอย	10.00	66.67	23.33	0.00	0.00
ความพึงพอใจโดยรวม	46.67	43.33	10.00	0.00	0.00
ลักษณะทั่วไปของ ผลิตภัณฑ์	ซีรัมมะเกี๋ยง (%)				
	ควรปรับปรุง	พอใช้	ปานกลาง	ดี	ดีมาก
สี	33.33	50.00	13.33	3.33	0.00
กลิ่น	40.00	43.33	16.67	0.00	0.00
เนื้อผลิตภัณฑ์	33.33	30.00	36.67	0.00	0.00
ความเนียนนุ่ม	36.67	56.67	6.67	0.00	0.00
ความหนืด	10.00	63.33	26.67	0.00	0.00
การกระจายบนผิว	23.33	63.33	13.33	0.00	0.00
การซึมสู่ผิว	20.00	56.67	23.33	0.00	0.00
ความมัน	13.33	50.00	26.67	10.00	0.00
ความเหนอะหนะ	13.33	50.00	30.00	6.67	0.00
ความชุ่มชื้น	26.67	70.00	3.33	0.00	0.00
การไม่ทิ้งคราบบนผิว	23.33	66.67	10.00	0.00	0.00
การลดริ้วรอย	23.33	53.33	23.33	0.00	0.00
ความพึงพอใจโดยรวม	50.00	43.33	6.67	0.00	0.00

การตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ตามมาตรฐาน TP supplement 2005

ผลิตภัณฑ์ที่ศึกษาความคงสภาพในตำรับต่าง ๆ ส่วนหน้านำไปตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยอ้างอิงตามเกณฑ์มาตรฐานที่ระบุใน TP Supplement 2005 โดยการตรวจหาการเจริญของเชื้อบ่งชี้การปนเปื้อน ในหน่วยของ colony forming unit ดังนี้

- 1) Total viable aerobic count (Bacteria และ Fungi) ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน nutrient agar และ potato dextrose agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2) Enterobacteria ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน coliform agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) *Escherichia coli* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน brilliance *E.coli* coliform agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4) *Staphylococcus aureus* ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน mannitol salt agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5) *Salmonella* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Salmonella-shigella agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6) Pathogenic *Clostridium* spp. ตรวจนับเชื้อที่เจริญบน Columbia blood agar ภายหลังจากกระจายตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารรุ้น เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

โดยพิจารณาตามค่ามาตรฐานของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ดังตาราง 4.102

ตาราง 4.102 ค่ามาตรฐานของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

ดัชนีจุลินทรีย์	ค่ามาตรฐาน (cfu)
Total viable aerobic count	
- bacteria	ไม่เกิน 5.0×10^7 ต่อกรัม
- fungi	ไม่เกิน 5.0×10^7 ต่อกรัม
Enterobacteria	ไม่เกิน 10^4 ต่อกรัม
<i>Escherichia coli</i>	ต้องตรวจไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม
Pathogenic <i>Clostridium</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม

ผลการศึกษาการปนเปื้อนผลิตภัณฑ์พบว่าผลิตภัณฑ์ผ่านตามเกณฑ์เกณฑ์มาตรฐานดังตาราง

4.103

ตาราง 4.103 ผลการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

ดัชนีจุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์									
	Cream 05		Cream RXB 05		Scrub 30 Nat		Cream RXB 00		Cream 00	
	ปริมาณ	ผล	ปริมาณ	ผล	ปริมาณ	ผล	ปริมาณ	ผล	ปริมาณ	ผล
Total viable aerobic count										
- bacteria	1.6×10^4	ผ่าน	2.8×10^4	ผ่าน	1.8×10^4	ผ่าน	1.6×10^4	ผ่าน	2.2×10^4	ผ่าน
- fungi	4×10^3	ผ่าน	1×10^4	ผ่าน	1×10^4	ผ่าน	1.2×10^4	ผ่าน	1.2×10^4	ผ่าน
Enterobacteria	6×10^3	ผ่าน	6×10^3	ผ่าน	6×10^3	ผ่าน	6×10^3	ผ่าน	1.0×10^4	ผ่าน
<i>Escherichia coli</i>	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน
<i>Salmonella</i> spp.	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	2×10^3	ไม่ผ่าน
Pathogenic <i>Clostridium</i> spp.	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน	0	ผ่าน

