



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาและประเมินรูปแบบก้อฟิล์มชนิดสเปรย์นำส่งไวโอลาซีน
สำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

(Development and characterization of Violacein film-forming spray
for topical antibacterial application)

โดย

- | | |
|--------------------------|--------------------|
| 1. นสภ. ณีฐฐา ทุภะบุตร | รหัสสถิติ 59210087 |
| 2. นสภ. ไชยวัฒน์ ราชาไกร | รหัสสถิติ 59210101 |
| 3. นสภ. นราพร สังข์นาค | รหัสสถิติ 59210111 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

การพัฒนาและประเมินรูปแบบกอฟิล์มชนิดสเปรย์นำส่งไวโอลาซีน
สำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

(Development and characterization of Violacein film-forming spray
for topical antibacterial application)

โดย

- | | |
|--------------------------|--------------------|
| 1. นสภ. ณีฐฐา ทุระบุตร | รหัสสถิติ 59210087 |
| 2. นสภ. ไชยวัฒน์ ราชาไกร | รหัสสถิติ 59210101 |
| 3. นสภ. นราพร สังข์นาค | รหัสสถิติ 59210111 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใช้ภายนอกเป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญของปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะที่ต้องหาทางออกอย่างเร่งด่วน การใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดแทนยาปฏิชีวนะจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาได้ โดยสารสกัดเม็ดสีไวโอลาซินที่สกัดจากเชื้อ *Chromobacterium violaceum* เป็นรงควัตถุสีม่วงที่มีฤทธิ์โดดเด่นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ ได้แก่ ต้านเชื้อรา ต้านไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ ฯลฯ จึงนำไปสู่การพัฒนาตำรับสารสกัดสีไวโอลาซินในรูปแบบระบบก่อก่อฟิล์มซึ่งมีข้อดีเหนือกว่ารูปแบบเภสัชภัณฑ์ภายนอกโดยทั่วไป เมื่อใช้บนผิวหนังแล้วตัวทำละลายจะระเหย เหลือฟิล์มที่มีสารสำคัญเกาะอยู่บนผิว การก่อก่อฟิล์มสามารถเป็นได้ทั้งพอลิเมอร์ของแข็งที่ค่อย ๆ ปล่อยยาออกมา และเป็นฟิล์มของเหลวที่ซึมเข้าสู่ชั้น Stratum corneum อย่างรวดเร็ว โดยฟิล์มที่เกิดขึ้นจะไม่เหนียวเหนอะ ยึดหยุ่นได้ดี ทนทาน ไม่หลุดเปราะเป็นอันเสื้อผ้า ไม่ระคายเคืองผิวหนัง ลอกออกได้ง่ายลดการเจ็บปวดบริเวณแผล และเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย คณะผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยนี้จะมีประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจเกี่ยวกับการพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบระบบก่อก่อฟิล์ม และสารสกัดจากธรรมชาติที่เป็นทางเลือกในการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ

คณะผู้วิจัย

นสภ. ณีฐธา ทูทะบุตร 59210087

นสภ. ไชยวัฒน์ ราชาไกร 59210101

นสภ. นราพร สังข์นาค 59210111

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2563

เรื่อง การพัฒนาและประเมินรูปแบบกึ่งฟิล์มชนิดสเปรย์นำส่งไวโอลาซินสำหรับด้าน เชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ. ณัฐฐา ทูทะบุตร รหัส 59210087
2. นสภ. ไชยวัฒน์ ราชาไกร รหัส 59210101
3. นสภ. นราพร สังข์นาค รหัส 59210111

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ภญ.ผศ.ดร. ธนิกันต์ แสงน้อม
2. ภก.รศ.ดร. กัมปนาท หวลบุตตา

บทคัดย่อ

ปัจจุบันปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาที่ต้องหาทางออกอย่างเร่งด่วน การใช้สารสกัดไวโอลาซินจากเชื้อ *Chromobacterium violaceum* ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมาทดแทนยาปฏิชีวนะจึงเป็นหนึ่งในทางเลือก นำไปสู่การพัฒนาตำรับนำส่งสารสกัดไวโอลาซินทางผิวหนังโดยระบบกึ่งฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ที่เมื่อใช้บนผิวหนังแล้วตัวทำละลายจะระเหยเหลือฟิล์มเกาะอยู่บนผิวซึ่งฟิล์มที่ได้มีความยืดหยุ่น ทนทาน และลอกออกง่าย โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของตำรับระบบกึ่งฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ พัฒนาตำรับสำหรับนำส่งสารสกัดไวโอลาซินทางผิวหนัง และศึกษาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของตำรับ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดไวโอลาซินสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และต้านอนุมูลอิสระได้ โดยในการพัฒนาตำรับครั้งนี้ใช้ Central Composite Design ในการออกแบบการทดลอง เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของตำรับ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 รัศมีของสเปรย์ลดลง แต่ความหนืด ระยะเวลาในการแห้ง และความทนทานเพิ่มขึ้น การเพิ่มความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (DEP) ทำให้ความเค้น และ Young modulus ลดลง แต่ความเครียดเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ รัศมีของสเปรย์เพิ่มขึ้น แต่ระยะเวลาในการแห้ง ความหนืด และความทนทานลดลง โดยตำรับที่ดีที่สุดประกอบด้วย Eudragit® RS 100 17.41 %w/w, DEP 20 %w/w ของความเข้มข้น Eudragit® RS 100 อัตราส่วนระหว่างเอทานอลและน้ำ 4 : 1 (w/w) และสารสกัดไวโอลาซิน 2.5 mg/mL ซึ่งมีรัศมีของสเปรย์กว้าง ความหนืดอยู่ในช่วง 0.025-0.045 Pa·s ฟิล์มมีความยืดหยุ่น ทนทาน และใช้ระยะเวลาในการแห้งน้อย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

Senior Project Academic Year 2020

: Development and characterization of Violacein film-forming spray for topical antibacterial application

By:

1. Miss Natta Thuphabut ID 59210087
2. Mr. Chaiyawat Rachagrai ID 59210101
3. Miss Narabhorn Sangnak ID 59210111

Advisor

1. Asst. Prof. Dr. Tanikan Sangnim
2. Assoc. Prof. Dr. Kampanart Huanbutta

ABSTRACT

Antibiotic resistant bacteria are the important problem. Using Violacein extract from *Chromobacterium violaceum* which has antibacterial properties is one of solution to solve this problem. Therefore, in this study Violacein was used as active ingredient in antimicrobial topical film-forming sprays (FFS) which is applied on skin, solvent evaporates then film forms on skin. The film is flexible, peelable and increase patient compliance. The objectives of this study are study factor that impact to physical properties of FFS, develop formulation for delivery violacein and study antibacterial properties of Violacein FFS. Results show violacein has antibacterial and antioxidant properties. This study uses Central Composite Design for study factor that impact to physical properties. When concentration of Eudragit[®] RS 100 increases affect viscosity, time to dry and toughness increases but spray radius decreases. Since increasing DEP concentration impact to stress and young modulus decreases but strain increases. Because ratio of ethanol and water increases result to spray radius and viscosity increases but time to dry and toughness decrease. The optimized formulation includes Eudragit[®] RS 100 17.41 %w/w, DEP 20 %w/w of concentration of Eudragit[®] RS 100, ratio ethanol and water 4: 1 (w/w) and Violacein 2.5 mg/mL which is wide spray radius, viscosity is in range 0.025-0.045 Pa·S to form flexible, tough and less time to dry film.

Major Advisor

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ญ.ผศ.ดร.ธนิกานต์ แสงน้อม และ ภก.รศ.ดร.กัมปนาท หวลบุตตา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย เป็นผู้ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดระยะเวลาการทำโครงการวิจัยในครั้งนี้ ทางคณะผู้จัดทำโครงการวิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง และผู้จัดทำโครงการวิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย นางสาววิภาดา ศิริตันหยง ที่คอยสนับสนุนให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดทำโครงการวิจัยครั้งนี้ให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้อย่างสมบูรณ์ลุล่วง

คณะผู้วิจัย

นสภ. ณีฐฐา ทุกะบุตร 59210087

นสภ. ไชยวัฒน์ ราชาไกร 59210101

นสภ. นราพร สังข์นาค 59210111

(3 เมษายน 2564)

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ข
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
1. บทที่ 1 บทนำ	1
1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2. วัตถุประสงค์	3
1.3. กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.4. สมมติฐานการวิจัย	3
1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.6. นิยามศัพท์เฉพาะ	4
2. บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
2.1. เม็ดสีไวโอลาซีน (Violacein pigment)	5
2.2. เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบนผิวหนัง	9
2.3. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับการสมานแผล	9
2.4. เกสรภัณฑ์ใช้ภายนอกสำหรับโรคผิวหนังจากการติดเชื้อ	11
2.5. ระบบก่อฟิล์ม (Film forming system)	12
2.6. การวัดการไหลและความหนืด	21
2.7. การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis)	24
2.8. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย	27
3. บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	28
3.1. อุปกรณ์และสารเคมี	28
3.2. วิธีการทดลอง	29
4. บทที่ 4 ผลการวิจัย	37
4.1. ผลการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซีน	37
4.2. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีน	38
4.3. ผลการประเมินตำรับ	43
4.4. การหาสูตรตำรับที่เหมาะสม	49
5. บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	52
5.1. การทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซีน	52

5.2. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีน	52
5.3. การประเมินสมบัติทางกายภาพของตำรับ	53
5.4. การหาสูตรตำรับที่เหมาะสม	56
5.5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	56
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก	64

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สมบัติในอุดมคติของยาหรือสารสำคัญในการบริหารทางผิวหนัง	14
ตารางที่ 2 ตัวอย่างยาที่ใช้ในตำรับ Film-forming system	14
ตารางที่ 3 สมบัติของพอลิเมอร์	15
ตารางที่ 4 ตัวทำละลายที่นิยมใช้	18
ตารางที่ 5 อัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายที่ใช้	32
ตารางที่ 6 แสดงค่าระดับของตัวแปรแต่ละชนิด	33
ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของแต่ละสูตรตำรับ	33
ตารางที่ 8 ค่าตัวแปรตามที่กำหนดในตำรับ Optimization	35
ตารางที่ 9 ตัวแปรตามในการประเมินตำรับ	36
ตารางที่ 10 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)	37
ตารางที่ 11 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)	38
ตารางที่ 12 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไวโอบาลิน ในตัวทำละลายเอ ทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay	38
ตารางที่ 13 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay	40
ตารางที่ 14 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอบาลินในตัวทำ ละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS assay	41
ตารางที่ 15 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS assay	42
ตารางที่ 16 ผลการประเมินตำรับแต่ละตำรับ 17 สูตร	43
ตารางที่ 17 สมการ Partial least square regression (PLS)	44
ตารางที่ 18 ค่าของ Factors และ Response จากการทำนายของตำรับที่มีค่า Desirability เท่ากับ 0.566	49
ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงที่ได้จากการทดลองของ ตำรับที่ดีที่สุด	49
ตารางที่ 20 Inhibition zone ของตำรับต่าง ๆ	50

ตารางที่ 21	การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงที่ได้จากการทดลองของ ตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซีน เข้มข้น 2.5 mg/mL	51
ตารางที่ 22	แสดงค่าขนาดรัศมีสเปร์รี่ในการฉีดแต่ละรอบของแต่ละตำรับที่ทำการประเมิน	64
ตารางที่ 23	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 1	65
ตารางที่ 24	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 2	67
ตารางที่ 25	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 3	69
ตารางที่ 26	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 4	71
ตารางที่ 27	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 5	73
ตารางที่ 28	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 6	75
ตารางที่ 29	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 7	77
ตารางที่ 30	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 8	79
ตารางที่ 31	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 9	81
ตารางที่ 32	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 10	83
ตารางที่ 33	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 11	85
ตารางที่ 34	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 12	87
ตารางที่ 35	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 13	89
ตารางที่ 36	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 14	91
ตารางที่ 37	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 15	93
ตารางที่ 38	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 16	95
ตารางที่ 39	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 17	97
ตารางที่ 40	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Formulation	99
ตารางที่ 41	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Formulation + Violacein 2.5 mg/ml	101
ตารางที่ 42	แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่าเฉลี่ย Shear viscosity (Pa·s) ของแต่ ละตำรับ	103
ตารางที่ 43	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 1	106
ตารางที่ 44	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 2	107
ตารางที่ 45	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 3	108
ตารางที่ 46	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 4	109
ตารางที่ 47	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 5	110

ตารางที่ 48 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 6	111
ตารางที่ 49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 7	112
ตารางที่ 50 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 8	113
ตารางที่ 51 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 9	114
ตารางที่ 52 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 10	115
ตารางที่ 53 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 11	116
ตารางที่ 54 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 12	117
ตารางที่ 55 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 13	118
ตารางที่ 56 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 14	119
ตารางที่ 57 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 15	120
ตารางที่ 58 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 16	121
ตารางที่ 59 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ	122
Formulation	123
ตารางที่ 61 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ	
Formulation + Violacein 2.5 mg/mL	124
ตารางที่ 62 แสดงค่า Stress (MPa), Strain (%) และ Toughness (MJ/m ³)	125

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างของสารไวโอลาซิน	5
รูปที่ 2 กราฟแสดง Cytotoxicity ของไวโอลาซินในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ หลังทำการบ่ม 24 ชั่วโมง	7
รูปที่ 3 แสดงชนิดของความเครียด (strain) 2 ชนิด (a) shear, (b) extension	21
รูปที่ 4 แสดงลักษณะ flow curves ระหว่าง Shear stress และ Shear rate (ซ้าย) และ Viscosity และ Shear rate (ขวา)	22
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นสารสกัดไวโอลาซินในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ DPPH assay	39
รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้น Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ DPPH assay	40
รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นสารสกัดไวโอลาซินในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ ABTS assay	41
รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นของ Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ ABTS assay	42
รูปที่ 9 พื้นที่การตอบสนองของค่ารัศมีของสเปรย์ (Spray radius) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ	44
รูปที่ 10 พื้นที่การตอบสนองของค่าความหนืด (Viscosity) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ	45
รูปที่ 11 พื้นที่การตอบสนองของค่าความเค้น (Stress) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate	46
รูปที่ 12 พื้นที่การตอบสนองของค่าความเครียด (Strain) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate	46
รูปที่ 13 พื้นที่การตอบสนองของค่า Young modulus ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate	47
รูปที่ 14 พื้นที่การตอบสนองของค่าระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (Time to dry) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ	48
รูปที่ 15 พื้นที่การตอบสนองของค่าความทนทาน (Toughness) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ	48

รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity	54
รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 1)	66
รูปที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 2)	68
รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 3)	70
รูปที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 4)	72
รูปที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 5)	74
รูปที่ 22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 6)	76
รูปที่ 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 7)	78
รูปที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 8)	80
รูปที่ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 9)	82
รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 10)	84
รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run11)	86
รูปที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 12)	88
รูปที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 13)	90
รูปที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s ⁻¹) และ Shear viscosity (Run 14)	92

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และต่อเนื่องซึ่งถือเป็นภัยคุกคามระดับโลกที่ต้องหาทางออกอย่างเร่งด่วน โดยวิกฤตการณ์การดื้อยาส่วนใหญ่มีสาเหตุจากการใช้ยาปฏิชีวนะเกินขนาด เกินความจำเป็น ใช้ยาในทางที่ผิด รวมถึงอุตสาหกรรมยาขาดการพัฒนา ยาปฏิชีวนะใหม่ (1) ซึ่งปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใช้ภายนอก (Topical antibiotic) อย่างไม่สมเหตุสมผล เป็นสาเหตุสำคัญหนึ่งที่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย เช่น ปัญหาการใช้กรดฟิวซิดิกชนิดใช้กับผิวหนัง (Topical fusidic acid) ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด ใช้สำหรับรักษาแผลติดเชื้อบริเวณผิวหนัง ซึ่งปัจจุบันมีการแนะนำให้ใช้น้อยลงเนื่องจากปัญหาการดื้อยา จึงมีการแนะนำให้ใช้ยามิวไพโรซินชนิดใช้กับผิวหนัง (Topical mupirocin) สำหรับรักษาการติดเชื้อทางผิวหนังที่ดื้อต่อยา Fusidic acid นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ และยาคอร์ติโคสเตียรอยด์ เช่น Fusidic acid/betamethasone ชนิดครีมมีข้อบ่งใช้ในการรักษาที่ไม่ชัดเจน อีกทั้งยังขาดการวิจัยในด้านคุณภาพ และมีความน่ากังวลเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของอัตราการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ปัจจุบันจึงแนะนำให้ใช้ Fusidic acid/betamethasone ชนิดครีมในการรักษาแผลติดเชื้อที่ผิวหนังในระยะสั้นเท่านั้น ต่อมา มีการแนะนำให้ใช้สารระงับเชื้อ (Antiseptic agent) เนื่องจากมีความสามารถในการออกฤทธิ์ได้กว้างกว่ายาปฏิชีวนะ และสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียลงได้ อย่างไรก็ตาม สารระงับเชื้อ เช่น ไอโอดีน (Iodine), คลอร์เฮกซิดีน (Chlorhexidine) มีจำกัดคืออาจทำให้เกิดการระคายเคืองและเกิดผื่นคันจากการแพ้ได้ถ้าหากมีการใช้ที่ความเข้มข้นสูง (2) ด้วยเหตุนี้การนำสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ หรือสารระงับเชื้อในการรักษาแผลที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

หนึ่งในสารสกัดจากธรรมชาติที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย มีฤทธิ์รักษาบาดแผลได้ดี และมีแนวโน้มในการนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้คือ สารสกัดจากแบคทีเรีย ซึ่งเป็นเม็ดสีที่ได้จากกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียคือ สารสกัดที่เป็นเม็ดสีไวโอลาซีน (Violacein pigment) ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีสีม่วง สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย *Chromobacterium violaceum* เนื่องจากสารสกัดไวโอลาซีนมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแกรมบวก ต้านเชื้อวัณโรค ต้านเชื้อรา ต้านมะเร็ง ต้านพยาธิ ต้านโปรโตซัว ต้านไวรัส ต้านการท้องเสีย ต้านไข้ แก้วปวด ต้านอนุมูลอิสระ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (3) นอกจากนี้

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เหมาะสมกับการรักษาแผลแล้ว แบคทีเรียชนิดนี้มีสายพันธุ์ให้เลือกจำนวนมาก ขยายพันธุ์ง่าย กระบวนการหมักเกิดขึ้นรวดเร็ว และได้ผลผลิตมากเมื่อเทียบกับกระบวนการอื่น ๆ ทนต่อสภาวะสิ่งแวดล้อม เช่น แสง UV อนุมูลอิสระต่าง ๆ (4) และสารสกัดไวโอลาซินได้รับการรับรองว่าไม่ก่ออันตรายในสัตว์ทดลอง (5) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานความปลอดภัยในมนุษย์ และยังไม่ได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยาประเทศสหรัฐอเมริกาในด้านความปลอดภัย

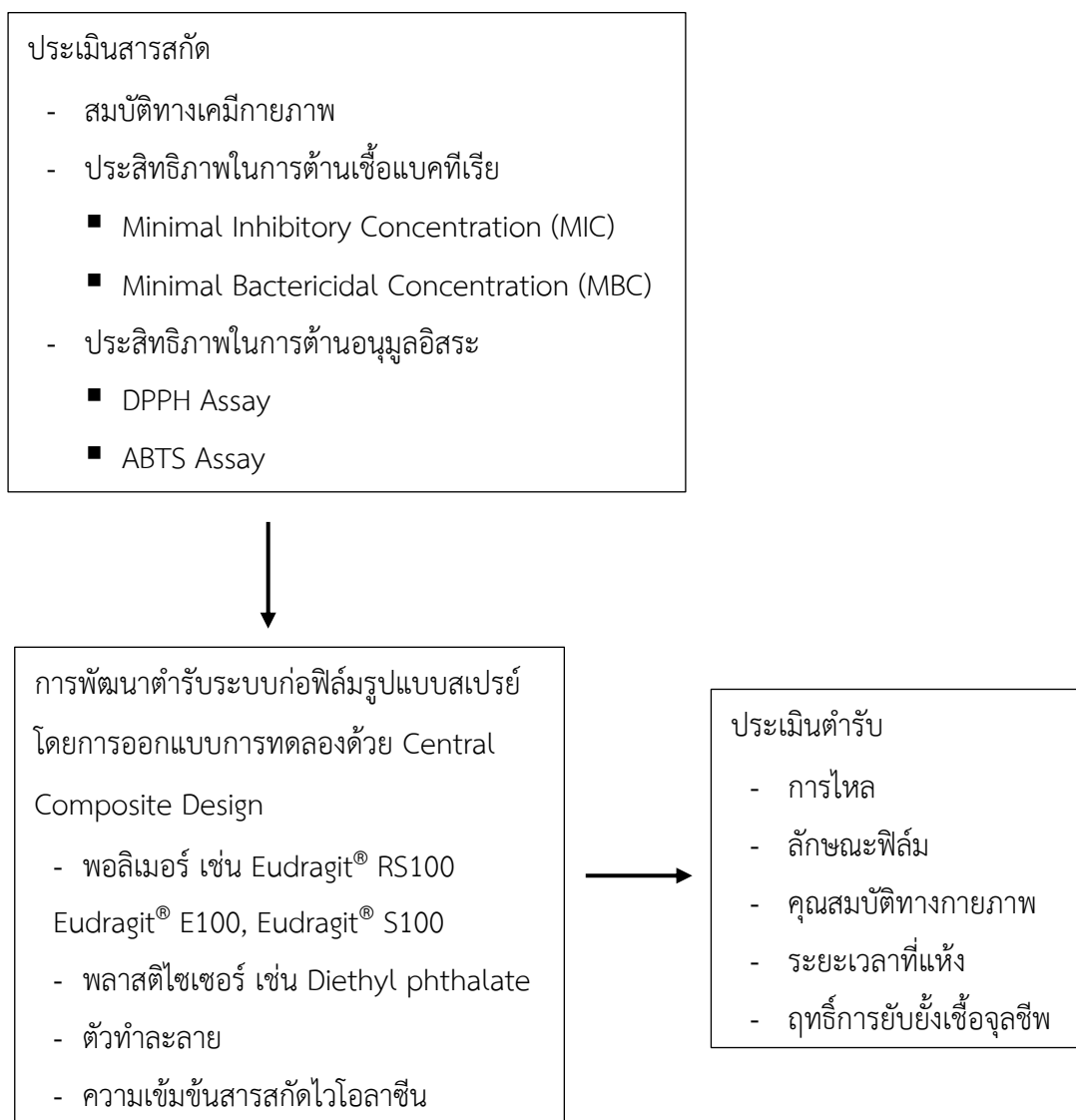
เภสัชภัณฑ์รักษาบาดแผลที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีหลายรูปแบบ เช่น สารละลายใส (Solutions) มีข้อดีคือ สามารถบริหารยาได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือ ไม่อยู่ติดผิวทำให้ประสิทธิภาพการออกฤทธิ์บนผิวหนังไม่ดี ไหลง่ายจึงทำให้สีของสารสกัดเปราะอะเปื้อนติดเสื้อผ้า ยาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็ง (Semisolids) ได้แก่ ครีม (Creams) เจล (Gels) ขี้ผึ้ง (Ointments) และเพสต์ (Pastes) มีข้อดีคือ ลดโอกาสการเกิดอาการข้างเคียงจากการใช้ยา สามารถออกฤทธิ์เฉพาะที่ และหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงที่ตบก่อนเข้ากระแสเลือด เพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย อีกทั้งเกิดปัญหาในการหยุดใช้ยาได้น้อยกว่ายาในรูปแบบอื่น แต่มีข้อเสียคือ ยาพื้น (Base) สามารถถูกออกซิไดซ์ (Oxidized) ได้ง่าย ไม่มีความแม่นยำของปริมาณยาในการใช้ยาแต่ละครั้ง และการทายาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็งอาจทำให้รบกวนการใช้ชีวิตประจำวัน เช่น เลอะเสื้อผ้า (6) แผ่นแปะผิวหนัง (Patches) มีข้อดีคือ ไม่เจ็บปวดจากการทำลายเนื้อเยื่อที่บริเวณผิวหนัง (ไม่ทำลายเนื้อเยื่อบริเวณที่แปะ) เหมาะกับยาที่จะถูกกรดในกระเพาะทำลายได้ง่าย ยาที่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารได้ไม่ดี และยาที่ถูกทำลายโดยตับ เป็นทางเลือกของผู้ป่วยที่รับประทานยาไม่ได้ นำส่งยาได้เป็นระยะเวลาาน แต่มีข้อเสียคือ ไม่สามารถนำส่งยาที่มีประจุ (Ionic drug) ไม่สามารถนำส่งยาที่เป็นโมเลกุลใหญ่ ไม่สามารถนำส่งยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์แบบเป็นช่วง ๆ (Pulsatile) และไม่สามารถทำให้ระดับยาในเลือดอยู่ในระดับการออกฤทธิ์สูงสุดได้ (7) ปัจจุบันจึงมีการพัฒนารูปแบบระบบกึ่งฟิล์ม (Film forming system/FFS) ซึ่งประกอบด้วยตัวยาและสารก่อฟิล์มในน้ำกระสายยา ซึ่งมีข้อดีเหนือกว่ารูปแบบเภสัชภัณฑ์ทั่วไปคือ เมื่อใช้บนผิวหนังแล้วตัวทำละลายจะระเหย เหลือฟิล์มที่มียาเกาะอยู่บนผิว การก่อฟิล์มสามารถเป็นได้ทั้งพอลิเมอร์ของแข็งที่ ค่อยๆ ปล่อยยาออกมา และเป็นฟิล์มของเหลวที่ซึมเข้า Stratum corneum อย่างรวดเร็ว โดยที่ไม่เหนียวเหนอะ ยึดหยุ่นได้ดี อยู่ทนทาน ไม่เปราะอะเปื้อน ปลอดภัย ลอกออกได้ง่าย และเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาที่ดีขึ้นกับผู้ป่วย (8)

ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้รักษาแผลที่ผิวหนังในรูปแบบของระบบกึ่งฟิล์มชนิดสเปร์รี่ โดยในวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการนำสารสกัดที่เป็นเม็ดสีไวโอลาซิน (Violacein pigment) ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีสีม่วงสกัดจากเชื้อแบคทีเรีย *Chromobacterium violaceum* มาใช้เป็นตัวยาสำคัญในผลิตภัณฑ์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของตำรับระบบก่อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์
2. เพื่อพัฒนาตำรับสำหรับนำส่งสารสกัดไวโอลาซินจากแบคทีเรียทางผิวหนังโดยระบบก่อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของระบบก่อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ที่มีสารสกัดไวโอลาซิน

กรอบแนวคิดการวิจัย



สมมติฐานการวิจัย

1. ปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของตำรับระบบก่อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ ได้แก่ ชนิดและปริมาณตัวทำละลาย พลาสติกไซเซออร์ พอลิเมอร์ และความเข้มข้นของสารสกัด

2. สามารถนำส่งสารสกัดไวโอลาซินจากแบคทีเรียทางผิวหนังโดยระบบก้อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ได้
3. ระบบก้อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ที่มีสารสกัดไวโอลาซินมีประสิทธิภาพการในฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบปัจจัยที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของตำรับระบบก้อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์
2. ได้วิธีการเตรียมและผลิตภัณฑ์ระบบก้อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ที่มีประสิทธิภาพการในฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
3. ลดการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใช้ภายนอกจึงช่วยลดอัตราการเกิดเชื้อดื้อยาได้

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ไวโอลาซิน หมายถึง เม็ดสีที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียโดยสายพันธุ์ที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้คือ *Chromobacterium violaceum* เมื่อสกัดเม็ดสีได้ลักษณะเป็นสีม่วง
2. การออกฤทธิ์เฉพาะที่ หมายถึง ยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์ ณ จุดที่มีการเกิดโรคเท่านั้น
3. ระบบก้อฟิล์ม (Film forming system) หมายถึง ระบบนำส่งสารในรูปแบบก้อฟิล์ม โดยมีสารก้อฟิล์มเป็นองค์ประกอบในตำรับยา
4. ฟิล์มมีคุณสมบัติที่ดี หมายถึง ก่อเป็นแผ่นฟิล์มโปร่งใส บาง เกาะติด และยืดหยุ่นได้ดี บริเวณผิวหนังที่ต้องการหวังผลในการออกฤทธิ์ของยา
5. Central composite design หมายถึง การออกแบบการทดลองที่เป็นการทดลองแบบส่วนประสมกลางที่ใช้ในการหาค่าตัวแปรที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้ผลต่อผลลัพธ์เป็นไปตามเป้าหมาย

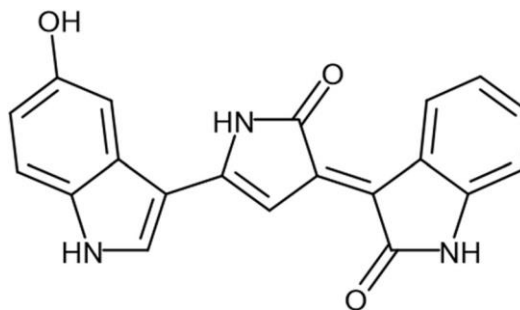
บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. เม็ดสีไวโอลาซีน (Violacein pigment)

1.1. ลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมี

เม็ดสีไวโอลาซีน (Violacein pigment) มีลักษณะเป็นสีม่วง มีโครงสร้างตามรูปที่ 1 [3- (1, 2-dihydro-5-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-oxo-3H-pyrrol-3-ilydene)-1, 3-dihydro-2H-indol-2-one]



รูปที่ 1 โครงสร้างของสารไวโอลาซีน (9)

เม็ดสีชนิดนี้ได้จากการผลิตของเชื้อแบคทีเรียจิ้นัส *Chromobacterium* เป็นหลัก โดยสายพันธุ์ที่มีการศึกษามากที่สุดในการผลิตเม็ดสีไวโอลาซีน คือ *Chromobacterium violaceum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เกิดโคโลนีสีม่วงใน Nutrient agar, MacConkey agar, Blood agar และ Chocolate agar plates ให้ผลบวกในการทดสอบแคตตาเลส (Catalase test) นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์อื่น ๆ ที่สามารถผลิตเม็ดสีได้ ได้แก่ เชื้อ *Janthinobacterium lividum* (*Chromobacterium lividum*) และ *Alteromonas luteoviolacea* ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะแตกต่างกันในเรื่องของปริมาณของสารที่ได้และสภาวะในการผลิตเม็ดสี (10)

1.2. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเม็ดสีไวโอลาซีน (Violacein pigment)

เป็นเม็ดสีที่มีฤทธิ์แรง มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bacillus* และ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่ผิวหนัง จึงเหมาะในการนำมาใช้เป็นสารสำคัญในการเตรียมระบบนำส่งยาทางผิวหนังในรูปแบบระบบกึ่งฟิล์มสำหรับใช้ภายนอก นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์อื่น ๆ ได้แก่ ลดการอักเสบเฉพาะที่ ฤทธิ์ต้านไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการเกิดเนื้องอก และต้านโปรโตซัว เป็นต้น (10)

1.2.1. ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย

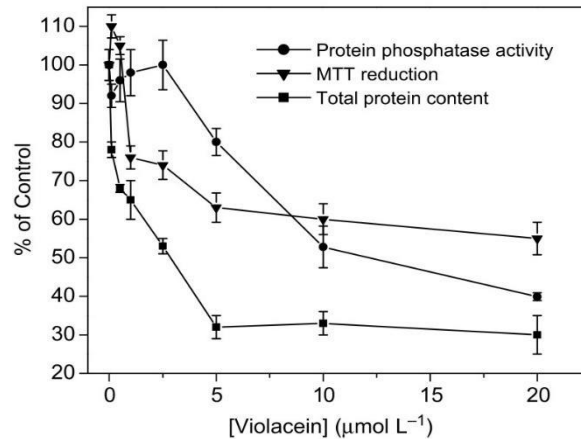
Nakamura Y และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของเม็ดสีสีม่วงที่เป็นสารผสมระหว่างไวโอลาซิน และดีออกซีไวโอลาซินที่ถูกแยกมาจาก *Phycothrophic bacterium* สายพันธุ์ RT102 จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นสูงของเม็ดสีสีม่วงมากกว่า 15 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ รวมถึงทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ โดยในการทดลองได้ศึกษาผลของปัจจัยด้านสภาวะในการบ่มเชื้อ RT102 ได้แก่ pH, อุณหภูมิ และความเข้มข้นของออกซิเจน โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของเม็ดสีม่วงสูงสุดคือ 3.7 กรัม/ลิตร และความสามารถในการผลิตเม็ดสีม่วงสูงสุด คือ 0.12 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่ pH 6 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของออกซิเจน 1 มิลลิกรัม/ลิตร (11)

1.2.2. ฤทธิ์ในการต้านโปรโตซัว และปรสิต

ไวโอลาซินเป็นสารเมตาบอไลต์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการนำไปประยุกต์ได้หลากหลาย ผลิตโดยเชื้อ *Escherichia coli* และเกิดกระบวนการ Diversification โดยเอนไซม์ Bacillus glycosyltransferase (YjiC) ที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วย Glucose, Galactose และ N-acetylglucosamine เป็นหนึ่งในอนุพันธ์ของ Glucose conjugated violacein 5'-O-glucoside ถูกสร้างขึ้นจาก *E. coli* ที่ได้รับการออกแบบมาเพื่อเก็บรวบรวมทั้งกลุ่มของไบโอซินที่สังเคราะห์โดยการสังเคราะห์ของ Violacein (VioABCDE) และ Glycosyltransferase (YjiC) violacein 5'-O-glucoside พบว่ามีฤทธิ์ในการต้าน Nematodal ในไส้เดือนฝอยไม้สน และ *Bursaphelenchus xylophilus* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค Pine wilt disease นอกจากนี้การรวมกันของอนุพันธ์น้ำตาลในไวโอลาซินยังช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ Violacein 5'-O-diglucoside และถูกเก็บรักษาไว้อย่างสมบูรณ์ในส่วนของน้ำในขณะที่โมเลกุลหลักของ Aglycone นั้นไม่ละลายในน้ำอย่างสมบูรณ์ (3)

1.2.3. ฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง

จากกราฟในรูปที่ 2 แสดงให้เห็นถึง Cytotoxicity ของไวโอลาซินในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ หลังทำการบ่ม 24 ชั่วโมง โดยความโค้งของกราฟแสดงให้เห็นการลดลงของ MTT, Total protein content และ Protein phosphatase activity การยับยั้งนั้นแสดงความสัมพันธ์ต่อเซลล์ปกติ 100 % ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่วัดได้หลังจากรักษาเม็ดเลือดขาวด้วยไวโอลาซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในกรณีนี้พบว่าค่า IC_{50} 3 ไมโครโมลต่อลิตร โดยปริมาณโปรตีนจะแสดงให้เห็นถึงปริมาณแมโครโมเลกุลซึ่งจะเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงจำนวนเซลล์ทั้งหมด จึงแสดงให้เห็นว่าการลดลงของการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นผลมาจากการยับยั้งไวโอลาซิน ดังนั้นการลด Cytotoxicity ของไวโอลาซินในเซลล์เม็ดเลือดปกติสัมพันธ์กับเซลล์ลูคีเมีย ($IC_{50} < 1.0$ ไมโครโมลต่อลิตร) จึงมีการแนะนำให้ใช้ไวโอลาซินในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาว (12)



รูปที่ 2 กราฟแสดง Cytotoxicity ของไวโอเลซีนในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ หลังทำการบ่ม 24 ชั่วโมง (12)

1.2.4. ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation)

ภายใต้สภาวะแอโรบิกของกระบวนการการเผาผลาญของสิ่งมีชีวิต จะมีการสร้าง Reactive oxygen และ Nitrogen species ตามปกติ และการเกิดพยาธิสภาพจากโรคต่าง ๆ จะกระตุ้นให้เกิดสภาวะที่ไม่สมดุลในร่างกาย ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่เป็น Reactive oxygen species (ROS), Reactive nitrogen species (RNS) และ Peroxynitrite เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต โดยสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่อสัมผัสกับสารที่เป็นสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อแบคทีเรีย นิวโทรฟิลจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในการทำลายสิ่งแปลกปลอม จึงเกิดการสร้าง Reactive species ดังนั้นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จะช่วยป้องกันสิ่งมีชีวิตไม่ให้ถูก Oxidative stress ทำลาย โดยเอนไซม์หลักของสิ่งมีชีวิตที่มีหน้าที่ป้องกันเซลล์จากการเกิด Oxidative stress คือ Myeloperoxidase (MPO) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป H_2O_2 ซึ่งมีสมบัติเป็น Potent microbicidal oxidant ในการกระตุ้นการทำงานของนิวโทรฟิล แสดงให้เห็นว่า MPO ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระชนิด Tyrosyl ดังนั้นจึงมีการเกิด Phagocyte pathway ในกระบวนการ Lipid peroxidation และ Dityrosine cross-link ของโปรตีน MPO เป็นส่วนประกอบของ Azurophilic granules ที่อยู่ใน Phagolysosome ซึ่งสามารถเกิด Chlorinating activity ที่ดีกว่า Peroxidative activity ปกติ และต่างจาก Peroxidase อื่น ๆ โดย Marker หลักในการเกิด Oxidative stress คือ การสร้าง ROS และ RNS โดยเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเป็นหนึ่งในเป้าหมายสำคัญของ ROS และ RNS ที่จะเหนี่ยวนำให้เกิด Lipid peroxidation (LPO) ที่ Membrane phospholipids และในระดับเซลล์ Reactive species มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ ความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์, Enzyme activity และการตายของเซลล์ ซึ่งจากตัวอย่างงานวิจัยของ Marlon konzen และคณะ ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอ

ลาซีน ด้วยวิธีการทดสอบ DPPH assay พบว่าสารสกัดไวโอลาซีน มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็น Oxygen และ Nitrogen reactive species ได้แก่ Hydroxyl (\bullet OH), Superoxide ($O\bullet^{-2}$), nitric oxide ($NO\bullet$), DPPH radical โดยยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ Peroxynitrite ($ONOO^{-}$), Ascorbyl ($Asc\bullet$) และ MPO activity นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าไวโอลาซีน สามารถจับกับ Liposome ได้ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (13)

1.3. การแยกแบคทีเรียจากตัวอย่าง การสกัดเม็ดสี และเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเม็ดสีจากแบคทีเรีย