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเนื้อผลสดและสารสกัดจากเมล็ด จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเนื้อผล (ปีที่ 1) ไปเตรียมผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี เนื้อผลสดและเมล็ดแห้งของมะเกี๋ยงนำไปเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการหมักโดยใช้ 95 % เอทานอล เป็นตัวทำละลาย สารสกัดแต่ละส่วนที่ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลพบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเมล็ดให้ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่สูงกว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของส่วนเนื้อผล ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลของเมล็ดให้ฤทธิ์ที่ดีกว่าเช่นกัน ด้วยค่า TEAC = 745.69-884.50 มก./ก. ของตัวอย่าง สารสกัดทั้งสองส่วนพบว่ามีสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง ซึ่งเป็นสารที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และจากผลการศึกษา จะเห็นว่าทั้งสารสกัดมะเกี๋ยงส่วนเนื้อผลและส่วนเมล็ด สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี โดยสารสกัดส่วนเมล็ดแสดงฤทธิ์ใกล้เคียงกับกรดโคจิก ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน สารสกัดหยาบส่วนเนื้อและเมล็ดมะเกี๋ยงไม่มีความเป็นพิษเฉียบพลัน และมี LD₅₀ มากกว่า 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

สารสกัดจากเนื้อผลมะเกี๋ยงนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ เครื่องสำอาง 5 รูปแบบ (สบู่อ่อน เจลล้างหน้า ครีมบำรุงมือและเล็บ โลชั่น และซีรัม) เครื่องดื่มสมุนไพร 3 รูปแบบ (ชาชง แกรนูลผงฟู และเครื่องดื่มเข้มข้น) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร 1 รูปแบบ (เม็ดเคี้ยว) การผลิตผลิตภัณฑ์ได้ใช้หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตในทุกขั้นตอน เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มาตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก ศึกษาความพึงพอใจของผู้ใช้ และศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 4 °ซ, 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 65% และ 40 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % พบว่าการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนักผ่านมาตรฐาน Thai Pharmacopoeia Volume I and II SUPPLEMENT 2005 และ Thai Herbal Pharmacopoeia Volume II 2000 ผลิตภัณฑ์ในทุกรูปแบบมีความคงตัวที่อยู่ในเกณฑ์ ผลในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากมะเกี๋ยง พบว่า โลชั่นและครีมผสมสารสกัดมะเกี๋ยงให้ผลในการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังมากที่สุด ซีรัมมะเกี๋ยงให้ผลในการลดริ้วรอยแต่ผลในการลดริ้วรอยยังไม่ชัดเจนอาจเนื่องมาจากการใช้ผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาน้อยเกินไป ซึ่งมีแนวโน้มที่จะทำให้ริ้วรอยลดลงเมื่อใช้ไปในระยะเวลาที่นานขึ้น และทุกผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาไม่มีผลในการก่อระคายเคืองและการแพ้ในอาสาสมัคร

จากผลการศึกษา มะเกี๋ยงในส่วนเนื้อผลและเมล็ด มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ โดยเฉพาะเมล็ดหากมีการศึกษาเพิ่มเติมและพัฒนาต่อยอด มี

แนวโน้มที่จะนำไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรืออาจจะพัฒนาเป็นเวชสำอางได้ต่อไป เช่น ผลิตภัณฑ์รักษาสิว หรือชะลอวัย ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากมะเขือขี้โดยไม่มีวัสดุเหลือทิ้ง