จากตัวอย่างงานวิจัยของ Vishnu T และคณะ (10) มีการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่การเกษตรและจากแหล่งน้ำต่าง ๆ และทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Chromobacterium* โดยการนำตัวอย่างดินมาเจือจางด้วย Normal saline solution (0.9% NaCl) นำไปเพาะในจานเลี้ยงเชื้อที่มี Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 43 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่มีสีม่วงเพื่อทำการ Streak แยกแบคทีเรียออกมาบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการ Subculture ทุก 4 สัปดาห์ สำหรับการผลิต และการสกัดเม็ดสีทำการเพาะเชื้อในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มี Nutrient broth 200 มิลลิลิตร ทำการหมัก (Fermentation) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ด้วยหัวเชื้อเข้มข้น 3% w/w หลังจากครบ 48 ชั่วโมง จึงนำ Broth มาทำการสกัดเอาเม็ดสี โดยใช้ Ethanol 99.7% และใช้ UV-spectrophotometer เพื่อการดูค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล (10)

แบคทีเรียที่มีแหล่งที่มาต่างกัน สามารถนำมาเพาะเลี้ยงและทำให้บริสุทธิ์ได้ ซึ่งการใช้ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันนั้นจะทำให้สามารถแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่จะสร้างเม็ดสีได้อย่างไรก็ตามอาหารในการเลี้ยงเชื่อนั้นมีราคาสูง ดังนั้นจึงต้องหาแนวทางพัฒนากระบวนการสำหรับการผลิตเม็ดสีจากแบคทีเรียเพื่อให้มีต้นทุนในการผลิตถูกลง ซึ่งการสกัดเม็ดสีจากแบคทีเรียสามารถทำได้โดยใช้การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction) อาจมีการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ต่าง ๆ ด้วย เช่น TLC, UV-vis, FTIR, ES-MS, NMR, HPLC และ Gel Permeation Chromatography ซึ่งการที่จะสกัดเม็ดสีออกมาให้ได้ความเข้มข้นที่เพียงพอและมีความบริสุทธิ์นั้นยังคงเป็นความท้าทายในด้านเทคโนโลยี โดยเม็ดสีที่ได้จากแบคทีเรานั้นจะได้จากสองส่วนคือ 1. จากการรวบรวมไมซีเลีย (Mycelia) ของเชื้อโดยการกรองด้วยอะซิโตน หรือ 2. จากบรอตที่เป็นของเหลวที่ได้จากกระบวนการหมักของเชื้อโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvents) ในการสกัด เช่น เอทิล อะซีเตท ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงอาจใช้วิธีปั่นแห้ง หรือ Solid-phase extraction เพื่อใช้ลดปัญหานี้ (14)

2. เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบนผิวหนัง

2.1. *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียรูปร่างทรงกลม ไม่เคลื่อนที่เป็น Facultative Anaerobe Bacteria มีทั้ง Oxidative และ Fermentative Metabolism ทดสอบแคทตาเลส (Catalase) ให้ผลบวก เชื้อที่ขึ้นบนอาหารในสภาวะที่เหมาะสมจะให้โคโลนีสีขาวจนถึงสีทอง เป็นเชื้อที่พบได้บ่อยที่สุดซึ่งเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน การติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน *S. aureus* มักเริ่มเป็นฝีเย็บหรือฝีเล็กน้อยและอาจพัฒนาไปสู่การติดเชื้อรุนแรงที่เกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อหรือกระดูกและอาจแพร่กระจายไปยังปอดหรือลิ้นหัวใจ เช่น เยื่อหูหัวใจอักเสบ (15)

2.2. *Staphylococcus epidermidis*

เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe Bacteria) แต่ยังเจริญเติบโตได้ดีภายใต้สภาวะ Aerobe โดยสภาวะการเพาะเชื้อ *S. epidermidis* นั้นคล้ายคลึงกับ *S. aureus* แต่ *S. epidermidis* จะเติบโตเข้าถึงปานกลางด้วย NaCl เข้มข้น 10% *S. epidermidis* ส่วนใหญ่มีโคโลนีบนผิวหนังมนุษย์และเป็นปัญหาด้านสุขภาพในมนุษย์ เนื่องจากการติดเชื้อที่ได้มาจากโรงพยาบาล มักถูกตรวจพบในน้ำลายและคราบหินปูน และเชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์, เยื่อหุ้มสมองอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง, เยื่อหุ้มปอดอักเสบ, เยื่อหูช่องท้องอักเสบ โดย *S. epidermidis* มีความไวต่อยา Novobiocin (16)

3. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับการสมานแผล

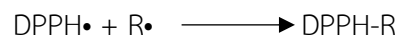
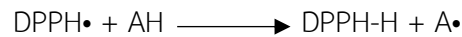
กระบวนการการสมานแผลจะเกิดขึ้นภายใต้การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ต้องอาศัยสมดุลระหว่าง Oxidative stress กับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยทั่วไปลักษณะทางกายภาพของกระบวนการสมานแผล จะมีระดับของ Reactive oxygen species และ Oxidative stress ลดลง ซึ่งการสัมผัส Oxidative stress มากเกินไปจะทำให้กระบวนการการสมานแผลเกิดความบกพร่อง และสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ในการควบคุม Oxidative stress ของบาดแผล และช่วยเร่งการสมานแผลได้ดียิ่งขึ้น จากตัวอย่างการศึกษาของ Rashd. M. El-Ferjani และคณะ ที่ทำการศึกษ้อัตราการเกิดการสมานแผลของหนูที่รักษาด้วย Co (II) complex (CMLA) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระใน Acacia gum พบว่าการใช้ CMLA สามารถทำให้เนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลเกิดการเชื่อมติดกันได้ โดยฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้ระดับ Mondialdehyde (MDA) ลดลง และเพิ่มระดับ Glutathione peroxidase (GPx) และ Superoxide dismutase (SOD) อนุมูลอิสระ และ Reactive oxygen species (ROS) เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยร่างกายมนุษย์และแสดงให้เห็นถึงการบาดเจ็บของเซลล์ สารที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งภายในและภายนอกเซลล์ จึงมีความสำคัญในการปกป้องเซลล์ไม่ให้บาดเจ็บจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดย SOD จะเปลี่ยน Hydrogen

peroxide (H₂O₂) ไปเป็นน้ำโดยเอนไซม์ Catalase ในไลโซโซมหรือ Glutathione peroxidase (GPx) ในไมโทคอนเดรีย การทำให้เกิดการสมานแผลด้วย Gum acacia แสดงให้เห็นว่าการที่ SOD และ GPx ทำงานลดลงจะทำให้การสร้าง ROS เพิ่มขึ้น ซึ่ง CMLA จะช่วยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์นี้จึงทำให้การสมานแผลเกิดได้ดียิ่งขึ้น (17)

3.1. วิธีการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation)

3.1.1. DPPH assay [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl]

เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็น stable radical ในตัวทำละลาย Ethanol ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 nm ถ้าสารมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จะทำให้ความเข้มของสารละลายสีม่วงลดลง โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้



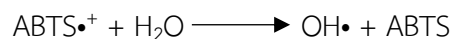
ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า IC₅₀ คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ซึ่งได้จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ของ %Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{violacein}}) / (A_{\text{DPPH}} - A_{\text{reference}})] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ เป็นวิธีที่มีความสะดวกรวดเร็ว วิเคราะห์ผลได้ง่าย ทำซ้ำได้ แต่วัดในตัวอย่งที่เป็นเลือดไม่ได้ เพราะต้องวัดในสารละลายที่เป็น Ethanol ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอน

3.1.2. ABTS assay [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6- sulfonic acid)]

เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) เป็น Stable radical ในตัวทำละลาย Ethanol ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีน้ำเงินเขียวเข้ม มีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด 734 นาโนเมตร การทำให้เกิด ABTS cation radical ได้แก่ การใช้ Enzyme reaction คือ การใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS cation radical เช่น Peroxidase, Myoglobin หรือการใช้ Chemical reaction โดยใช้สารเคมี เช่น Manganese dioxide, Potassium persulfate, 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane) (ABAP) เป็นต้น โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังนี้



ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า IC₅₀ คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ซึ่งได้จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ของ %Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{ABTS}} - A_{\text{violacein}}) / (A_{\text{ABTS}} - A_{\text{reference}})] \times 100$$

3.2. สารมาตรฐานที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

3.2.1. Butylate hydroxytoluene (BHT) และ Butylate hydroxyanisole (BHA)

เป็นสารสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี ถูกใช้เป็นสารมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหาร เคมีพอลิเมอร์ น้ำมัน และปิโตรเคมี

3.2.2. วิตามินซี (Vitamin C หรือ Ascorbic acid)

เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดี มีกลไกการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยให้อิเล็กตรอนอิสระบนโครงสร้างไปยังโมเลกุลของอนุมูลอิสระ เพื่อทำลายและลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระที่จะไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์ นิยมใช้เป็นสารมาตรฐานในการวัดปริมาณสารอนุมูลอิสระ ในสารสกัดสมุนไพร

3.2.3. กรดแกลลิก (Gallic acid)

เป็นสารกลุ่ม Polyphenol ด้วยโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ภายในโมเลกุลสามารถให้อิเล็กตรอน กับโมเลกุลอื่นได้ดี ด้วยกลไกที่เหมือนกับวิตามินซี ละลายน้ำได้ง่าย เป็นต้น (18)

4. เกสซ์ภัณฑ์ใช้ภายนอกสำหรับโรคผิวหนังจากการติดเชื้อ

4.1. ยาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็ง (Semisolids)

ยากึ่งแข็งที่ใช้ภายนอกมีหลากหลายรูปแบบ ได้แก่ ครีม (Creams) เจล (Gels) ขี้ผึ้ง (Ointments) และเพสต์ (Pastes) ซึ่งตำรับยากึ่งแข็งจะประกอบไปด้วยตัวยาคำคัญอย่างน้อยหนึ่งตัวที่ถูกละลาย หรือถูกทำให้กระจายในยาพื้น (Base) ที่เหมาะสม และประกอบไปด้วยสารช่วยอื่นๆ โดยยาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็ง (Semisolids) มีข้อดีคือ เป็นรูปแบบที่ใช้ภายนอก ลดโอกาสการเกิดอาการข้างเคียงจากการใช้ยา สามารถออกฤทธิ์เฉพาะที่ และหลีกเลี่ยงการถูกทำลายที่ตับ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย และเกิดปัญหาในการหยุดใช้ยาได้น้อยกว่ายาแบบอื่น ส่วนข้อเสียคือ ยาพื้น (Base) สำหรับยาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็งสามารถถูกออกซิไดซ์ (Oxidized) ได้ง่าย ไม่มีความแม่นยำของปริมาณยาในการใช้ยาแต่ละครั้ง และการทายาเตรียมรูปแบบกึ่งของแข็งอาจทำให้รบกวนการใช้ชีวิตประจำวัน เช่น เลอะเสื้อผ้า และยังหลุดออกจากบริเวณที่ทายาได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับเสื้อผ้าหรือสิ่งอื่น (6)

4.2. แผ่นแปะผิวหนัง (Patches)

แผ่นแปะผิวหนังเป็นระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนังและเข้าสู่กระแสเลือด มีข้อดีคือ ไม่เจ็บปวดจากการทำลายเนื้อเยื่อของร่างกาย เหมาะกับยาที่จะถูกกรดในกระเพาะทำลายได้ง่าย ยาที่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารได้ไม่ดี และยาที่ถูกทำลายโดยตับ เป็นทางเลือกของผู้ป่วยที่รับประทานยาไม่ได้ นำส่งยาได้เป็นระยะเวลาสั้น ส่วนข้อเสียคือ ไม่สามารถนำส่งยาที่มีประจุ (Ionic drug) ไม่

สามารถนำส่งยาที่เป็นโมเลกุลใหญ่ ไม่สามารถนำส่งยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์แบบเป็นช่วง ๆ (Pulsatile) และไม่สามารถทำให้ระดับยาในเลือดอยู่ในระดับการออกฤทธิ์สูงสุดได้ (7)

4.3. ยารูปแบบก๊อฟิล์ม (Liquid bandage)

ระบบก๊อฟิล์ม (Film forming system/FFS) เป็นตำรับที่ไม่ใช่ของแข็งที่ก๊อฟิล์มหลังจากใช้บน ผิวหนังหรือพื้นผิวอื่นของร่างกาย ซึ่งประกอบด้วยตัวยาและสารก๊อฟิล์มในน้ำกระสายยา ข้อดีคือเมื่อใช้บนผิวหนัง แล้วตัวทำละลายจะระเหย เหลือฟิล์มที่มียาเกาะอยู่บนผิว การก๊อฟิล์มสามารถเป็นได้ทั้งพอลิเมอร์ของแข็งที่ค่อยๆ ล่อยยาออกมา และเป็นฟิล์มของเหลวที่ซึมเข้า Stratum corneum อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังไม่เหนอะหนะ ยึดหยุ่นได้ดี และลอกออกได้ง่าย (8)

5. ระบบก๊อฟิล์ม (Film forming system)

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของร่างกายคิดเป็นสัดส่วนมากกว่า 10% ของมวลกายและมีหน้าที่ป้องกันไม่ให้อวัยวะภายในร่างกายถูกทำลายจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น สารเคมี แบคทีเรีย สารก่อภูมิแพ้ เชื้อรา และรังสี นอกจากนี้ผิวหนังยังเป็นอวัยวะสำคัญในการรักษาภาวะสมดุลของร่างกายโดยการควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นในร่างกายให้เป็นปกติ (19) ผิวหนังถือเป็นบริเวณสำคัญในการบริหารยาทั้งแบบออกฤทธิ์เฉพาะที่และแบบออกฤทธิ์ทั่วร่างกายโดยประสิทธิภาพของการรักษาแบบเฉพาะที่นั้นขึ้นอยู่กับสมบัติทางเคมีกายภาพของยา และความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย นอกจากนี้ยังขึ้นกับความสามารถในการเกาะติดผิวหนัง และความสามารถของยาในการซึมผ่านชั้นผิวหนังอีกด้วย

สำหรับการรักษาโรคทางผิวหนัง และการรักษาบาดแผลนั้นยาที่ใช้ในการรักษาควรอยู่บริเวณที่ต้องการ และมีระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษา จึงมีการพัฒนาระบบนำส่งยาทางผิวหนังรูปแบบใหม่ที่เรียกว่า ระบบก๊อฟิล์ม (Film forming system) โดยระบบก๊อฟิล์มเพื่อนำส่งยาเฉพาะที่ (Topical film forming system) จะเป็นการพัฒนาระบบนำส่งยาทางผิวหนังซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะผิวหนังได้ดี และก๊อเป็นแผ่นฟิล์มโปร่งใส และบางเมื่อตัวทำละลายระเหยออก ซึ่งมีข้อดีในการทำให้ผู้ป่วยเกิดการยอมรับ และเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยมากขึ้นจึงส่งผลดีต่อประสิทธิภาพในการรักษา (8) โดยระบบก๊อฟิล์มที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ เกิดฟิล์มใสบางอย่างรวดเร็ว ไม่เหนอะหนะ ยึดหยุ่นได้ ลอกออกได้ง่าย ติดผิวดี และไม่เลอะเสื้อผ้า

เมื่อใช้ระบบก๊อฟิล์มทาหรือสเปรย์ที่ผิวหนัง ตัวทำละลายหรือน้ำกระสายยาจะระเหยออกจากตำรับ และเกิดการก๊อฟิล์มขึ้นบนผิว ในกระบวนการนี้ความเข้มข้นของยาบนผิวหนังจะเพิ่มขึ้นจนถึงระดับอิ่มตัว และอาจเพิ่มขึ้นจนถึงระดับอิ่มตัวยิ่งยวด โดยที่ระดับความเข้มข้นอิ่มตัวยิ่งยวดมีผลเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของยาเนื่องจากอุณหพลศาสตร์ขึ้น ไม่ได้มีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของผิว ทำให้ลดผลข้างเคียง และการระคายเคือง ซึ่งหลักการอิ่มตัวยิ่งยวดสามารถอธิบายได้โดย Fick's law of diffusion ดังสมการที่ 1

$$J = \frac{DKCv}{h} \quad (1)$$

เมื่อ J คือ อัตราการซึมผ่านของยาต่อพื้นที่ผิวต่อเวลา

D คือ สัมประสิทธิ์การแพร่ของยา

Cv คือ ความเข้มข้นของยา

H คือ ความหนาของผิวที่แพร่ผ่าน

จากสมการแสดงให้เห็นว่าอัตราการซึมผ่านของยาเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของยา ซึ่งสมการนี้จะใช้ได้ต่อเมื่อยาทั้งหมดละลายอยู่ในตัวทำละลายหรือน้ำกระสายยา

5.1. ตำรับกึ่งฟิล์ม

5.1.1. สเปรย์/สารละลายใส (Sprays/Solutions)

ในตำรับมีองค์ประกอบหลัก 4 องค์ประกอบ คือ ตัวยา ตัวทำละลาย พอลิเมอร์ และสารเพิ่มการซึมเข้าผิว ซึ่งจะมีตัวทำละลายส่วนที่ไม่ระเหยเพื่อป้องกันการตกตะกอนของยาเมื่อตัวทำละลายที่ระเหยได้ระเหยออกไป โดยตัวทำละลายที่ไม่ระเหยจะต้องซึมเข้า Stratum corneum อย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้ยาซึมเข้าผิวหนังได้มากขึ้น และควรเลือกพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านการก่อผลึก (Anti-nucleating agents) และต้านการตกผลึก (Crystallization inhibitors) เพื่อป้องกันการเกิดผลึกหลังตัวทำละลายระเหยไป เช่น Polyvinyl pyrrolidone, Polyethylene glycol, Hydroxyl propyl methyl cellulose

การเตรียมตำรับทำได้โดยละลายพอลิเมอร์ลงในตัวทำละลายที่เหมาะสม คนจนพอลิเมอร์ละลายสมบูรณ์ จากนั้นเติมสารช่วยอื่น เช่น พลาสติกไซเซอร์ และคนผสมต่ออีก 24 ชั่วโมง

5.1.2. เจล (Gels)

เป็นรูปแบบกึ่งของแข็งที่มีองค์ประกอบทั้งของแข็งและของเหลว โดยองค์ประกอบที่เป็นของเหลวเป็นได้ทั้งขบน้ำ และไม่ขบน้ำ และใช้พอลิเมอร์เป็นสารก่อฟิล์ม หรือสารก่อเจล โดยเมื่อทาลงบนผิวจะก่อเป็นฟิล์มบางเกาะบนผิว ซึ่งฟิล์มจะทำหน้าที่เป็นแหล่งกักเก็บยา ทำให้ควบคุมการปลดปล่อยได้

ตำรับควรมีความยืดหยุ่นสูงเพื่อให้ปรับตามการเคลื่อนไหวของผิวได้ ฟิล์มมีความแข็งแรงเกาะติดผิวเพื่อให้การขนส่ง และการดูดซึมคงที่ โดยในตำรับจะประกอบด้วย สารก่อฟิล์ม หรือสารก่อเจล พลาสติกไซเซอร์ สารกันเสีย ฯลฯ และเมื่อเปรียบเทียบกับระบบกึ่งฟิล์มรูปแบบอื่น เจลจะทาง่ายกว่า เกาะติดผิวดี มีความยืดหยุ่น และผลิตง่าย

5.1.3. อิมัลชัน (Emulsions)

เป็นตำรับกึ่งของแข็งที่สามารถบรรจุได้ทั้งยาที่มีคุณสมบัติขบไขมัน และขบน้ำ ตำรับประกอบด้วยวัฏภาคน้ำกับวัฏภาคน้ำมันโดยใส่สารก่ออิมัลชันที่เหมาะสมเพื่อความคงตัวของตำรับ และพอลิเมอร์ก่อฟิล์มอิมัลชันอาจแบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ แบบน้ำมันในน้ำ (o/w) และแบบน้ำ

ในน้ำมัน (o/w) ซึ่งชนิดของอิมัลชันขึ้นกับชนิดของสารก่ออิมัลชัน เช่น สารลดแรงตึงผิว พอลิเมอร์ โปรตีน (เจลาติน) เบนโทไนท์ โดยพิจารณาจากสมบัติความชอบน้ำ หรือชอบไขมัน จากค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) โดยที่ HLB มากคือชอบน้ำมาก เมื่อใช้ตำรับที่ผิวหนึ่ง องค์ประกอบที่ระเหยได้จะระเหย และทำให้เนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนแปลง และดูดซึมยาได้ ซึ่งอิมัลชัน มีข้อดีที่เหนือกว่าตำรับกึ่งแข็งอื่นคือ ออกฤทธิ์ในบริเวณกว้าง เวลาในการเกาะผิวมาก มีความคงทน จึงเหมาะแก่การรักษาโรคเรื้อรัง การนำส่งยาผ่านผิวหนึ่งขึ้นกับสมบัติของตัวยาสำคัญ และชนิดของ อิมัลชัน

5.2. องค์ประกอบของระบบก่อกฟิล์ม

5.2.1. ยา หรือสารสำคัญ

ยา หรือสารสำคัญควรมีความแรงสูง ซึมเข้าผิวได้เร็ว ไม่ทำให้ผิวระคายเคือง และไม่ถูกทำลายโดยเอนไซม์ในชั้น Epidermis สมบัติในอุดมคติของยา หรือสารสำคัญในการบริหารทาง ผิวหนัง แสดงในตารางที่ 1 และตัวอย่างยาหรือสารสำคัญที่ใช้ในตำรับก่อกฟิล์ม แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 สมบัติในอุดมคติของยาหรือสารสำคัญในการบริหารทางผิวหนัง

พารามิเตอร์	สมบัติ
ขนาดยา	น้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อวัน
ค่าครึ่งชีวิต	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 ชั่วโมง
น้ำหนักโมเลกุล	น้อยกว่า 500 เดลตัน
สัมประสิทธิ์การกระจาย (log P)	1-3
ผลต่อผิว	ไม่ทำให้ระคายเคือง, ไม่ทำให้แพ้
ค่าชีวประสิทธิผลโดยการบริหารยาทางปาก	ต่ำ

ตารางที่ 2 ตัวอย่างยาที่ใช้ในตำรับ Film-forming system

ยา	ข้อบ่งใช้
Fluconazole	รักษาการติดเชื้อราที่ผิวหนัง (20)
Voriconazole	รักษาการติดเชื้อราที่ผิวหนัง (21)
Testosterone (Axiron®)	ฮอร์โมนทดแทนในผู้ป่วยชายที่ขาด Testosterone (Primary hypogonadism, Hypogonadotropic hypogonadism) (22)
Terbinafine (Lamisil Once®)	รักษาการติดเชื้อราที่เท้า (Athlete's foot) (22)
Lidocaine	ยาชาเฉพาะที่ (22)
Tetracaine	ยาชาเฉพาะที่ (22)

ยา	ข้อบ่งใช้
Ropivacaine	บรรเทาอาการปวด (23)
Ketorolac	บรรเทาอาการปวด (8)
Estradiol	รักษาอาการที่เกิดจากการขาด Estrogen ในหญิงวัยหมดประจำเดือน (8)
Rotigotine	รักษาโรค Parkinson (8)
Tolterodine	รักษาอาการกระเพาะปัสสาวะบีบตัวมากเกินไป (8)
Nonivamide	บรรเทาอาการปวด (8)
5-Fluorouracil (Actikerall®)	รักษาโรค Hyperkeratotic actinic keratosis (24)
Diclofenac	บรรเทาอาการปวด (24)
Econazole	รักษาการติดเชื้อราที่ผิวหนัง (25)
Sodium fusidate	รักษาแผล (26)

5.2.2. สารก่อฟิล์ม

ควรใช้พอลิเมอร์ที่ทำให้เกิดฟิล์มที่ผิวหนังได้ที่อุณหภูมิห้อง ฟิล์มที่ได้ควรมีลักษณะใส และยืดหยุ่นได้ อาจใช้พอลิเมอร์เพียงหนึ่งตัว หรือใช้ร่วมกับพอลิเมอร์อื่นได้ ตัวอย่างชนิด และสมบัติของพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในการเตรียมระบบก่อฟิล์มแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สมบัติของพอลิเมอร์

พอลิเมอร์	สมบัติ
Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) (27)	<ul style="list-style-type: none"> ● ฟิล์มสีอ่อน ไม่มัน มีเนื้อสัมผัสที่ดี ● ไม่เกิดอันตรกิริยากับสารอื่น ● ช่วยให้อาตุดูดซับน้ำได้ ทำให้อาตุกระจายตัวง่าย ลื่น ให้ความรู้สึกสบายเมื่อทาลงบนผิว (28)
Ethyl cellulose (EC)	<ul style="list-style-type: none"> ● ไม่เป็นพิษ ไม่ทำให้ระคายเคือง ไม่ทำให้แพ้ ● ฟิล์มมีสมบัติที่ดี (29)
Hydroxypropyl cellulose	<ul style="list-style-type: none"> ● ไม่มีประจุ ไม่ไวต่อ pH ● ละลายในน้ำ (30)
Polyvinyl pyrrolidone (PVP)	<ul style="list-style-type: none"> ● ละลายในน้ำ

พอลิเมอร์	สมบัติ
	<ul style="list-style-type: none"> ● มีสมบัติในการเกาะติด ● เพิ่มชีวประสิทธิผล (31)
Polyvinyl alcohol (PVA)	<ul style="list-style-type: none"> ● ละลายในน้ำ ● ก่อฟิล์มได้ดี มีสมบัติในการเกาะติด ● ไม่เป็นพิษ และเข้ากันทางชีวภาพ (32)
Chitosan	<ul style="list-style-type: none"> ● ก่อฟิล์มได้ดี ● เปิด Tight junction ของเยื่อเมือก ทำให้อาซึมเข้าผิวได้ดีขึ้น (33) ● ควบคุมการปลดปล่อยยาได้ (34)
Eudragit [®] (Polymethacrylates copolymer)	<ul style="list-style-type: none"> ● ใส, ยืดหยุ่น ● เกาะผิวดี (35)
Silicones Polydimethylsiloxane (PDMS)	<ul style="list-style-type: none"> ● ใอน้ำระเหยผ่านฟิล์มได้ ● ฟิล์มมีความคงทน (36)
Acrylates copolymer	<ul style="list-style-type: none"> ● ระบายอากาศได้ ● ทนต่อรอยขีดข่วน (37)

5.2.2.1. พอลิเมอร์กลุ่ม Polymethacrylate

5.2.2.1.1. Eudragit[®] E100

มีลักษณะเป็นเม็ดแกรนูล น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 98% ละลายใน Acetone, Alcohols และสารละลาย pH < 5 ได้เป็นสารละลายใส Ranade S และคณะ (23) ได้ศึกษาการเตรียมตำรับ Topical metered dose film forming sprays เพื่อบรรเทาอาการปวด โดยใช้ Eudragit[®] E 100 ความเข้มข้น 5% เป็นสารก่อฟิล์มและใช้ตัวทำละลาย Ethanol: Isopropyl alcohol (1: 1) บรรจุยา Ropivacaine เพื่อบรรเทาอาการปวด จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะเงางาม, โปร่งใส และกันน้ำได้

5.2.2.1.2. Eudragit[®] E PO

มีลักษณะเป็นผง น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 98% ละลายใน Acetone, Alcohols และสารละลาย pH < 5 ได้เป็นสารละลายใส Ranade S และคณะ (23) ได้ศึกษาการเตรียมตำรับ Topical metered dose film forming sprays เพื่อบรรเทาอาการปวด โดยใช้ Eudragit[®] E PO ความเข้มข้น 5% เป็นสารก่อฟิล์มและใช้ตัวทำละลาย Ethanol: Isopropyl alcohol (1: 1) บรรจุยา

Ropivacaine เพื่อบรรเทาอาการปวด จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะเงางาม, โปร่งใส และกันน้ำได้

5.2.2.1.3. Eudragit® S 100

มีลักษณะเป็นผง น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 95% ละลายใน Acetone, Alcohols ซึ่งละลายในสารละลาย pH > 7 และเป็นสารละลายใส ทำหน้าที่เป็นสารก่อฟิล์ม ในงานวิจัย Fabrication of topical metered dose film forming sprays for pain management ใช้ Eudragit® S 100 จำนวน 5% ของปริมาณสารในตำรับ ถูกทำละลายด้วย Ethanol: Isopropyl alcohol (1: 1) ใช้ในการก่อฟิล์มที่มีการออกแบบเป็น Topical film-forming metered dose spray ของยา Ropivacaine เพื่อบรรเทาอาการปวด มีลักษณะเงางาม โปร่งใสชัดเจน ทำให้ได้ลักษณะสเปรย์ฟิล์มใสหลังการใช้งานหนึ่งในเวลาน้อยกว่าหนึ่งนาที และสามารถล้างทำความสะอาดได้ด้วยน้ำ (23)

5.2.2.1.4. Eudragit® RL 100

มีลักษณะเป็นเม็ดแกรนูล น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 97% ละลายใน Acetone และ Alcohols สารละลายที่ได้มีลักษณะเป็นสารละลายใส ไทลด์ได้ และมีความหนืดต่ำ Šveikauskaitė I และคณะ (38) ได้ศึกษาการเตรียมตำรับ Nail Lacquers โดยใช้ Eudragit® RL 100 ความเข้มข้น 15% เป็นสารก่อฟิล์มและใช้ตัวทำละลาย Ethanol (96%) : Ethyl acetate: Butyl acetate (1: 1: 1) บรรจุนยา Naftifine Hydrochloride เพื่อฆ่าเชื้อรา จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะใส และแห้งเร็ว (38)

5.2.2.1.5. Eudragit® RS 100

มีลักษณะเป็นเม็ดแกรนูล น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 97% ละลายใน Acetone, Alcohols และสารละลาย pH 5-7 ได้เป็นสารละลายใส ยืดเกาะดี และมีความยืดหยุ่น Gohel MC และคณะ (20) ได้ศึกษาการเตรียมตำรับ Transdermal Spray โดยใช้ Eudragit® RS 100 ความเข้มข้น 10.6% ร่วมกับ Ethyl Cellulose เป็นสารก่อฟิล์ม และใช้ตัวทำละลาย Camphor: Menthol (1: 1) บรรจุนยา Fluconazole เพื่อฆ่าเชื้อรา จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะ ยืดเกาะ ผิวหนังดี และมีความยืดหยุ่น

5.2.2.1.6. Eudragit® RS PO

มีลักษณะเป็นผง น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 97% ละลายใน Acetone และ Alcohols ได้เป็นสารละลายใส ไทลด์เล็กน้อย และมีความหนืดต่ำ Frederiksen K และคณะ (39) ได้ศึกษาการเตรียมตำรับ Topical, polymeric film-forming systems for sustained drug delivery โดยใช้ Eudragit® RS PO ความเข้มข้น 15% ร่วมกับ Eudragit® NE 30D เป็นสารก่อฟิล์ม

และใช้ตัวทำละลาย Ethanol เพื่อนำส่งยาออกฤทธิ์เนิ่นที่ผิวหนัง จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะใส

5.2.2.1.7. Eudragit® NE 30D

มีรูปแบบพองตัวในน้ำ น้ำหนักแห้งของพอลิเมอร์เท่ากับ 30% ละลายในน้ำ ได้เป็นสารละลายใส และมีความหนืดต่ำ ทำหน้าที่เป็นสารก่อฟิล์ม และยาทาออกฤทธิ์เนิ่น ในงานวิจัย Formulation considerations in the design of topical, polymeric film-forming systems for sustained drug delivery to the skin ใช้ Eudragit® NE 30D จำนวน 7.5% ของปริมาณสารในตำรับ ร่วมกับ Eudragit® RS PO ถูกทำละลายด้วยน้ำ ใช้ในการก่อฟิล์มสำหรับนำส่งยาทาออกฤทธิ์เนิ่นที่ผิวหนัง และ Eudragit® NE 30D มีลักษณะเป็นสารละลายใส และมีความหนืดต่ำ (39)

5.2.3. ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายเป็นองค์ประกอบสำคัญในตำรับที่มีหน้าที่ช่วยละลายตัวยา และมีผลต่อการซึมเข้าผิวของยา โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมระบบก่อฟิล์ม ดังแสดงในตารางที่ 4 (40)

ตารางที่ 4 ตัวทำละลายที่นิยมใช้

ประเภทตัวทำละลาย	ตัวอย่างตัวทำละลาย
Glycols	<ul style="list-style-type: none"> ● Propylene glycols ● Polyethylene glycols
Alcohols	<ul style="list-style-type: none"> ● Ethanol ● Butanol ● Isopropanol ● Benzyl alcohol ● Lanolin alcohols ● Fatty alcohols
ตัวทำละลายอื่น	<ul style="list-style-type: none"> ● Ethyl acetate ● Oleic acid ● Isopropyl myristate

5.2.4. พลาสติไซเซอร์ (Plasticizers)

พลาสติไซเซอร์มีผลช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ฟิล์ม เพิ่มความต้านทานแรงดึงของฟิล์ม โดยพลาสติไซเซอร์ที่ใช้ต้องเข้ากันได้กับพอลิเมอร์ และซึมเข้าผิวดำ ซึ่งพลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้คือ

Glycerine, Polyethylene glycol, Sorbitol, Dibutyl phthalate, Propylene glycol, Triethyl citrate

5.3. การประเมินระบบก้อฟิล์ม

5.3.1. การก้อฟิล์ม (Film formation)

ประเมินจากการก้อฟิล์ม และอัตราการก้อฟิล์มในงานเพาะเชื้อ หรือบนหนูหมู โดยดูว่าฟิล์มมีความสมบูรณ์เป็นเนื้อเดียวกันหรือไม่ เกิดการตกตะกอนของพอลิเมอร์หรือไม่ รวมถึงลักษณะของฟิล์ม ได้แก่ ความใส ความเรียบ ความเหนียวเหนอะหนะ และความสามารถในการลอกออก เป็นต้น (8, 39)

5.3.2. ความยืดหยุ่นของฟิล์ม (Film flexibility)

ประเมินจากการเกิดรอยแตกบนฟิล์ม และการเกิดรอยแตกของฟิล์มบนผิวหนัง หลังเหยียดผิวใน 2-3 ทิศทาง (8, 39)

5.3.3. เวลาที่ทำแห้ง (Drying time)

ประเมินโดยการทดลองบนผิวหนังบริเวณหน้าแขน หลังจากนั้น 2 นาทีนำกระจกสไลด์มาวางบนฟิล์มโดยไม่ต้องกด หากไม่มีของเหลวติดกระจก แสดงว่าฟิล์มแห้งแล้ว หากมีของเหลวติดให้ทำซ้ำจนกว่าฟิล์มจะแห้งสมบูรณ์ และบันทึกเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้ง ระบบก้อฟิล์มที่ดีควรใช้เวลาในการทำแห้งน้อย (41)

5.3.4. ความเหนอะหนะ (Stickiness)

ประเมินโดยการนำไม้พันสำลีมากดเบาๆลงบนฟิล์มที่แห้งแล้ว ถ้ามีสำลีติดบนฟิล์มแสดงว่าฟิล์มมีความเหนอะหนะสูง (42)

5.3.5. สมบัติเชิงกล (Mechanical properties)

ประเมินโดยนำตำรับพอลิเมอร์ก้อฟิล์มไปประเหยตัวทำละลายออกบนแผ่นเทฟลอน จากนั้นตัดฟิล์มที่แห้งด้วยมีดผ่าตัด วัดความหนาของฟิล์มโดยไมโครมิเตอร์แบบดิจิตัล แล้วนำไปประเมินด้วยเครื่องทดสอบแรงดึง โดยความต้านทานแรงดึงคำนวณจากสมการที่ 2 (41)

$$\sigma = \frac{F_{\max} (N)}{A (N/M^2)} \quad (2)$$

เมื่อ F_{\max} คือ แรงสูงสุด

A คือ พื้นที่ตัดขวาง

5.3.6. การยอมใ้ไอน้ำซึมผ่าน (Water vapor permeability)

ประเมินจากปริมาณน้ำที่ซึมผ่านฟิล์มในหนึ่งหน่วยพื้นที่ต่อหนึ่งหน่วยเวลา การยอมใ้ไอน้ำซึมผ่านเป็นลักษณะที่สำคัญของฟิล์ม เนื่องจากผลต่อการสูญเสียน้ำของผิวหนังชั้น Stratum corneum การไหลเวียนของเลือด และอุณหภูมิที่ผิว การประเมินทำได้โดยนำตำรับพอลิเมอร์ก้อฟิล์มไปประเหยตัวทำละลายออกบนแผ่นเทฟลอน ทิ้งใ้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นตัด

เป็นแผ่นกลม และนำไปปิดปากขวดแก้วไวอัลที่บรรจุน้ำกลั่น ปิดทับด้วยวงแหวนซิลิโคน ปิดผนึกให้แน่นด้วยฝาอะลูมิเนียม และนำไปซังน้ำหนัก จากนั้นนำไปเก็บใน Desiccator ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 58% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำออกซังน้ำหนัก การยอมให้ไอน้ำซึมผ่านสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3 (41)

$$WVP = \frac{W(g)}{A(cm^2) \times t(h)} \quad (3)$$

เมื่อ W คือ น้ำหนักไวอัลที่หายไป

A คือ พื้นที่ผิว

t คือ เวลา

5.3.7. ความสามารถในการคงค้ำที่ผิวของฟิล์ม (Swab Studies)

ประเมินจากเวลาที่ฟิล์มคงอยู่ (Residence time) โดยการทดสอบการยึดติดบนแผ่นแก้ว ซึ่งทำได้ 2 วิธี

5.3.7.1. Dry swab

เป็นการทดสอบระบบก่อกฟิล์มในสภาวะแห้ง ทำโดยการนำแผ่นแก้วมาแบ่งเป็น 6 ช่อง ขนาด 1×1 ตารางเซนติเมตร นำตัวรับระบบก่อกฟิล์มมาทา จากนั้นนำไม้พันสำลีแห้งมาป้ายบนฟิล์มที่เวลา 0 นาที, 30 นาที, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง นำไปหาปริมาณยาที่ป้ายออกมาได้

5.3.7.2. Wet swab

เป็นการทดสอบระบบก่อกฟิล์มในสภาวะที่โดนน้ำหรือเหงื่อ ทำโดยการนำแผ่นแก้วมาแบ่งเป็น 6 ช่อง ขนาด 1×1 ตารางเซนติเมตร นำตัวรับระบบก่อกฟิล์มมาทา จากนั้นนำไม้พันสำลีที่เปียกน้ำมาป้ายบนฟิล์มที่เวลา 0 นาที, 30 นาที, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง นำไปหาปริมาณยาที่ป้ายออกมาได้ (8)

5.3.8. ลักษณะพื้นผิวของฟิล์ม (Film topography)

ประเมินโดยใช้ Atomic force microscopy (AFM) ซึ่งจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะพื้นผิวและสมบัติเชิงกลของฟิล์ม โดยภาพที่ได้จะเป็นนาโนสเกลที่แสดงให้เห็นความเป็นเนื้อเดียวกันและความขรุขระของฟิล์ม (43)