เอกสารอ้างอิง

- กิตติศักดิ์ ลิขิตวิทยาวุฒิ 2551. มะหาด : ประโยชน์ทางยา เครื่องสำอาง และการเกษตร. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- เฉลิม จันทร์สม สุชาติพิพ ภมรประวัติ อรุณพร อิฐรัตน์. แอนโทไซยานินหลักในผลมะเกี๋ยงสุก. ธรรมศาสตร์เวชสาร, 2551, 8(3) : 364-370.
- ดรินญา เสนากุล และ ถนอมรัตน์ หลวงยศ. การประยุกต์ใช้เทคนิคด้านจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีสะอาดสำหรับการผลิตน้ำมะเกี๋ยงบรรจุขวด ของบริษัทมหาชนชัย, 2547 ค้นเมื่อ 28 กรกฎาคม 2552 จาก <http://www.pikul.lib.ku.ac.th/dblink/dbresult.php?query=Myrtaceae>.
- ทวีพร อนุจักร. การวิเคราะห์ลูกมะเกี๋ยงสุก (*Eugenia paniaia* Roxb., Myrtaceae) ทางเคมี. วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2530.
- ธนธร รจนากุล. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอยจากสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549.
- พิมพ์ใจ อาษา. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของเมล็ดมะเกี๋ยง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2551.
- พิมพ์ใจ อาษา. ฤทธิ์ต้านเชื้อ *Propionibacterium acnes* ของสารสกัดและน้ำหมักชีวภาพจากพืชสมุนไพร. รายงานกระบวนวิชาปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีเภสัชกรรม. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549.
- พิมพ์ ลีลาพรพิสิฐ สุมาลี พุกษากร ไชยวัฒน์ ไชยสุด. รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวของสารสกัด และน้ำ หมักของพืชไทย. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549.
- พิมพ์ ลีลาพรพิสิฐ อุดมภรณ์ ขาลสุวรรณ นิสิต กิตติพงษ์พัฒนา และจตุรงค์ รจนากุล. รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดมะเกี๋ยงเพื่อใช้ทางยา เสริมอาหาร และเครื่องสำอาง. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547.
- วงศ์ศิริ เข็มสวัสดิ์. การศึกษาคูณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในมะเกี๋ยงสด ระหว่างการเก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น. งาน IRPUS Exhibition 49 ณ MCC Hall เดอะ มอลล์ งามวงศ์วาน กรุงเทพฯ ระหว่างวันที่ 31 มีนาคม - 2 เมษายน. 2549.
- สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. มะเกี๋ยง : พืชในโครงการอนุรักษ์. กรุงเทพฯ. กระทรวงศึกษาธิการ, 2545.
- สุรพจน์ วงศ์ใหญ่. ทิศทางใหม่ในการพัฒนาสมุนไพรไทย. ค้นเมื่อ 12 สิงหาคม 2552 จาก http://www.rsu.ac.th/oriental_med/.

- สีทอง ลีเลียน. 2552. รายงานการวิจัยเรื่องการผลิตน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นโดยใช้เทคนิคการทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง,สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สมบัติ ขอทวีวัฒนา.2535. *การพัฒนากรรมวิธีการผลิต: ผลิตภัณฑ์อาหารเหลว*, ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัชนีวรรณ การค้า. 2539. *การศึกษาคูณสมบัติทางเคมีและแนวทางการใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของมะเกี๋ยง*. รายงานการค้นคว้าวิจัยการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์พืชมะเกี๋ยงในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. ลำปาง : สถาบันวิจัยและฝึกอบรมเกษตรลำปาง.
- Andrews, W. (1992). *Manual of Food Quality Control : 14/4 Rev.1. Microbiological Analysis*. FAO Food and Nutrition Paper 14/4 Rev.1 FAO, Rome.
- Ansel H. C., Popovich N. G., Allen L. V. Jr., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 6, 469-471, B. I. Waverly Pvt. Ltd., New Delhi, 1999.
- AOAC.(1998). *Official Methods of Analysis*. 16thed./Rev. 4. Association of Official Analytical Chemists International. Maryland.
- Casanola-Martin, G. M., Khan, M. T. H., Marrero-Ponce, Y., Ather, A.,Sultankhodzhaev, M. N. and Torrens, F. 2006. New tyrosinase inhibitors selected by atomic linear indices-based classification models. *Bioorg. Med.Chem.*, 16: 324-330.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10:178-182.
- Charoensin S., Taya S., Wongpornchai S. and Woongpoomchai R. Assessment of mutagenicity and toxicity of an aqueous extract of *Cleistocalyx nervosum* in *in vitro* and *in vivo* models. Submitted to Food Chemistry.Aug 4, 2011.
- Chantaranothai P. and Parnell, J. (1994). A revision of *Ameca*, *Cleistocalyx*, *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) in Thailand. *Thai Forest Bulletin*. 21 : 1-123. European Pharmacopoea 5.0
- Fennema, O.R. 1996. *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Fllows, P.J. 1998. *Food Processing Technology: Principle and Practice*. London: Ellis Horwood, Ltd.
- Jeong, S.H.; Yu, Y.B.; Cutis-Long, M.J.; et al. Tyrosinase inhibitory polyphenols from roots of *Morus lhou*. *J. Agric. Food Chem*. 2009, 57, 1195-1203.