5.3.9. ความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์ม (Film homogeneity)

ประเมินโดยใช้ Raman spectroscopy ซึ่งจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของพอลิเมอร์ที่ก่อกฟิล์ม และวัดความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์มได้ (43)

5.3.10. การปลดปล่อยตัวยานอกจากยาพื้น (In vitro diffusion study)

ใช้ Franz diffusion cell เพื่อประเมินการปลดปล่อยยาของระบบก่อกฟิล์ม ซึ่ง Franz diffusion cell จะประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนให้ (Donor compartment) จะเป็นส่วนที่บรรจุตัวรับที่ต้องการศึกษา และส่วนรับ (Receiver compartment) จะเป็นส่วนที่มี Diffusion medium

อยู่สำหรับรับตัวยาที่ถูกปลดปล่อยออกจากตำรับ ซึ่งทั้งสองถูกกั้นด้วยเยื่อเซลโลเฟน การหาปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยออกมาที่เวลาต่าง ๆ ทำโดยการสุ่ม Medium ในส่วนรับแล้วนำไปวิเคราะห์โดยวิธี Spectroscopic (42)

5.3.11. *Ex vivo* permeation study

เป็นการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของยา โดยใช้ Franz diffusion cell หรือ Keshary-Chien diffusion cell โดยใช้ Membrane คือ ผิวหนังของหนูที่วางให้ด้าน Stratum corneum อยู่ฝั่งส่วนให้ และ Dermis อยู่ฝั่งส่วนรับ โดยในส่วนรับจะมี Phosphate buffered saline (pH 7.4) เป็น Diffusion medium ควบคุมอุณหภูมิในการศึกษา 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง Medium ที่เวลาต่างๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณยาโดยวิธี Spectroscopy (44)

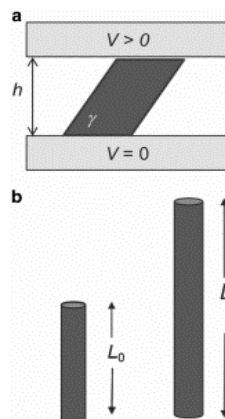
5.3.12. Skin penetration study

เป็นการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาออกจากตำรับทางอ้อม โดยทาตำรับลงบนผิวในปริมาณเท่ากัน ๆ ทิ้งไว้ที่เวลา 15 นาที, 1 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกแล้วนำไปหาปริมาณยาที่คงเหลือในฟิล์ม โดยสามารถคำนวณปริมาณยาที่ซึมเข้าผิวไปได้จากการนำปริมาณยาที่คงเหลือในฟิล์มหักออกจากปริมาณยาที่มีทั้งหมดในตำรับ (45)

6. การวัดการไหลและความหนืด

วิทยาศาสตร์การไหล (Rheology) เป็นศาสตร์ที่ใช้ในการอธิบายการเสียรูปของสารที่เป็นของแข็งและการไหลของสาร เป็นศัพท์ที่นิยามขึ้นโดย Eugene Bingham ผู้ก่อตั้ง The Society of Rheology ในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งคำว่า “Rheo” มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก หมายถึง การไหล (Flow) โดยเมื่อมีแรงมากระทำต่อวัตถุที่เป็นของไหลจะทำให้เกิดความการเปลี่ยนรูปเรียกว่า ความเครียด (Strain) และเมื่อมีแรงมากระทำต่อหน่วยหนึ่งพื้นที่จะเรียกว่า ความเค้น (Stress) ความเครียดแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ การเฉือน (Shear) และการยืด (Extension) ดังแสดงในรูปที่

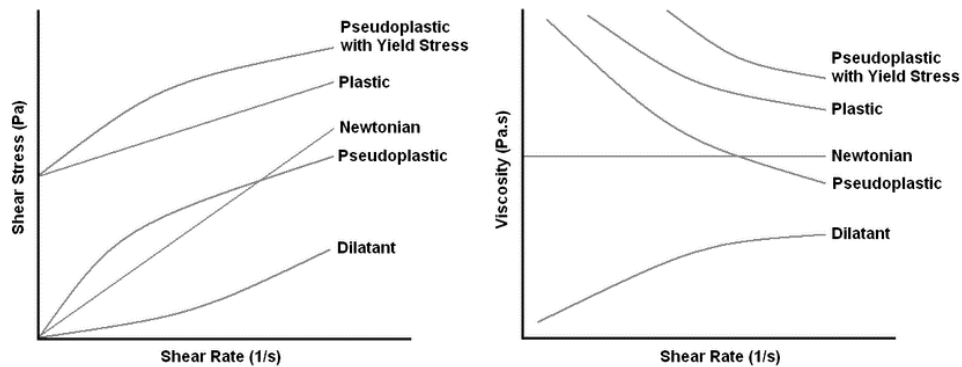
3



รูปที่ 3 แสดงชนิดของความเครียด (strain) 2 ชนิด (a) shear, (b) extension (44)

ในการวัดความหนืดทำโดยการวัดแรงต้านที่เกิดขึ้นเมื่อมีแรงกระทำเรียกว่า แรงเฉือน (shear force) เมื่อพิจารณาของไหลซึ่งประกอบด้วยแผ่นโมเลกุลที่ขนานกันดังรูปที่ 3 ที่แสดงชนิดของความเครียด (strain) แบบ (a) shear ชั้นที่อยู่ด้านล่างจะถูกยึดไว้ และแผ่นด้านบนของของไหลเมื่อได้รับแรงกระทำจะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วคงที่ ความแตกต่างระหว่างความเร็วของของไหล 2 แผ่นกับระยะทางที่เปลี่ยนแปลงไปจะเรียกว่า อัตราเฉือน (Shear rate) (46)

พฤติกรรมการไหลของของเหลวแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ การไหลที่ไม่ขึ้นกับเวลา (Time independent flow) และการไหลที่ขึ้นกับเวลา (Time dependent flow) กรณีที่ความหนืดของของไหลไม่ขึ้นกับอัตราเฉือนจัดเป็นการไหลแบบนิวโทเนียน (Newtonian) และหากความหนืดของของไหลขึ้นกับอัตราเฉือนจัดเป็นการไหลแบบนอนนิวโทเนียน (Non-Newtonian) โดยพฤติกรรมการไหลแบบ Non-Newtonian มี 2 ลักษณะคือ Pseudoplastic หรือ Shear thinning ที่เมื่อเพิ่มอัตราเฉือนความหนืดจะลดลง และ Dilatant หรือ Shear thickening ที่เมื่อเพิ่มอัตราเฉือนความหนืดจะเพิ่มขึ้น สำหรับพอลิเมอร์ส่วนใหญ่จะมีพฤติกรรมการไหลที่แบบ Pseudoplastic หรือ shear thinning และความหนืดจะลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ



รูปที่ 4 แสดงลักษณะ flow curves ระหว่าง Shear stress และ Shear rate (ซ้าย) และ Viscosity และ Shear rate (ขวา) (47)

จากตัวอย่างงานวิจัยของ Phaechamud T และคณะ (48) ความหนืดของตำรับที่มีการใส่ตัวยาย DH มีความหนืดน้อยกว่า MT and BP ($p < 0.05$) และโดยให้เหมือนกันทั้งสองอุณหภูมิที่ต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการจับกันของประจุลบของโมเลกุลยา doxycycline และประจุบวกของ quaternary ammonium group ของ Eudragit® RS ทำให้ค่าความหนืดเพิ่มสูงขึ้น ความหนืด และ shear stress ของทุกตำรับ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะมีค่าต่ำกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการวัดความหนืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เพื่อศึกษาความหนืดและพฤติกรรมการไหลของของไหลระหว่างที่บริหารยาทางการฉีดที่อุณหภูมิห้องและหลังจากการฉีดที่ gingival crevicular fluid ที่ periodontal pocket ในร่างกายมนุษย์ตามลำดับ โดยทั่วไปความหนืด

จะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น กล่าวคือความหนืดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ความหนืดของยาเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใส่ตัวยาลงในตำรับ เพราะยาเกิดการจับตัวกันกับพอลิเมอร์ ค่า shear stress ของทุกตำรับที่มีการใส่ตัวยา 5 %w/w มีค่ามากกว่าตำรับที่ไม่ได้มีการใส่ตัวยา เช่นเดียวกับ shear rate บ่งบอกว่ามีการก่อตัวของเจล การไหล และการเกี่ยวพันของระบบพอลิเมอร์อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นอยู่กับจำนวน molecular entanglements พฤติกรรมการไหลของสารละลายที่มีตัวยา 5 %w/w DH, MT, และ BP เป็นองค์ประกอบ มีความแม่นยำเนื่องจาก ค่า N value ของทุกตำรับเข้าใกล้ 1 บ่งบอกถึงการไหลแบบ Newtonian flow เหมือนกับสารละลาย Eudragit® RS ที่ไม่มีตัวยา ในกรณีนี้ค่า viscosity coefficient (η) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่ม Eudragit® RS สารละลาย Eudragit® RS ที่ละลายใน NMP มีค่าความหนืดต่ำและไหลแบบนิวทอนเนียน ดังนั้นจึงเหมาะที่จะใช้เป็นยาฉีดและเปลี่ยนไปเป็น gel หรือ solid-like หลังจากฉีดไป และสัมผัสกับของเหลว และจะแสดงพฤติกรรมการไหลแบบนอนนิวทอนเนียนเมื่อความหนืดเพิ่มขึ้น (48)

6.1. เครื่องมือที่ใช้ในการวัดความหนืดของเหลว

6.1.1. Capillary viscometer

นิยมใช้ระบบนี้ในการวัดของเหลวบริสุทธิ์ เครื่องมือที่ใช้ระบบนี้ เช่น Ostwald viscometer วัดค่าความหนืดโดยจับเวลาที่สารไหลผ่าน Capillary tube ที่ทราบรัศมีและความยาว ในขณะที่อยู่ในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิได้

6.1.2. Falling ball viscometer

วัดความหนืดของเหลวแบบนิวโตเนียน อาศัยหลักการการตกลงของวัตถุผ่านของเหลวที่มีความหนืด จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดกับเวลาที่วัตถุใช้เดินทางระหว่างจุดสองจุดที่กำหนด ข้อเสียของเครื่องนี้คือต้องใช้สารตัวอย่างมาก และตัวอย่างต้องใสเพื่อให้สังเกตเห็นการเคลื่อนที่ของวัตถุได้ชัดเจน

6.1.3. Rational viscometer

6.1.3.1. Coaxial-Cylinder viscometer

หลักการทำงานคือ แกนหมุนรูปทรงกระบอกจมลงในของเหลวที่บรรจุอยู่ในรูปทรงกระบอก สามารถแบ่งย่อยได้เป็น 2 ระบบ ได้แก่ Couette system จะมี cup หมุนไปรอบ ๆ ขณะที่ spindle ถูกตรึงอยู่กับที่ ตัวอย่างเครื่องมือ ได้แก่ MacMicheal viscometer ส่วน Searle system การทำงานจะตรงข้ามกับ Couette system ตัวอย่างเครื่องมือ ได้แก่ Brookfield viscometer ข้อเสียคือ ไม่เหมาะกับสารที่มีความหนืดน้อยกว่า 20 centipoise ต้องใช้ตัวอย่างมาก และเกิด plug flow ได้ง่าย

6.1.3.2. Cone and plate viscometer

ประกอบไปด้วย Plate ที่มีลักษณะแบนราบ Cone ที่เป็นสามเหลี่ยมมุมป้านทำมุม 0.3 องศา Cone จะสัมผัสกับผิวหน้า Plate และมีช่องว่างสำหรับบรรจุสารตัวอย่างเพียงเล็กน้อย ข้อดีคือสามารถวัดความหนืดได้ในช่วงกว้าง Rate of shear มีค่าคงที่ ใช้สารตัวอย่างไม่มาก ควบคุมอุณหภูมิได้ดี และทำความสะอาดง่าย แต่ไม่เหมาะสำหรับตำรับอิมัลชัน และยาน้ำแขวนตะกอน ที่ขนาดอนุภาคมากกว่า 30 ไมครอน (49)

7. การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis)

เนื้อสัมผัส (Texture) หมายถึง ลักษณะที่มนุษย์สามารถรับรู้ได้ด้วยการสัมผัส โดยผู้บริโภคสามารถรับรู้เนื้อสัมผัสได้ด้วยการสัมผัส ดังนั้นการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis) เป็นวิธีหนึ่งในการศึกษาสมบัติเชิงวิศวกรรมในทางกายภาพ ซึ่งหมายถึง การวัดเนื้อสัมผัส (Texture measurement) และการแปลความหมายของค่าที่วัดได้เป็นค่าสมบัติทางเนื้อสัมผัส (Texture properties) ในด้านต่าง ๆ การทดสอบเนื้อสัมผัสมีอยู่ 2 ประเภทคือ การทดสอบเนื้อสัมผัสทางวัตถุวิสัย และการประเมินด้วยประสาทสัมผัส (50)

7.1. ประเภทการทดสอบเนื้อสัมผัส

7.1.1. การทดสอบเนื้อสัมผัสเชิงวัตถุวิสัย (Objective method)

เป็นการทดสอบโดยใช้เครื่องมือวัด (Texture Analyzer) ใช้ตัวตรวจจับ (Sensor) ซึ่งมีความแม่นยำ และสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมของการวัดได้ดี

7.1.2. การประเมินด้วยประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

เป็นการทดสอบโดยใช้คนเป็นผู้ประเมินในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของตำรับโดยใช้ประสาทสัมผัสของผู้ทำการประเมิน

7.2. วิธีการทดสอบเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer

เป็นเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์เนื้อสัมผัสทางกายภาพอันเนื่องมาจากโครงสร้าง เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปร่าง หรือการไหลเมื่อมีแรงกระทำ สามารถวัดได้ในรูป แรง ระยะทาง หรือเวลา และแปลผลความหมายของค่าที่วัดได้เป็นค่าสมบัติทางเนื้อสัมผัสด้านต่าง ๆ ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างแรงกับระยะเวลาการเปลี่ยนรูป แสดงเป็นกราฟ เรียกว่า Force-deformation curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรงกับเวลา แสดงเป็นกราฟ เรียกว่า Force-time curve, ความสัมพันธ์ระหว่างความเค้น (Stress) กับความเครียด (Strain) แสดงเป็นกราฟ เรียกว่า Stress-strain curve ซึ่งจะมีวิธีการทดสอบดังนี้

7.2.1. การทดสอบแรงกด (Compression test)

7.2.1.1. การทดสอบการกดด้วยแผ่นแบนแบบง่าย (Simple compression test)

เป็นการทดสอบการตอบสนองของวัสดุเมื่อมีแรงกด (Compression force) มากระทำ การทดสอบแรงกด เป็นวิธีที่ใช้การที่ใช้วิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยการใส่แรงกด หรือแรงอัดในแนวตรงทำให้วัสดุเปลี่ยนรูปร่างของความสูง หรือความยาวหดสั้น เข้าตามทิศทางของแรงที่กระทำ กราฟที่ได้แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างแรงกับระยะเวลาการเปลี่ยนรูป (Deformation) แสดงเป็นกราฟ เรียกว่า Force-deformation curve ซึ่งค่าตัวแปรสำคัญที่ได้จากกราฟ ได้แก่

- แรงกดสูงสุด (Maximum force, N) แสดงความแข็ง (Hardness) ของวัสดุ
- ความชัน (N/mm) บอกค่าความแน่น (Firmness)
- พื้นที่ใต้กราฟคือ การดูดซับพลังงาน (Energy absorption) ที่ทำให้วัสดุแตก บอกความเหนียว (Toughness) ของวัสดุ

7.2.1.2. การทดสอบแบบคลายความเค้น (Relaxation test)

เป็นการทดสอบการกดแผ่นแบนค้างไว้เมื่อกดลงไปถึงระดับหนึ่ง การกดค้างเป็นระยะเวลาหนึ่งจะควบคุมความเครียด (Strain) ให้คงที่ในระยะเวลาสั้น ตัวอย่างจะคลายความเค้น (Stress) ทำให้ระดับของแรงที่หัวกดลดลงไปตามเวลาจนกระทั่งไม่สามารถคลายความเค้นต่อไปได้

Stress relaxation curves เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรงกับเวลา โดย

$$\% \text{Relaxation} = [\text{แรงที่ลดลง} / \text{แรงทั้งหมด}] \times 100 \quad (4)$$

%Relaxation ต่ำ = เข้าใกล้ ideal elastic เช่น ยาง (มีความยืดหยุ่นสูง)

%Relaxation สูง = เข้าใกล้ viscoelastic liquid เช่น เนย แป้งโดว์ (ยืดหยุ่นและไหลหนืด)

Stress relaxation curves เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นกับ ความเครียด วัสดุที่มีมอดูลัสของความยืดหยุ่นของวัตถุต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยหาได้จากค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus : Y) ดังสมการที่ 5 ที่ใช้บอกความเหนียว ความแข็งแรง และทนทานของ วัสดุที่มีรูปร่าง และองค์ประกอบต่าง ๆ กัน เมื่อ

$$Y = \frac{\text{Stress}}{\text{Strain}} \quad (5)$$

เมื่อ Y คือ มอดูลัสของยัง มีหน่วยเป็น ปาสกาล (Pa) หรือ นิวตันต่อตารางเมตร (N/m²)

ความเค้น (Stress) คือ อัตราส่วนระหว่างแรงกับพื้นที่ที่แรงกระทำ

ความเครียด (Strain) คือ อัตราส่วนระหว่างความยาวที่เปลี่ยนไปต่อความยาวเดิม

ความเค้น (Stress) หมายถึง แรงต้านทานภายในเนื้อวัสดุที่มีต่อแรงภายนอกที่มากระทำต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ แต่เนื่องจากความไม่เหมาะสมทางปฏิบัติ และความยากในการวัดหาค่านี้ เราจึงมักจะพูดถึงความเค้นในรูปของแรงภายนอกที่มากระทำต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ ด้วยเหตุผลที่ว่าแรงกระทำภายนอกมีความสมดุลกับแรงต้านทานภายใน การหาค่าความเค้นสามารถเขียนเป็นสมการได้ ดังสมการที่ 6

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (6)$$

เมื่อ σ คือ ความเค้น (Stress) มีหน่วยเป็นปาสกาล (Pa, 1 Pa = 1N/m²)

F คือ แรงภายนอกที่มากระทำ มีหน่วยเป็น N

A คือ พื้นที่ภาคตัดขวางที่แรงกระทำมีหน่วยเป็น m²

ความเครียด (Strain) คือ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของวัสดุ (Deformation) เมื่อมีแรงภายนอกมากระทำ การเปลี่ยนรูปของวัสดุนี้เป็นผลมาจากการเคลื่อนที่ภายในเนื้อวัสดุ ค่าของความเครียดจะเท่ากับความยาวที่เปลี่ยนไปต่อความยาวเดิม ดังสมการที่ 7

$$\epsilon = \frac{\Delta L}{L} \quad (7)$$

เมื่อ ϵ คือ ความเครียดเชิงเส้น

ΔL คือ ความยาวที่เปลี่ยนไป

L คือ ความยาวเดิมของวัสดุ

7.2.2. การทดสอบเพื่อวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis)

เป็นการทดสอบโดยการกดวัสดุด้วยแผ่นแบน (Probe) ขนาดใหญ่กว่าชิ้นวัสดุ โดยกดลงในระยะใด ๆ ที่เป็น % ความเครียด (Strain) เช่น 50 %strain หรือ 75 %strain การทดสอบนี้นิยมทดสอบการบีบอัดเพื่อวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

7.2.3. การทดสอบการโก่งงอ (Fracture Test)

วิธีการทดสอบเพื่อวิเคราะห์เนื้อสัมผัสโดยใช้หัวกดที่มีขนาดเล็กกว่าตัวอย่าง กดลงบนกลางตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแท่งยาว หรือแผ่นที่วางอยู่บนจุดรองรับ ห่างกัน 2 จุด หรืออาจกดลงบนปลายด้านหนึ่งของตัวอย่างที่ถูกจับยึดไว้ที่ปลายอีกด้านหนึ่ง จนเกิดการแตกหรือโก่งงอ

ค่า Flexural modulus (E_f) คือ โมดูลัสในการทำให้ตัวอย่างโก่งงอ หาได้จากสมการที่ 8

$$\text{Flexural modulus } (E_f) = \frac{\sigma_f}{\epsilon_f} \quad (8)$$

ค่า Flexural stress (σ_f) คือ ความเค้นโก่งงอที่เกิดตรงกลางชิ้นทดสอบตรงส่วนผิวนอก หาได้จากสมการที่ 9

$$\text{Flexural stress } (\sigma_f) = \frac{3FL}{2wt^2} \quad (9)$$

ค่า Flexural strain (ϵ_f) คือ ความเครียดโก่งงอ หาได้จากสมการที่ 10

$$\text{Flexural strain } (\epsilon_f) = \frac{6Dt}{L^2} \quad (10)$$

เมื่อ F คือ แรงที่ทำให้เกิดการแตกของตัวอย่าง

L คือ ระยะห่างระหว่างจุดสองจุดเพื่อรองรับตัวอย่าง

W คือ ความกว้างของตัวอย่าง

t คือ ความสูง (หนา) ของตัวอย่าง

D คือ ระยะโค้งงอของตัวอย่าง

8. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

8.1. การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำเพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ คือกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ ซึ่งทำได้หลายวิธีดังนี้

8.1.1. การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อ (Streak Plate)

เป็นการทำให้เชื้อปริมาณมากกระจายตัวออกจนแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ ซึ่งแต่ละโคโลนีจะเจริญมาจากเซลล์เดียวกันซึ่งถือเป็นเชื้อที่บริสุทธิ์ โดยใช้วิธีการขีดเชื้อแบบ Four-way cross Streak (51)

8.1.2. การทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate)

เป็นการแยกเชื้อเป็นโคโลนีบริสุทธิ์เพื่อนับจำนวนโคโลนี โดยการใช้แท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการเผาไฟแล้วเกลี่ยเชื้อที่เป็นสารละลายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อแยกเชื้อออกจากกัน หลังจากนำไปบ่มเชื้อจะแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ (52)

8.2. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

วิธีการหา MIC เป็นวิธีที่ใช้หาความเข้มข้นของยา หรือสารที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยดูจากความหนาแน่นของเชื้อที่โตในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ และ MBC เป็นความเข้มข้นของยาหรือสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9% ($3 \log_{10}$ CFU/mL) ในระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง หลังจากการนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 33-37 องศาเซลเซียส โดยสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียจะมีค่า MIC และ MBC ใกล้เคียงกัน หรือต่างกัน 1-2 เท่า แต่สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจะมีค่า MBC ต่างกับ MIC มากกว่า 4 เท่า ซึ่งการหาค่า MIC และ MBC สามารถทำได้โดยการเจือจางความเข้มข้นลงครึ่งละ 2 เท่า โดยสามารถทำได้ทั้งในอาหารแข็ง (Nutrient agar medium) และอาหารเหลว (Nutrient broth medium) (53)

8.3. การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion

เป็นวิธีทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการนำสารละลายหยอดลงในหลุม โดยให้สารแพร่เข้าไปในอาหารแข็งที่มีเชื้อแบคทีเรียกระจายอยู่บนผิวหน้า ซึ่งถ้าสารมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะปรากฏบริเวณที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญอยู่ (54)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1. สารเคมี

- 1.1.1. สารสกัดไวโอลาซีน
- 1.1.2. Eudragit® RS 100 (Lot. B170608591, Evonik Nutrition & Care GmbH, Germany)
- 1.1.3. Eudragit® S 100 (Lot. B180705205, Evonik Nutrition & Care GmbH, Germany)
- 1.1.4. Eudragit® E100 (Lot. B171101671, Evonik Nutrition & Care GmbH, Germany)
- 1.1.5. Ethanol (Impress Ethanol, Thailand)
- 1.1.6. Diethyl phthalate (Lot. H7LYLFP, TCI, China)
- 1.1.7. Muller Hinton Agar (Lot. 7271779, Becton, Dickinson and Company, USA)
- 1.1.8. Muller Hinton Broth (Lot. 7009699, Becton, Dickinson and Company, USA)
- 1.1.9. Clindamycin (Azupharma, Germany)
- 1.1.10. Sodium chloride (Lot. 1803260592, Ajax Finechem, Australia)
- 1.1.11. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Lot. SBTH004, Aldrich, USA)
- 1.1.12. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Lot. SLBS4468, SIGMA, USA)
- 1.1.13. Potassium persulfate (Lot. BCBN9478V, Sigma- Aldrich, Germany)
- 1.1.14. Gallic acid (Lot No. AO405480, Sigma- Aldrich, Germany)

1.2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.2.1. เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัลตอลทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Laboratory weighing, รุ่น XSR204DR, Mettler-Toledo, USA)
- 1.2.2. ตู้บ่มเชื้อ (Drying and Heating oven, รุ่น redline, BINDER, Germany)
- 1.2.3. Magnetic stirrer (รุ่น C-MAG HS-7, IKA, Germany)
- 1.2.4. Vortex (รุ่น Vortex-Genie 2, Scientific Industries, USA)
- 1.2.5. Autoclave (รุ่น HVA-85, HIRAYAMA, Japan)

1.2.6. Rheometer (KINEXUS Rheometer, Malven, UK)

1.2.7. Microplate reader (รุ่น STECTORstar Omega, BMG LABTECH, UK)

1.2.8. Texture analyzer (รุ่น TA.XT. Plus, Stable Micro System Ltd., UK)

2. วิธีการทดลอง

2.1. การทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซิน

2.1.1. การเตรียมสารสกัดไวโอลาซิน

เตรียม Stock Solution ของสารสกัดไวโอลาซิน โดยชั่ง 25 มิลลิกรัม ใส่ใน Eppendorf ขนาด 1 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วย DMSO 1 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดไวโอลาซิน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยการใช้ไมโครปิเปตดูด Stock solution ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ Eppendorf หลอดที่ 1 และละลายด้วย DMSO 500 ไมโครลิตร ผสมสารใน Eppendorf หลอดที่ 1 ให้เข้ากัน จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารจากหลอดที่ 1 ลงหลอดที่ 2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และละลายด้วย DMSO 500 ไมโครลิตร ทำซ้ำแบบเดิมจนครบ 4 หลอด

2.1.2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่เพาะเลี้ยงไว้ที่มีอายุประมาณ 16-18 ชั่วโมง ประมาณ 4-5 โคโลนี ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี Mueller Hinton Broth (MHB) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปรับความขุ่นให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland standard โดยใช้ 0.85% NaCl จากนั้นเจือจางความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียลง 100 เท่า

2.1.3. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

นำหลอดทดลอง 13 หลอด มาเขียนเชื้อที่ทดสอบ และความเข้มข้นของสารสกัดไวโอลาซิน จากนั้นใส่เชื้อที่เจือจาง 100 เท่าแล้ว ปริมาตร 1,920 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่ 1-7 และเติมสารสกัดไวโอลาซิน ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่ 1-5 ตามลำดับ ในหลอดที่ 6 ใส่ DMSO เป็น Negative control และในหลอดที่ 7 ใส่ Clindamycin ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น Positive control และหลอดที่ 8-13 ทำเหมือนกับหลอดที่ 1-6 แต่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อแทนเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นหลอดเปรียบเทียบความขุ่น เนื่องจากสารสกัดไวโอลาซิน เป็นสารที่มีสีและเกิดตะกอนหลังนำไปปั่น ทำให้สังเกตได้ยาก จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้สังเกตหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ มีลักษณะไม่ขุ่นเมื่อเทียบกับหลอดเปรียบเทียบ

2.1.4. การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

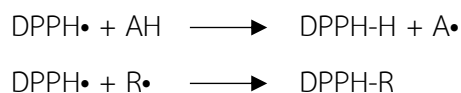
นำหลอดที่ไม่ขุ่นจากการหาค่า MIC มาหาค่า MBC โดยการนำมา Streak ลงบนผิวหน้าของอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาสังเกตบริเวณที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญบนผิวอาหาร อ่านเป็นค่า MBC

2.2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซิน

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซิน จะทำการทดสอบด้วย 2 วิธี ได้แก่ DPPH assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และ ABTS assay [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6- sulfonic acid)]

2.2.1. DPPH assay [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl]

หลักการในการทดลองคือ DPPH เป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปสถานะอนุมูลอิสระ ที่มีความคงตัว โดยสภาพธรรมชาติ เมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute ethanol เมื่อละลาย (DPPH•) จะได้สารละลายสีม่วง มีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด 517 นาโนเมตร เมื่อเติมสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ บ่มให้ (DPPH•) เกิดปฏิกิริยา reduction กับ H⁺ จะอยู่ในรูป DPPH ทำให้สีม่วงของสารละลายจางลงเป็นสีเหลืองอ่อน โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•) ได้สมการดังนี้



วิธีการทดสอบคือ เตรียมสารสกัดไวโอลาซินละลายในเอทานอล ความเข้มข้น 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.01562, 0.0078125 mg/ml โดยมีสาร gallic acid เป็นสารมาตรฐานละลายในเอทานอล ความเข้มข้น 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125, 0.390625, 0.1953125 mg/ml ทำการทดสอบโดยใส่สารตัวอย่าง และสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 40 μL ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 160 μL และผสมกับสารละลายเอทานอล ปริมาตร 160 μL ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplate reader รุ่น Crocodile 5-in-one ELISA miniWorkstation จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ (A) มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ สารมาตรฐาน

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{vio}}) / (A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ref}})] \times 100$$

ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า IC₅₀ คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 %

2.2.2. ABTS assay [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6- sulfonic acid)]

หลักการในการทดลองคือ นำ ABTS oxidized มาเหนี่ยวนำด้วย potassium persulphate จนเกิดเป็น ABTS cation radical (ABTS•⁺) บ่มให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ โดย ABTS•⁺ เป็นสารที่เป็นอนุมูลอิสระซึ่งมีประจุเป็นบวก ในสารละลายจะมีสีน้ำเงินเขียวเข้ม มีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด 734 นาโนเมตร เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปเพื่อเปลี่ยน ABTS•⁺ ให้กลับมาเป็น ABTS ซึ่งเป็นสารละลายใสไม่มีสี

วิธีการทดสอบคือ เตรียมสารสกัดไวโอลาซินละลายในเอทานอลความเข้มข้น 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125 0.01562, 0.078125 mg/ml ทำการทดสอบโดยใส่สารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 40 µL ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 160 µL ใน 96 well plate ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplate reader รุ่น Crocodile 5-in-one ELISA miniWorkstation และใช้สาร Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ (A) มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจากสมการ สารมาตรฐาน

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{ABTS}} - A_{\text{vio}}) / (A_{\text{ABTS}} - A_{\text{ref}})] \times 100$$

ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจะแสดงเป็นค่า IC₅₀ คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 %

2.3. การเตรียมตำรับ

2.3.1. Preliminary Process

2.3.1.1. การหาชนิดและปริมาณของพอลิเมอร์

โดยในการทดลองนี้จะใช้พอลิเมอร์ 3 ชนิด คือ Eudragit® S100, E100 และ RS100 เนื่องจากมีสมบัติที่สามารถละลายได้ใน Organic solvent โดยนำพอลิเมอร์แต่ละชนิดละลายในตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 2.5, 5, 10 และ 15 % w/w โดยการปั่นกวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer จนพอลิเมอร์จะละลายสมบูรณ จากนั้นนำไปประเมินความหนืดระยะเวลาที่ทำให้แห้ง และลักษณะฟิล์มที่ได้

2.3.1.2. ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในตำรับ

นำพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นเหมาะสมจากผลการทดลอง 2.3.1.1. มาทดสอบหาสัดส่วน ปริมาณตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ใช้คือ น้ำ และเอทานอล 95% โดยเตรียมในอัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราส่วนปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้

น้ำ (มิลลิลิตร)	95% Ethanol (มิลลิลิตร)
0	10
1	9
2	8
3	7
4	6
5	5

2.3.1.3. การหาชนิดและปริมาณ Plasticizer

เลือกสูตรตำรับที่เหมาะสมจากผลการทดลอง 2.3.1.1. และ 2.3.1.2 มาเติมพลาสติกไซเซออร์ โดยในการทดลองนี้จะใช้พลาสติกไซเซออร์ คือ Diethyl phthalate ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 10, 20, 30, 40 และ 50 % w/w ของพอลิเมอร์ที่เหมาะสมจากผลการทดลอง 2.3.1.1. จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้ไปประเมินตำรับ

2.3.2. การพัฒนาตำรับ

สำหรับการพัฒนาตำรับงานวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการเลือกใช้โปรแกรม Design – Expert Version 13 ในการออกแบบการทดลอง (Design of experiment) ซึ่งเป็นการออกแบบการทดลองที่ใช้ควบคุมการวิเคราะห์ผลกระทบจากหลาย ๆ ตัวแปร (Factor, x) ที่ส่งผลต่อผลลัพธ์ที่สนใจ (Response, y) โดยใช้รูปแบบกระบวนการอย่างเป็นระบบ ซึ่งในแต่ละชุดของการทดลองจะทำการปรับเปลี่ยนค่าของปัจจัย (Input variables) เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ทำให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุด ข้อดีของการออกแบบการทดลองคือ ประหยัดเวลา ประหยัดค่าใช้จ่าย สามารถทำซ้ำได้ และให้ผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือ

โดยการออกแบบการทดลองที่เลือกใช้คือ การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (Central composite design หรือ CCD) เป็นการทดลองที่เหมาะสมกับใช้ในกระบวนการที่มีแนวโน้มที่จะเกิดความสัมพันธ์เชิงเส้นโค้ง (Quadratic relationship) เมื่อตัวแปรใดตัวหนึ่งเพิ่ม หรือลดค่า ส่งผลต่อผลลัพธ์ที่สนใจเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่ไม่เป็นเส้นตรง แต่มีลักษณะเป็นเส้นโค้งแทน และใช้จำนวนการทดลอง (Run) น้อยจากแบบทดลองทางสถิติ การทดลองนี้จึงมีความยืดหยุ่นในการใช้งาน และมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแผนการทดลองอื่น ๆ

โดยงานวิจัยได้กำหนดตัวแปร (Factor, x) 3 ตัวแปร ประกอบด้วย ความเข้มข้นของพอลิเมอร์, อัตราส่วนของตัวทำละลายเอทานอลกับน้ำ และความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ โดยแต่ละตัวแปร มี 3 ระดับ (แทนด้วยสัญลักษณ์ -1, 0, +1) ซึ่งจากการทำ Preliminary Process พบว่าชนิดของพอลิเมอร์ที่มีความเหมาะสมที่สุดของการทดลองในการนำมาเป็นสารก่อฟิล์มคือ Eudragit® RS 100 ที่มีช่วงความเข้มข้นที่ในการนำมาอยู่ระหว่าง 15 - 25 %w/w, อัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมระหว่างเอทานอลและน้ำอยู่ระหว่าง 7: 3-10: 0 และชนิดของพลาสติกไซเซออร์ที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในตำรับคือ Diethyl phthalate (DEP) ช่วงความเข้มข้นที่ในการนำมาอยู่ระหว่าง 10 - 20 %w/w ของน้ำหนักพอลิเมอร์ Eudragit® RS 100 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่าระดับของตัวแปรแต่ละชนิด

สัญลักษณ์	A: ความเข้มข้น Eudragit® RS 100 (%w/w)	B: ความเข้มข้น DEP (%w/w ของ Eudragit® RS 100)	C: เอทานอล: น้ำ (w/w)
-1	15	10	4: 1
0	20	15	7: 1
+1	25	20	10: 1

ดังนั้นในการทดลองจึงนำสารซึ่ง Eudragit® RS 100 เอทานอล น้ำ และ Diethyl phthalate (DEP) ตามสัดส่วนในตารางที่ 7 เเทลงในบีกเกอร์ จากนั้นปั่นกวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer เมื่อสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วจึงใส่สารสกัดไวโอลาซิน ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของแต่ละสูตรตำรับ

ตัวอย่างที่	สูตรตำรับ		
	A: ความเข้มข้น Eudragit® RS 100 (% w/w)	B: ความเข้มข้น DEP (%w/w ของ Eudragit® RS 100)	C: เอทานอล: น้ำ (w/w)
1	25.00	20.00	10.00: 1
2	20.00	15.00	7.00: 1
3	15.00	20.00	10.00: 1
4	20.00	15.00	1.95: 1

ตัวอย่างที่	สูตรตำรับ		
	A: ความเข้มข้น Eudragit® RS 100 (% w/w)	B: ความเข้มข้น DEP (%w/w ของ Eudragit® RS 100)	C: เอทานอล: น้ำ (w/w)
5	20.00	15.00	7.00: 1
6	15.00	20.00	4.00: 1
7	20.00	15.00	7.00: 1
8	25.00	20.00	4.00: 1
9	25.00	10.00	10.00: 1
10	28.41	15.00	7.00: 1
11	11.59	15.00	7.00: 1
12	20.00	15.00	12.05: 1
13	25.00	10.00	4.00: 1
14	20.00	6.59	7.00: 1
15	15.00	10.00	10.00: 1
16	15.00	10.00	4.00: 1
17	20.00	23.41	7.00: 1

2.4. การประเมินตำรับ

2.4.1. การประเมินสมบัติของตำรับตามการทดลอง Design of experiment

2.4.1.1. รัศมีของสเปรย์ (Spray radius, R_1)

บรรจุสารตัวอย่างประมาณ 3 มิลลิลิตร ลงในขวดสเปรย์ขนาด 30 มิลลิลิตร ฉีดสเปรย์ในแนวขนานกับพื้นลงบนฉากขาวขนาดเท่ากระดาษ A4 โดยเว้นระยะห่างระหว่างหัวสเปรย์กับฉากขาว 10 เซนติเมตร พ่นสเปรย์ 5 จุด รอให้แห้งและวัดรัศมีของสเปรย์ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

2.4.1.2. ความหนืด (Viscosity, R_2)

การทดสอบการไหลและความหนืดของสารตัวอย่าง ทำการวัดด้วยเครื่อง Rheometer โดยเตรียมสารตัวอย่างทั้งหมด 17 ตำรับที่ต้องการวัด ดังตารางที่ 3 โดยใช้หัววัดชนิด Cone and plate เริ่มทำการวัดโดยใช้โปรแกรม rSpace ทำการบรรจุสารลงบนเพลทด้านล่าง เลือกเครื่องมือในการวิเคราะห์ Toolkit v001 shear rate table โดยกำหนดอุณหภูมิเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส Shear rate เท่ากับ $0.1-100 \text{ s}^{-1}$ และ 10 Sample per decade เมื่อทำการวิเคราะห์เสร็จแล้วทำการบันทึกข้อมูล และทำความสะอาดเพื่อเตรียมวัดตัวอย่างถัดไป ในการพิจารณาหา Flow curves เครื่องจะทำ