- Khan, M. T. H., Khan, S. B. and Ather, A. 2006. Tyrosinase inhibitory cycloartane type triterpenoids from the methanol extract of the whole plant of *Amberboaramose* Jafri and their structure-activity relationship. *Bioorg. Med. Chem.*, 14: 938-943.
- Khan, M. T. H., Choudhary, M. I., Atta-ur-Rahman, Mamedova, R. P., Agzamova, M. A., Sultankhodzhaev, M. N. and Isaev, M. I. 2006. Tyrosinase inhibition studies of cycloartane and cucurbitane glycosides and their structure-activity relationships. *Bioorg. Med. Chem.*, 14: 6085-6088.
- Kim, Y.J.; Uyama, H. Tyrosinase inhibitors from Natural sources. *CMLS Cell. Mol. Life. Sci.* 2005, 62, 1701-1723.
- Lieberman H. A., Lachman L., Schwartz J. B. (Eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Vol.1, 2, 285, Marcel Dekker, Inc. NY, 1993.
- Likhitwitayawuid, K. 2008. Stilbenes with tyrosinase inhibitory activity. *Curr. Sci.* 94:44-52.
- Ohguchi, K., Tanaka, T., Iliya, I., Ito, T., Iinuma, M., Matsumoto, K., Akao, Y. and Nozawa, Y. 2003. Gnetol as a potent tyrosinase inhibitor from *Genus Gnetum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67(3): 663-665.
- Ranganna, S. 1977. *Plant Pigments*. In Ranganna S. (Ed.), *Manual of Analysis of Fruit and vegetables Product*. New Delhi: TaTaMcGraw-Hill publishing Co., Ltd.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. L. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Taya S., Charoensin S., Punvittayagul C., Wongpornchai S. and Wongpoomchai R. Toxicological study of antioxidative substances extracted from Ma-kiang (*Cleistocalyx nervosum* var *paniala*) in rat. การประชุมวิชาการศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี ครั้งที่ 6, 3-6 พฤษภาคม 2552, พัทยา, ชลบุรี, หน้า 273.
- Taya S., Punvittayagul C., Inbut W. and Wongpoomchai R. Effect of aqueous extract of *Cleistocalyx nervosum* on antioxidant and detoxifying enzymes in wistar rat. The 3rd Asian Pacific Regional Meeting in International Society for the Study of Xenobiotics, 10-12 May, 2009, Bangkok, Thailand, P.108.
- Taya S., Punvittayagul C., Chewonarin T., Wongpoomchai R. Effect of aqueous extract from *Cleistocalyx nervosum* on oxidative status in rat liver. *Thai J.Toxicol.* 2009; 24(2):101-105.

Zheng, Z.P.; Cheng, K.W.; Chao, J.; Wu, J.; and Wang, M. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 5368-5373.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. วิธีการประเมินคุณภาพ

1.1 การตรวจสอบค่าคงที่ต่าง ๆ

1.1.1 ปริมาณความชื้น

Flask ขนาด 500 ml

- ใส่ โทลูอิน 200 ml น้ำ 2 ml
 - กลั่น 2 ชั่วโมง ที่งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
 - อ่านปริมาตรของน้ำอย่างละเอียดถึง 0.05 มิลลิเมตร
 - นำเนื้อมะเกลือสด (บดละเอียด) 2 กรัม บรรจุใน flask
 - ใช้ความร้อนต่ำประมาณ 15 นาที
 - ปรับอัตราเร็วของการกลั่นให้ได้ 2 หยดต่อวินาที
 - กลั่นด้วยอัตรานี้นั้นน้ำที่ถูกกลั่นเกือบหมด แล้วจึงเพิ่มความร้อน เร่งอัตราเร็วเป็น 4 หยดต่อวินาที กลั่นต่อเป็นเวลา 5 นาที
- คำนวณหาปริมาณของน้ำที่มีอยู่ในมะเกลือ