การวิเคราะห์สารตัวอย่างและแสดงผลออกมาในรูปความสัมพันธ์ระหว่างค่า Shear rate และ Shear viscosity

2.4.1.3. สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม ได้แก่ ความเค้น (Stress, R_3) ความเครียด (Strain, R_4) Young modulus (R_5) และความทนทาน (Toughness, R_7)

นำสารละลายที่เตรียมไว้แต่ละตัวอย่าง ในตารางที่ 3 มาเทลงใน plate กระจกขนาด $5 \times 15 \times 3$ เซนติเมตร (กว้าง \times ยาว \times สูง) กำหนดให้น้ำหนักเท่ากันทุกตัวอย่าง หลังจากเทสารตัวอย่างเสร็จรอ 18 ชั่วโมงเพื่อให้ตัวอย่างแห้งสนิท จากนั้นลอกตัวอย่างออกจากกระจกจะได้เป็นลักษณะเป็นฟิล์ม นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาตัดแบ่งให้ได้ขนาดเท่ากับ 1×8 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้นต่อตัวอย่าง ติดเทปใสบริเวณด้านบน และด้านล่างของฟิล์มขนาด 1×1 เซนติเมตรเท่ากันทุกชิ้น โดยกำหนดให้เหลือพื้นที่ในการวัด 1×6 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture analyzer รุ่น TA.XT.Plus, Stable Micro System Ltd., UK

2.4.1.4. เวลาที่ทำให้แห้ง (Time to dry, R_6)

นำ Petri dish ที่สะอาดวางบนเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำตำรับที่เตรียมไว้ในตารางที่ 3 หยดสารตัวอย่างด้วย Dropper ลงบน Petri dish หลังจากหยดตำรับ จับเวลา และจดบันทึกน้ำหนักที่ได้ที่เวลา 30 วินาที, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 และ 60 นาที จากนั้นมาคำนวณน้ำหนักที่หายไปโดยเทียบเป็นร้อยละจากน้ำหนักเดิม เพื่อหาเวลาที่ทำให้น้ำหนักลดลง 50% ของน้ำหนักเริ่มต้นของแต่ละตัวอย่าง

2.5. ตำรับ Optimization

2.5.1.1. การกำหนดค่าตัวแปรตามในตำรับ Optimization แสดงตารางที่ 8 ตารางที่ 8 ค่าตัวแปรตามที่กำหนดในตำรับ Optimization

Factors	Goal
R_1	maximize, 0.81 – 2.26
R_2	is in range, 0.025 – 0.045
R_3	minimize, 0.041658 – 0.242853
R_4	maximize, 125.1653 – 293.9633
R_5	minimize, 141.7127 – 1940.254
R_6	minimize, 8.44963 – 43.30747
R_7	maximize, 0.000702 – 0.143117

2.5.1.2. ประเมินสมบัติของตำรับตาม Design of experiment แสดงในตารางที่ 9 ตารางที่ 9 ตัวแปรตามในการประเมินตำรับ

Response	Name	Unit
R ₁	Spray radius	cm
R ₂	Viscosity	Pa*s
R ₃	Stress	MPa
R ₄	Strain	%
R ₅	Young modulus	MPa
R ₆	Time to dry	min
R ₇	Toughness	MJ/m ³

2.5.1.3. ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของตำรับโดยวิธี Agar Well Diffussion

2.5.1.3.1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ที่เพาะเลี้ยงไว้ที่มีอายุประมาณ 16-18 ชั่วโมง ประมาณ 4-5 โคโลนี ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี Mueller Hinton Broth (MHB) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปรับความขุ่นให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland standard โดยใช้ 0.85% NaCl จากนั้นนำมากระจายบนผิวอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) โดยการนำไม้พ่นสำลีจุ่มเชื้อแล้วกดกับข้างหลอดทดลองให้พอดพอดี แล้วนำมา Swab ลงบนอาหาร พอ Swab ได้ครึ่งเพลท แล้วหมุนเพลท 90 องศา แล้ว Swab ครึ่งเพลท จนครบ 4 ครั้ง และหมุนเพลท 60 องศา แล้ว Swab ทั้งเพลท และหมุนตามขอบเพลท เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าของอาหาร

2.5.1.3.2. การใส่สารตัวอย่างลงใน Agar well

เจาะหลุมบนผิวหน้าของอาหารโดยใช้ Dropper ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 7 หลุม จากนั้นหยดตำรับที่ไม่มีสารสกัด (Blank), ตำรับที่มีสารสกัดไวโอบาลีน 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, ตำรับที่มี Clindamycin ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Positive control), น้ำกลั่น (Negative control) และตำรับ 3M Cavilon No Sting Barrier Film ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลุม รอให้แห้งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาวัดขนาดของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญ และบันทึกในหน่วยมิลลิเมตร

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซีน

1.1. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

จากการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซีน โดยการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ในเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

สารที่วิเคราะห์	ลักษณะของเหลวในหลอดทดลอง	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Violacein 1 mg/mL	ใส	ใส
Violacein 0.5 mg/mL	ใส	ใส
Violacein 0.25 mg/mL	ใส	ขุ่น
Violacein 0.125 mg/mL	ขุ่น	ขุ่น
Violacein 0.0625 mg/mL	ขุ่น	ขุ่น
DMSO	ขุ่น	ขุ่น
เชื้อ	ขุ่น	ขุ่น
Clindamycin 1 µg/mL	ใส	ใส

1.2. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

จากการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซีน โดยการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ซึ่งนำหลอดที่มีลักษณะใสจากการทดสอบ MIC มา Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ได้ผลดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC)

สารที่วิเคราะห์	การเจริญเติบโตของเชือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Violacein 1 mg/mL	ไม่มีเชื้อเจริญ	ไม่มีเชื้อเจริญ
Violacein 0.5 mg/mL	ไม่มีเชื้อเจริญ	ไม่มีเชื้อเจริญ
Violacein 0.25 mg/mL	มีเชื้อเจริญ	-
DMSO	มีเชื้อเจริญ	มีเชื้อเจริญ
เชื้อ	มีเชื้อเจริญ	มีเชื้อเจริญ
Clindamycin 1 µg/mL	มีเชื้อเจริญ	มีเชื้อเจริญ
รูปประกอบ		

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีน

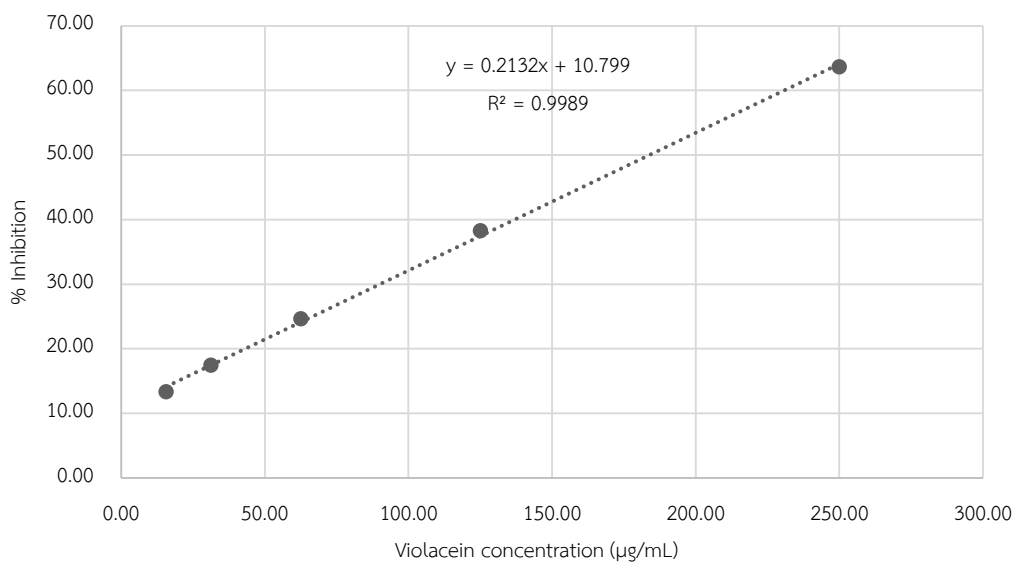
2.1. การทดสอบ DPPH assay

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีนในตัวทำละลายเอทานอลโดยใช้วิธีการทดสอบ DPPH assay สามารถนำมาคำนวณหาค่า % Inhibition ที่ค่า $\lambda_{517 \text{ nm}}$ ในแต่ละครั้งได้ผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไวโอลาซีน ในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดไวโอลาซีนในเอทานอล (µg/mL)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH			
	(1)	(2)	(3)	(\bar{x}) ± SD
15.63	10.11	9.20	20.65	13.32 ± 6.37
31.25	14.77	17.51	20.02	17.43 ± 2.62
62.50	24.26	23.81	25.81	24.63 ± 1.05

ความเข้มข้นสุดท้ายของ สารสกัดไวโอลาซินในเอทานอล ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH			
	(1)	(2)	(3)	(\bar{x}) \pm SD
125.00	38.18	34.79	41.78	38.25 \pm 3.49
250.00	60.96	64.91	64.97	63.62 \pm 2.30
500.00	84.45	83.38	114.69	94.17 \pm 17.78



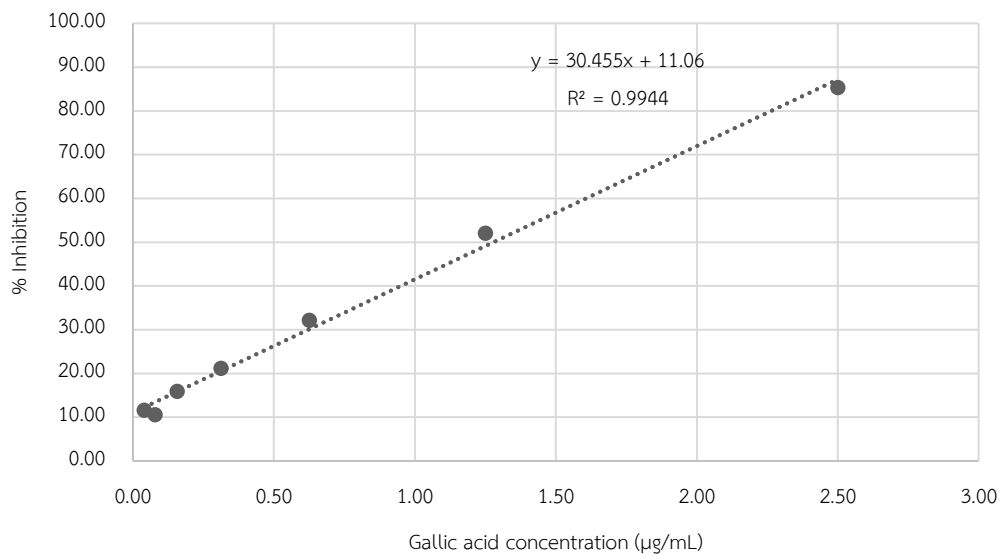
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นสารสกัดไวโอลาซินในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ DPPH assay

จากสมการที่ได้จากกราฟข้างต้น (รูปที่ 5) สามารถนำมาคำนวณหาค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดไวโอลาซินที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ได้เท่ากับ $183.87 \pm 8.92 \mu\text{g/mL}$

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid โดยใช้วิธีการทดสอบ DPPH assay สามารถนำมาคำนวณหาค่า % Inhibition ที่ค่า $\lambda_{517 \text{ nm}}$ ในแต่ละครั้งได้ผลดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay

ความเข้มข้นสุดท้ายของ สารมาตรฐาน Gallic acid ในเอทานอล ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH			
	(1)	(2)	(3)	(\bar{x}) \pm SD
0.04	11.35	11.87	11.51	11.58 \pm 0.26
0.08	14.70	8.01	8.88	10.53 \pm 3.63
0.16	18.35	14.24	15.05	15.88 \pm 2.18
0.31	25.43	17.51	20.39	21.11 \pm 4.01
0.63	36.00	28.34	31.99	32.11 \pm 3.83
1.25	56.22	48.00	51.81	52.01 \pm 4.12
2.50	82.97	81.68	91.20	85.28 \pm 5.17



รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้น Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ DPPH assay

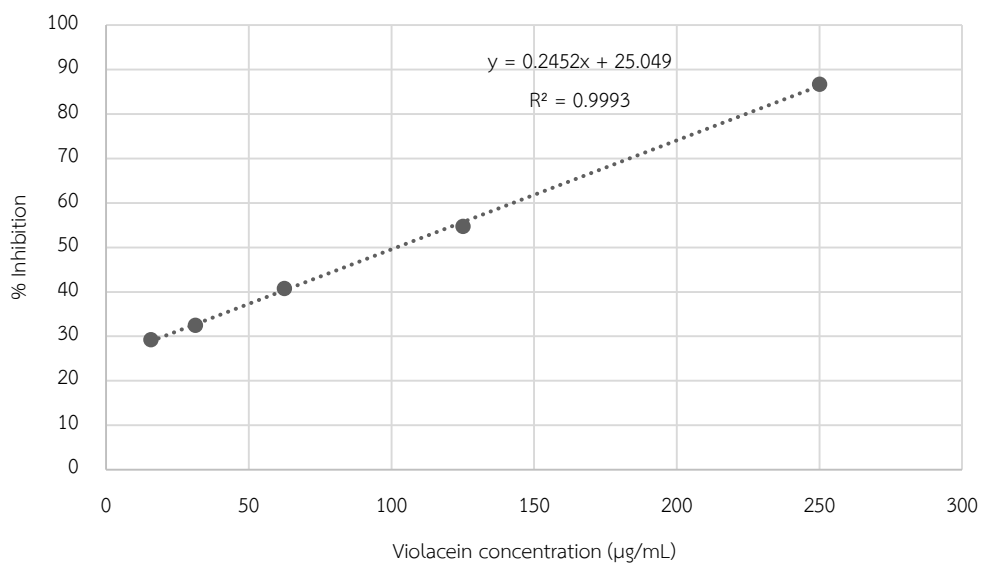
จากสมการที่ได้จากราฟข้างต้น (รูปที่ 6) สามารถนำมาคำนวณหาค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% ได้เท่ากับ $1.21 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$

2.2. การทดสอบ ABTS assay

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีนในตัวทำละลายเอทานอลโดยใช้วิธีการทดสอบ ABTS assay สามารถนำมาคำนวณหาค่า % Inhibition ที่ค่า $\lambda_{734 \text{ nm}}$ ในแต่ละครั้งได้ผลดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซีนในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นสุดท้ายของ สารสกัดไวโอลาซีนในเอทานอล ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS			
	(1)	(2)	(3)	(\bar{x}) \pm SD
15.625	29.27	11.76	17.04	19.36 \pm 8.98
31.25	32.50	23.14	23.24	26.29 \pm 5.37
62.50	40.78	38.02	39.80	39.53 \pm 1.40
125.00	54.73	55.85	53.58	54.72 \pm 1.14
250.00	83.14	80.20	82.64	81.99 \pm 1.58
500.00	86.73	102.84	97.86	95.81 \pm 8.25



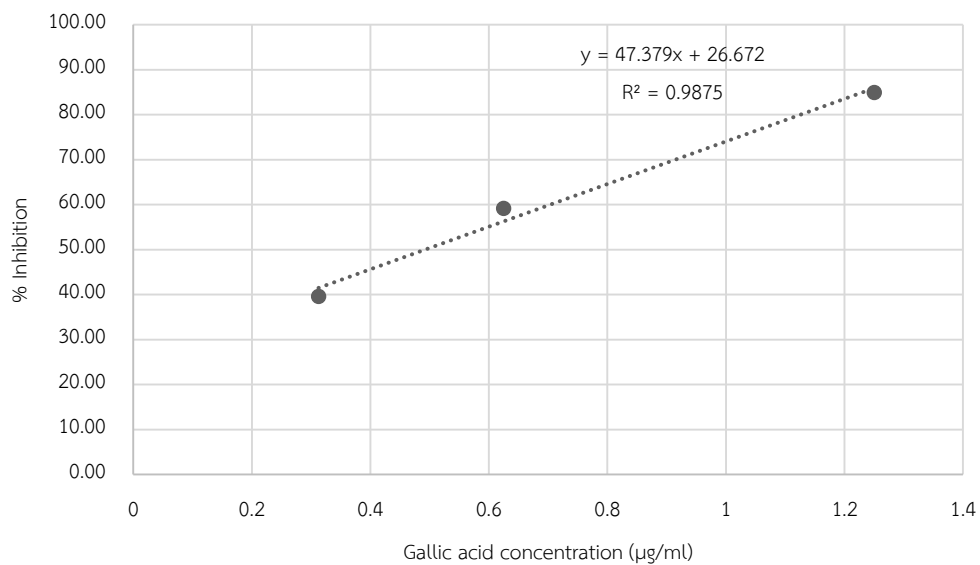
รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นสารสกัดไวโอลาซีนในตัวทำละลายเอทานอลโดยใช้วิธีการทดสอบ ABTS assay

จากสมการที่ได้จากการฟิตติ้ง (รูปที่ 7) สามารถนำมาคำนวณหาค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของไวโอลาซีน ที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % ได้เท่ากับ $106.56 \pm 3.81 \mu\text{g/mL}$

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid โดยใช้วิธีการทดสอบ ABTS assay สามารถนำมาคำนวณหาค่า % Inhibition ที่ค่า $\lambda_{734 \text{ nm}}$ ในแต่ละครั้งได้ผลดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS assay

ความเข้มข้นสุดท้ายของ สารมาตรฐาน Gallic acid ในเอทานอล ($\mu\text{g/mL}$)	ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS			
	(1)	(2)	(3)	(\bar{x}) \pm SD
0.3125	32.80	54.48	31.38	39.55 ± 12.95
0.625	46.81	72.87	57.83	59.17 ± 13.08
1.25	79.23	93.22	82.35	84.93 ± 7.34



รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ % Inhibition กับ ความเข้มข้นของ Gallic acid ในตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการทดสอบ ABTS assay

จากสมการที่ได้จากการฟิตติ้ง (รูปที่ 8) สามารถนำมาคำนวณหาค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % ได้เท่ากับ $0.47 \pm 0.29 \mu\text{g/mL}$

3. ผลการประเมินตำรับ

ผลการประเมินตำรับแต่ละตำรับทั้งหมด 17 ตำรับ แสดงค่าในตารางที่ 16 จากนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์สร้างสมการ Partial least square regression (PLS) แสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 16 ผลการประเมินตำรับแต่ละตำรับ 17 สูตร