1.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า โดยวิธีที่ระบุใน THP

การตรวจสอบปริมาณเถ้ารวม

Crusible ที่มีน้ำหนักคงที่

- ใส่เนื้อมะเกลืออบแห้ง (บดละเอียด) 3 กรัมลงใน Crusible
- นำไปเผาที่อุณหภูมิ 450 °C จนได้เถ้าสีขาว
- รอให้เย็นใน Desicator นำไปชั่งน้ำหนัก

ปริมาณเถ้ารวม

หมายเหตุ หากเถ้ายังมีสีดำ ที่งด้วยกระเบื้องไว้ให้เย็น เติมน้ำ 2 ml นำไปทำให้แห้ง บนอ่างอังไอน้ำ และเตาไฟฟ้า แล้วนำไปเผาจนได้น้ำหนักคงที่

การตรวจสอบปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

Crusible ที่มีเถ้ารวม

- เติม 2 M HCl จำนวน 25 mL
 - นำไปต้มนาน 5 นาที
 - กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.41
 - เก็บตะกอนนำไปเผาที่ อุณหภูมิ 500 ° C จนได้เถ้าสีขาว
 - รอให้เย็นใน Desicator แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
- คำนวณหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

1.1.3 การตรวจสอบปริมาณสารสกัดด้วย Ethyl acetate

เนื้อมะเขืออบแห้ง (บดละเอียด) 5 g

- ใส่ในขวดแก้วมีฝาปิด
- เติม Ethyl acetate 100 mL
- เขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งอีก 18 ชั่วโมง
- นำมากรองอย่างรวดเร็ว

สารละลาย

กาก

- นำสารละลายมา 20 mL
- ใส่ในถ้วยปากกว้าง
- นำไประเหยจนแห้ง
- นำไปอบที่ อุณหภูมิเท่ากับ 105 °C จนได้น้ำหนักคงที่

คำนวณหาปริมาณของสาร

1.1.4 การตรวจสอบหาปริมาณสารสกัดด้วย Ethanol 95 %

เนื้อมะเกี๋ยงอบแห้ง (บดละเอียด) 5 g

- ใส่ในขวดแก้วมีฝาปิด
- เติม Ethanol 95 % 100 mL
- เขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งอีก 18 ชั่วโมง
- นำมากรองอย่างรวดเร็ว

สารละลาย

กาก

- นำสารละลายมา 20 mL
 - ใส่ในถ้วยปากกว้าง
 - นำไประเหยจนแห้ง
 - นำไปอบที่ อุณหภูมิเท่ากับ 105 °C จนได้น้ำหนักคงที่
- คำนวณหาปริมาณของสาร

1.1.5 การตรวจสอบหาปริมาณสารสกัดด้วย water

เนื้อมะเกี๋ยงอบแห้ง (บดละเอียด) 5 g

- ใส่ในขวดแก้วมีฝาปิด
- เติมน้ำ 100 mL
- เขย่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งอีก 18 ชั่วโมง
- นำมากรองอย่างรวดเร็ว

สารละลาย

กาก

- นำสารละลายมา 20 mL
 - ใส่ในถ้วยปากกว้าง
 - นำไประเหยจนแห้ง
 - นำไปอบที่ อุณหภูมิเท่ากับ 105 °C จนได้น้ำหนักคงที่
- คำนวณหาปริมาณของสาร

2. การตรวจสอบหาปริมาณสิ่งแปลกปลอม

สุ่มตัวอย่าง จำนวน 100 กรัม นำมาเกลี่ยในภาชนะแบนราบ คัดแยกสิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่า หรือแว่นขยาย ชั่งน้ำหนักสิ่งแปลกปลอม คำนวณหาน้ำหนัก ร้อยละของสิ่งแปลกปลอมในตัวอย่าง

3. สรุปผลการตรวจสอบ

3.1 การตรวจสอบค่าคงที่ต่าง ๆ

3.1.1 ปริมาณความชื้น

จากการตรวจสอบปริมาณความชื้นใน เนื้อมะเกี๋ยง รหัส ม , รหัส ต , รหัสรวมดอยวาวิ ซึ่งเป็นพืชสดได้ปริมาณความชื้นเฉลี่ย 84.17%, 83.33%, 78.33% (v/v) ตามลำดับ

3.1.2 ปริมาณเถ้า โดยวิธี THP

จากการตรวจสอบหาปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ในผงเนื้อมะเกี๋ยง รหัส ม , รหัส ต , รหัสรวมดอยวาวิ ปรากฏว่าได้ปริมาณเฉลี่ยเถ้ารวมทั้งหมด 5.7637 % , 4.9393%, 4.1116% (w/w) และปริมาณเฉลี่ยเถ้าที่ไม่ละลายในกรด 0.1866% , 0.0922% , 0.1678% (w/w) ตามลำดับ

3.1.3 ปริมาณสารสกัดด้วย Ethyl acetate

จากการตรวจสอบปริมาณสารสกัดด้วย Ethyl acetate ในผงเนื้อมะเกี๋ยง รหัส ม , รหัส ต , รหัสรวมดอยวาวิ ปรากฏว่าได้ปริมาณสารสกัดเฉลี่ย 4.79%, 4.03%, 5.93% (w/w) ตามลำดับ

3.1.4 ปริมาณสารสกัดด้วย Ethanol 95 %

จากการตรวจสอบปริมาณสารสกัดด้วย Ethanol 95 %ในผงเนื้อมะเกี๋ยง รหัส ม , รหัส ต , รหัสรวมดอยวาวิ ปรากฏว่าได้ปริมาณสารสกัดเฉลี่ย 13.51%, 20.20%, 25.36% (w/w) ตามลำดับ

3.1.5 ปริมาณสารสกัดด้วย water

จากการตรวจสอบปริมาณสารสกัดด้วย water ในผงเนื้อมะเกี๋ยง รหัส ม , รหัส ต , รหัสรวมดอยวาวิ ปรากฏว่าได้ปริมาณสารสกัดเฉลี่ย 23.56%, 23.73%, 37.73% (w/w) ตามลำดับ

3.2 การหาปริมาณสิ่งแปลกปลอม

ไม่พบสิ่งแปลกปลอม

ภาคผนวก ข



ภาพ ข-1 แสดงลักษณะทางกายภาพของมะเกี๋ยง



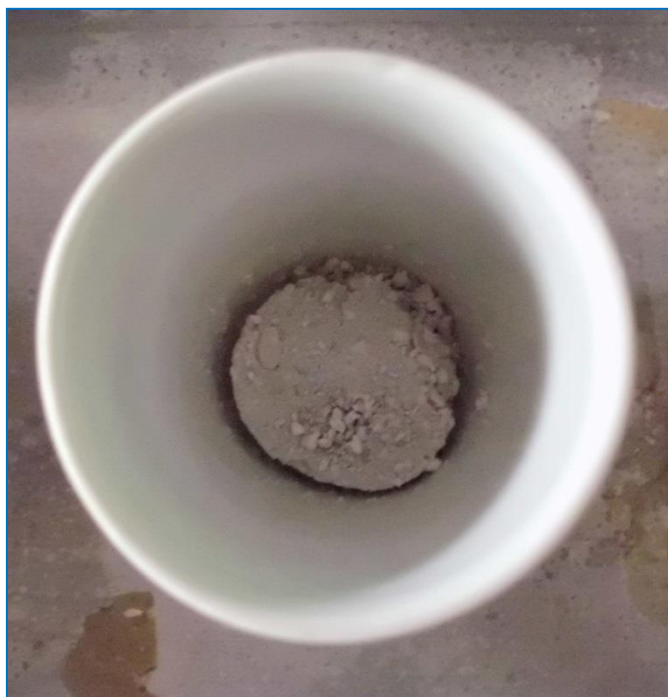
ภาพ ข-2 เนื้อมะเกี๋ยงสดบดละเอียด



ภาพ ข-3 เนื้อมะเกี๋ยงอบแห้งบดละเอียด



ภาพ ข - 4 แสดงการหาปริมาณความชื้น



ภาพ ข - 5 แสดงการหาปริมาณเถ้ารวม



ภาพ ข - 6 แสดงการหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด



ภาพ ข - 7 แสดงสารสกัดด้วยเอทานอลก่อนระเหยแห้ง (ซ้าย) และหลังระเหยแห้ง (ขวา)

ภาคผนวก ค

แบบสอบถามประเมินความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์ครีม
โครงการ การใช้ประโยชน์จากมะเกี๋ยงเป็นอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอางจากสารสกัดมะเกี๋ยง

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 เพศ [] ชาย [] หญิง

1.2 อายุ ปี

ลักษณะของครีม	ความพึงพอใจ				
	ดีมาก (5)	ดี (4)	พอใช้ (3)	น้อย (2)	ควรปรับปรุง (1)
1.ความเนียนของเนื้อครีม					
2.สี					
3.กลิ่น					
4.การซึมสู่ผิวหนัง					
5.ความมัน					
6.การกระจายบนผิวขณะทา					
7.การติดทน					
8.ความชุ่มชื้น					
9.ความเหนอะหนะ					
10.ความพึงพอใจโดยรวม					

ความคิดเห็นเพิ่มเติม

.....




.....



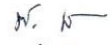
.....


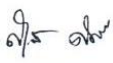

ขอบคุณทุกท่านสำหรับการตอบแบบสอบถามค่ะ

ภาคผนวก ง

ผลการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์

 <p>ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เลขที่ 191 หมู่ 8 ตำบลตอนแก้ว อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ 50180 โทรศัพท์ 0 5311 2188-90 โทรสาร 0 5311 2194 http://www.dmsc.moph.go.th/chiangmai</p>			
เลขที่รายงาน 5601051		รายงานผลการทดสอบ	หน้าที่ 1 ของ 1 หน้า
หนังสือนำส่ง	แบบนำส่งตัวอย่าง	ผู้ส่งตัวอย่าง	หัวหน้าศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ
ลงวันที่	2 มกราคม 2556		คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่รับตัวอย่าง	2 มกราคม 2556	ที่อยู่	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่ส่งตัวอย่าง	-		ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
วันที่เริ่มทดสอบ	10 มกราคม 2556		จังหวัดเชียงใหม่ 50200
วันที่ออกรายงาน	30 มี.ค. 2556		
หมายเลขตัวอย่าง	35560004302		
ชื่อตัวอย่าง	ยาเม็ดเคี้ยวมะเกี๋ยง		
ชนิดตัวอย่าง	ยาจากสมุนไพร		
ลักษณะตัวอย่าง	ยาเม็ดรีสีม่วง บรรจุในซองสีเงิน		
ผู้ผลิต	ศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		
ผู้จัดจำหน่าย	-	วันที่ผลิต	-
วันที่ผลิต	20 ธันวาคม 2555	วันหมดอายุ	-
เลขทะเบียนตำรับยา	-	จำนวน	1 ถุง X 100 เม็ด
รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เกณฑ์กำหนด	วิธีทดสอบ
1. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์			TP Supplement 2005
Total viable aerobic count		(1)	
- bacteria	5.5×10^3 ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0×10^5 ต่อกรัม	
- fungi	น้อยกว่า 10 ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0×10^3 ต่อกรัม	
Enterobacteria	น้อยกว่า 10 ต่อกรัม	ไม่เกิน 10^3 ต่อกรัม	
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบต่อกรัม	ไม่พบต่อกรัม	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบต่อกรัม	ไม่พบต่อกรัม	
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
<i>Clostridium</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
หมายเหตุ : เกณฑ์กำหนดตาม Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005			
ลงชื่อ 	ผู้ทดสอบ	ลงชื่อ 	ผู้รับรองรายงาน
(นางสุดสวาท ศักดิ์)		(นางพัชรินทร์ จันทรานิมิตร)	
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์		นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ	
รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น ห้ามนำรายงานนี้ไปคัดลอกหรือทำสำเนาเฉพาะบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร			

 <p>ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เลขที่ 191 หมู่ 8 ตำบลตอนแก้ว อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ 50180 โทรศัพท์ 0 5311 2188-90 โทรสาร 0 5311 2194 http://www.dmsc.moph.go.th/chiangmai</p>			
เลขที่รายงาน 5601052		รายงานผลการทดสอบ	หน้าที่ 1 ของ 1 หน้า
หนังสืออ้างอิง	แบบอ้างอิงตัวอย่าง	ผู้ส่งตัวอย่าง	หัวหน้าศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ
ลงวันที่	2 มกราคม 2556	ที่อยู่	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่รับตัวอย่าง	2 มกราคม 2556		คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่ส่งตัวอย่าง	-		ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
วันที่เริ่มทดสอบ	10 มกราคม 2556		จังหวัดเชียงใหม่ 50200
วันที่ออกรายงาน	30 มี.ค. 2556		
หมายเลขตัวอย่าง	35560004303		
ชื่อตัวอย่าง	ยาเม็ดเคี้ยวมะเกี๋ยง สูตร 20		
ชนิดตัวอย่าง	ยาจากสมุนไพร		
ลักษณะตัวอย่าง	ยาเม็ดรีสีม่วง บรรจุในซองสีเงิน		
ผู้ผลิต	ศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		
ผู้จัดจำหน่าย	-	วันที่ผลิต	-
วันที่ผลิต	13 ธันวาคม 2555	วันหมดอายุ	-
เลขทะเบียนตำรับยา	-	จำนวน	1 ถุง X 100 เม็ด
รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เกณฑ์กำหนด	วิธีทดสอบ
1. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์			TP Supplement 2005
Total viable aerobic count		(1)	
- bacteria	น้อยกว่า 3.0×10^2 ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0×10^5 ต่อกรัม	
- fungi	น้อยกว่า 10 ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0×10^3 ต่อกรัม	
Enterobacteria	น้อยกว่า 10 ต่อกรัม	ไม่เกิน 10^3 ต่อกรัม	
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบต่อกรัม	ไม่พบต่อกรัม	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบต่อกรัม	ไม่พบต่อกรัม	
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
<i>Clostridium</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
หมายเหตุ : เกณฑ์กำหนดตาม Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005			
ลงชื่อ	 (นางสุดสวาท ศักดิ์) นักวิทยาศาสตร์การแพทย์	ผู้ทดสอบ	ลงชื่อ  (นางพัชรินทร์ จันทรานิมิตร) นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น ห้ามนำรายงานนี้ไปคัดลอกหรือทำสำเนาเฉพาะบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร			

 <p>ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เลขที่ 191 หมู่ 8 ตำบลคอนแก้ว อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ 50180 โทรศัพท์ 0 5311 2188-90 โทรสาร 0 5311 2194 http://www.dmhc.moph.go.th/chiangmai</p>			
เลขที่รายงาน	5601050	รายงานผลการทดสอบ	หน้าที่ 1 ของ 1 หน้า
หนังสือจัดส่ง	แบบจัดส่งตัวอย่าง	ผู้ส่งตัวอย่าง	หัวหน้าศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ
ลงวันที่	2 มกราคม 2556	ที่อยู่	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่รับตัวอย่าง	2 มกราคม 2556		คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วันที่ส่งตัวอย่าง	-		ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
วันที่เริ่มทดสอบ	10 มกราคม 2556		จังหวัดเชียงใหม่ 50200
วันที่ออกรายงาน	30 ม.ค. 2556		
หมายเลขตัวอย่าง	35560004301		
ชื่อตัวอย่าง	ชาชงสมุนไพรมะเกี๋ยง		
ชนิดตัวอย่าง	ยาจากสมุนไพร		
ลักษณะตัวอย่าง	ผงสีน้ำตาลบรรจุในซองชาชงสีขาว บรรจุถุงพลาสติกสีเงิน		
ผู้ผลิต	ศูนย์วิจัยสมุนไพรภาคเหนือ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		
ผู้จัดจำหน่าย	-	รุ่นที่ผลิต	-
วันที่ผลิต	19 ธันวาคม 2555	วันหมดอายุ	-
เลขทะเบียนตำรับยา	-	จำนวน	10 ถุง X 10 กรัม
รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เกณฑ์กำหนด	วิธีทดสอบ
1. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์			TP Supplement 2005
Total viable aerobic count		(1)	
- bacteria	1.1 x 10 ³ ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0 x 10 ⁷ ต่อกรัม	
- fungi	20 ต่อกรัม	ไม่เกิน 5.0 x 10 ⁴ ต่อกรัม	
Enterobacteria	น้อยกว่า 10 ต่อกรัม	ไม่เกิน 10 ⁴ ต่อกรัม	
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบต่อกรัม	ไม่พบต่อกรัม	
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
<i>Clostridium</i> spp.	ไม่พบต่อ 10 กรัม	ไม่พบต่อ 10 กรัม	
หมายเหตุ : เกณฑ์กำหนดตาม Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005			
ลงชื่อ		ผู้ทดสอบ	ลงชื่อ 
	(นางสุดสวาท ศักดิ์)		(นางพัชรินทร์ จันทรานิมิตร)
	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์		ผู้รับรองรายงาน นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
<p>รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น ห้ามนำรายงานนี้ไปคัดลอกหรือทำสำเนาเฉพาะบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร</p>			