Run	Factors			Response						
	A	B	C	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
1	25.00	20.00	10.00	1.14	0.0454	0.0896	192.89	0.0465	42.92	0.0587
2	20.00	15.00	7.00	1.59	0.0217	0.0572	266.02	0.0215	26.98	0.0785
3	15.00	20.00	10.00	1.68	0.0116	0.0457	145.44	0.0314	15.20	0.0092
4	20.00	15.00	1.95	1.17	0.0582	-	-	-	40.89	-
5	20.00	15.00	7.00	1.46	0.0271	0.1040	136.18	0.0764	19.07	0.0075
6	15.00	20.00	4.00	1.57	0.0137	0.0572	192.67	0.0297	21.04	0.0349
7	20.00	15.00	7.00	1.83	0.0248	0.1635	128.08	0.1277	18.19	0.0100
8	25.00	20.00	4.00	0.81	0.0708	0.0905	261.52	0.0346	43.31	0.1431
9	25.00	10.00	10.00	1.07	0.0587	0.2429	125.17	0.1940	19.37	0.0031
10	28.41	15.00	7.00	0.84	0.1075	0.1235	228.70	0.0540	33.04	0.1158
11	11.59	15.00	7.00	1.59	0.0076	0.0849	149.23	0.0569	9.35	0.0166
12	20.00	15.00	12.05	2.26	0.0240	0.1105	162.91	0.0678	18.35	0.0070
13	25.00	10.00	4.00	0.83	0.0694	0.2034	185.08	0.1099	35.82	0.1117
14	20.00	6.59	7.00	1.30	0.0236	0.0659	129.54	0.0509	15.03	0.0007
15	15.00	10.00	10.00	1.34	0.0094	0.1282	130.37	0.0983	8.45	0.0060
16	15.00	10.00	4.00	1.27	0.0136	-	-	-	13.20	-
17	20.00	23.41	7.00	1.18	0.0284	0.0417	293.96	0.0142	12.73	0.0744

ตารางที่ 17 สมการ Partial least square regression (PLS)

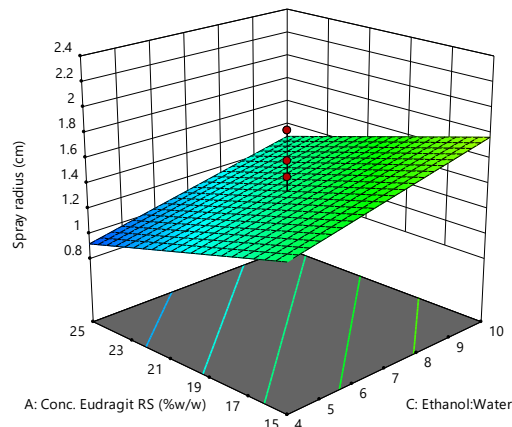
Partial least square regression (PLS) model	p-value	F-value	Predicted R ²	Adjusted R ²
$R_1 = -0.239173A + 0.188781C + 1.34824$	0.0045	8.15	0.2860	0.4721
$R_2 = 0.0105942A^2 + 0.0266482A + 0.00476177C^2 - 0.00733585C + 0.023869$	<0.0001	68.59	0.8785	0.9441
$R_3 = -0.0348908B + 0.109571$	0.0270	6.21	-0.0681	0.2711
$R_4 = 35.4722B + 179.485$	0.0193	7.12	0.1587	0.3041
$R_5 = -0.0309216B + 0.0696481$	0.0155	7.75	0.0607	0.3253
$R_6 = 9.03296A - 4.78505C + 23.1139$	0.0007	12.73	0.4687	0.5946
$R_7 = 0.0279383A - 0.0309171C + 0.0488157$	0.0024	10.43	0.4822	0.5740

3.1. รัศมีของสเปรย์ (Spray radius, R₁)

ความสัมพันธ์ของค่ารัศมีของสเปรย์ (R₁) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0045) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่ารัศมีของสเปรย์ (R₁) ได้แก่ ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 (A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0068) และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0254) ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_1 = -0.239173A + 0.188781C + 1.34824$$

ซึ่งหมายถึงรัศมีของสเปรย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 ลดลง และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำเพิ่มขึ้น โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 9



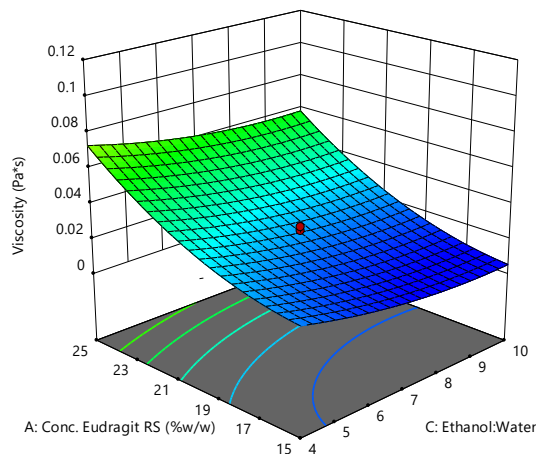
รูปที่ 9 พื้นที่การตอบสนองของค่ารัศมีของสเปรย์ (Spray radius) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ

3.2. ความหนืด (Viscosity, R_2)

ความสัมพันธ์ของค่าความหนืด (R_2) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Quadratic อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.0001) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความหนืด (R_2) ได้แก่ ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 (A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.0001), ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 กำลังสอง (A^2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0001), อัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0014) และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำกำลังสอง (C^2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0258) ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_2 = 0.0105942A^2 + 0.0266482A + 0.00476177C^2 - 0.00733585C + 0.023869$$

ซึ่งหมายถึงความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 เพิ่มขึ้น และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำลดลง โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 10



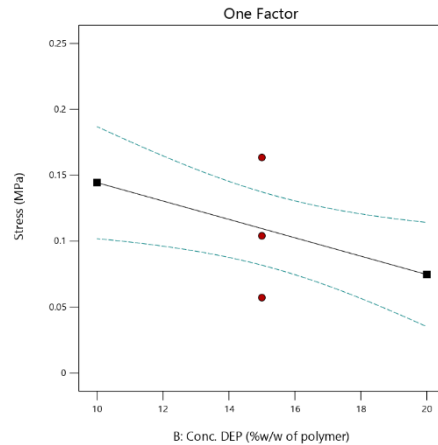
รูปที่ 10 พื้นที่การตอบสนองของค่าความหนืด (Viscosity) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ

3.3. ความเค้น (Stress, R_3)

ความสัมพันธ์ของค่าความเค้น (R_3) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0270) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความเค้น (R_3) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0270) เท่านั้น ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_3 = -0.0348908B + 0.109571$$

ซึ่งหมายถึงความเค้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate ลดลง โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 11



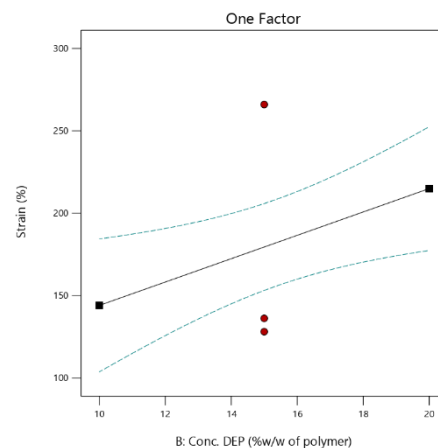
รูปที่ 11 พื้นที่การตอบสนองของค่าความเค้น (Stress) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate

3.4. ความเครียด (Strain, R_4)

ความสัมพันธ์ของค่าความเครียด (R_4) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0193) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความเครียด (R_4) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0193) เท่านั้น ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_4 = 35.4722B + 179.485$$

ซึ่งหมายถึงความเครียดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate เพิ่มขึ้น โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 12



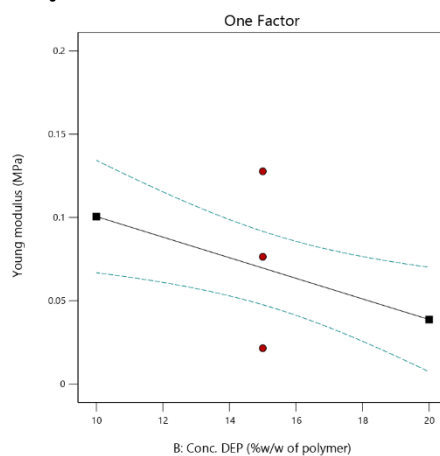
รูปที่ 12 พื้นที่การตอบสนองของค่าความเครียด (Strain) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate

3.5. Young modulus (R_5)

ความสัมพันธ์ของค่า Young modulus (R_5) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0155) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า Young modulus (R_5) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0155) เท่านั้น ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_5 = -0.0309216B + 0.0696481$$

ซึ่งหมายถึง Young modulus จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate ลดลง โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 13



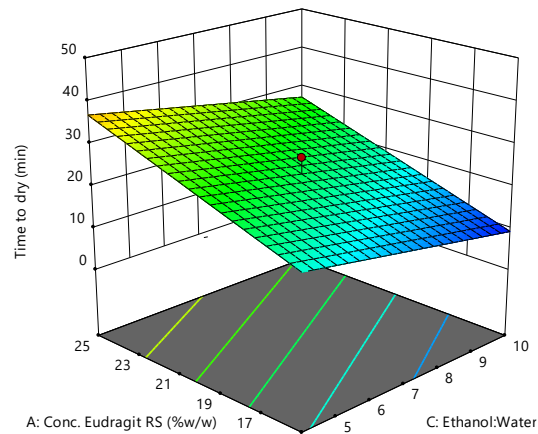
รูปที่ 13 พื้นที่การตอบสนองของค่า Young modulus ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Diethyl phthalate

3.6. ระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (Time to dry, R_6)

ความสัมพันธ์ของค่าระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (R_6) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบเส้นตรง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0007) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (R_6) ได้แก่ ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 (A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0005) และ อัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0332) ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_6 = 9.03296A - 4.78505C + 23.1139$$

ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ทำให้แห้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 เพิ่มขึ้น และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำลดลง โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 14



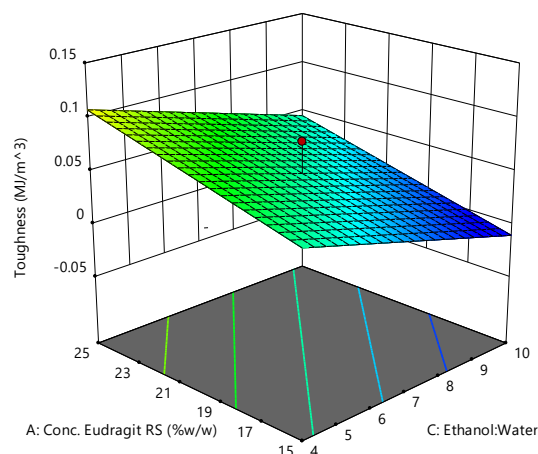
รูปที่ 14 พื้นที่การตอบสนองของค่าระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (Time to dry) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ

3.7. ความทนทาน (Toughness, R_7)

ความสัมพันธ์ของค่าความทนทาน (R_7) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0024) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความทนทาน (R_7) ได้แก่ ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 (A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0088) และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0116) ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ดังนี้

$$R_7 = 0.0279383A - 0.0309171C + 0.0488157$$

ซึ่งหมายถึงความทนทานจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 เพิ่มขึ้น และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำลดลง โดยมีกราฟพื้นที่การตอบสนองดังรูปที่ 15



รูปที่ 15 พื้นที่การตอบสนองของค่าความทนทาน (Toughness) ที่มีผลมาจากความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ

4. การหาสูตรตำรับที่เหมาะสม

หลังจากได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression (PLS) และพื้นที่การตอบสนอง จึงกำหนดเกณฑ์ของแต่ละ Factors และ Response เพื่อทำนายตำรับที่ดีที่สุด ซึ่งได้ผลทั้งหมด 53 ตำรับ และเลือกตำรับที่มีค่า Desirability มากที่สุด คือเท่ากับ 0.566 ซึ่งได้ค่าของ Factors และ Response จากการทำนายของตำรับนี้ ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ค่าของ Factors และ Response จากการทำนายของตำรับที่มีค่า Desirability เท่ากับ 0.566

Factors	Goal	Predicted Value
A	is in range, 15 - 25	17.41
B	is in range, 10 - 20	20.00
C	is in range, 4 - 10	4.00
R ₁	maximize, 0.81 - 2.26	1.2830
R ₂	is in range, 0.025 - 0.045	0.0250
R ₃	minimize, 0.041658 - 0.242853	0.0750
R ₄	maximize, 125.1653 - 293.9633	214.9570
R ₅	minimize, 141.7127 - 1940.254	0.0390
R ₆	minimize, 8.44963 - 43.30747	23.2160
R ₇	maximize, 0.000702 - 0.143117	0.0650

เมื่อเตรียมตำรับที่ดีที่สุด และนำไปประเมินในหัวข้อต่าง ๆ ได้ค่าจริงเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทำนาย ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนายและค่าจริงที่ได้จากการทดลองของตำรับที่ดีที่สุด



Response	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าจริงที่ได้จากการทดลอง	ร้อยละการทำนาย
R ₁	1.28	1.60	75.33
R ₂	0.0250	0.0169	67.67
R ₃	0.0747	0.0379	50.69
R ₄	214.96	280.94	69.30
R ₅	0.0387	0.0135	34.80

Response	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าจริงที่ได้จากการทดลอง	ร้อยละการทำนาย
R ₆	23.22	13.94	60.06
R ₇	0.0652	0.0530	81.25

4.1. ผลการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน

การทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน โดยวิธี Agar well diffusion และวัด Inhibition zone ได้ผลดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 Inhibition zone ของตำรับต่าง ๆ

	Inhibition zone (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
ตำรับ	11.1 ± 0.20	9.5 ± 0.49
ตำรับที่มีสารสกัดViolacein 2.5 mg/mL	10.9 ± 0.13	10.0 ± 0.55
ตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน 5.0 mg/mL	11.8 ± 0.50	11.0 ± 0.00
ตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน 10.0 mg/mL	10.9 ± 0.20	10.8 ± 0.41
น้ำกลั่น	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00
Reference Product	0.0 ± 0.00	0.0 ± 0.00
ตำรับที่มี Clindamycin 25 µg/mL	28.8 ± 0.59	28.3 ± 1.34
รูปประกอบ		

4.2. ผลการประเมินตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน เข้มข้น 2.5 mg/mL

เมื่อใส่สารสกัดไวโอลาซิน เข้มข้น 2.5 mg/mL ลงในตำรับที่ดีที่สุด และประเมินในหัวข้อต่าง ๆ ได้ผลดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทำนาย และค่าจริงที่ได้จากการทดลองของตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซีน เข้มข้น 2.5 mg/mL

Factor	ค่าที่ได้จากการทำนาย	Formulation + Violacein 2.5 mg/mL	ร้อยละการทำนาย
R ₁	1.28	1.64	72.22
R ₂	0.0250	0.0256	97.46
R ₃	0.0747	0.0306	40.97
R ₄	214.96	218.84	98.19
R ₅	0.0387	0.0140	36.10
R ₆	23.22	22.80	98.21
R ₇	0.0652	0.0229	35.17

บทที่ 5

สรุป และอภิปรายผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซิน

จากผลการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของสารสกัดไวโอลาซิน พบว่า Positive control คือ Clindamycin 1 µg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และ Negative control คือ หลอดที่มีเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการและสภาวะในการทดลองสามารถใช้ทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อได้ โดยความเข้มข้นของไวโอลาซิน ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้เท่ากับ 0.25 และ 0.5 mg/mL ตามลำดับ และความเข้มข้นของไวโอลาซินต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าทั้ง *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้เท่ากับ 0.5 mg/mL ซึ่งไม่ได้มีผลมาจาก DMSO ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย โดยกลไกการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดไวโอลาซินคือ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแตกออกและทำให้มีการรั่วไหลของโปรตีน โพแทสเซียม (K⁺) และ ATP ออกนอกเซลล์ (55)

2. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซิน

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซินเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid โดยใช้การทดสอบ 2 วิธี ได้แก่ DPPH assay และ ABTS assay ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ได้ค่า IC₅₀ คือ ความเข้มข้นของสารสกัดไวโอลาซินที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % ได้ที่ความเข้มข้น 183.87 ± 8.92 µg/mL และ สารมาตรฐาน Gallic acid ได้ค่า IC₅₀ ที่ความเข้มข้น 1.21 ± 0.17 µg/mL จึงแสดงให้เห็นว่า สารสกัดไวโอลาซินมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน Gallic acid ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับวิธีการทดสอบด้วยวิธี ABTS assay ได้ค่า IC₅₀ ของสารสกัดไวโอลาซินที่ความเข้มข้น 106.56 ± 3.81 µg/mL และ สารมาตรฐาน Gallic acid ได้ค่า IC₅₀ ที่ความเข้มข้น 0.47 ± 0.29 µg/mL ซึ่งผลจากการทดสอบในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Remya K และคณะ ที่ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดไวโอลาซินเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid โดยการทดสอบ Nitric oxide radical scavenging activity พบว่าสารสกัดไวโอลาซินมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระที่ค่า IC₅₀ ที่ความเข้มข้นสูงกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid และเมื่อทำการทดสอบ สารสกัดไวโอลาซินเทียบกับสารมาตรฐาน ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay พบว่าสารสกัดไวโอลาซินมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระที่ค่า IC₅₀ ที่ความเข้มข้นสูงกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid ดังนั้นสารสกัดไวโอลาซินมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูล

อิสระได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid ดังนั้นจึงพบว่าสารสกัดไวโอลาซินมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระได้ แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน ได้แก่ Gallic acid และ Ascorbic acid (56)

3. การประเมินสมบัติทางกายภาพของตำรับ

3.1. รัศมีของสเปรย์ (Spray radius, R_1)

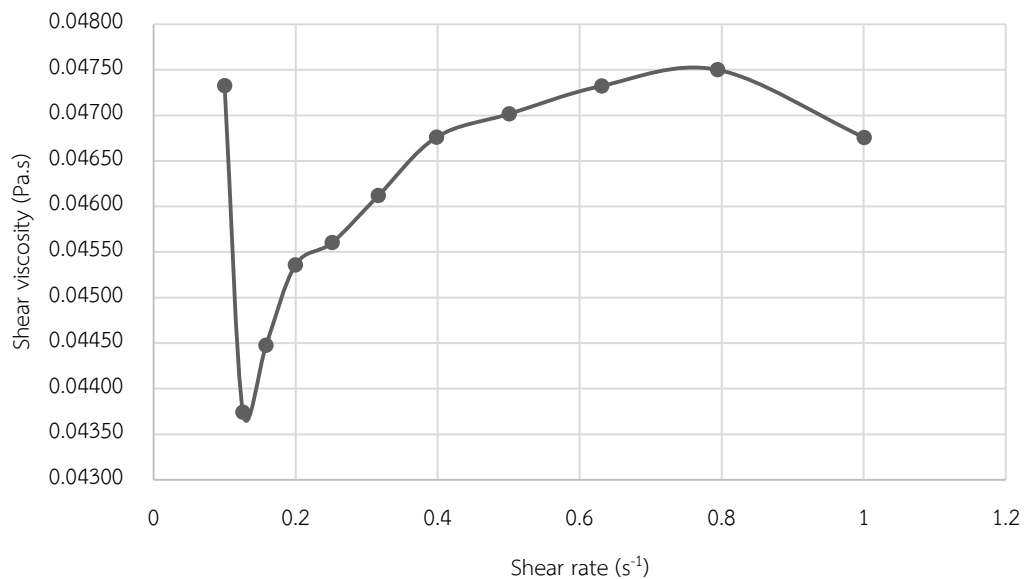
จากการทดสอบรัศมีของสเปรย์ (Spray radius) พบว่า รัศมีของสเปรย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อลดความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ เป็นผลมาจากการลดความเข้มข้นของพอลิเมอร์ทำให้ความหนืดของตำรับลดลง จึงสามารถที่จะพ่นตำรับออกมาจากหัวสเปรย์ได้ง่ายจึงกระจายตัวได้ดี และรัศมีของการสเปรย์เป็นวงกว้างว่าตำรับที่มีความเข้มข้นของพอลิเมอร์สูง และจากงานวิจัยของ Mukesh C. Gohel และคณะ พบว่า Eudragit® RS 100 มีสมบัติในการเพิ่มความสามารถในการสเปรย์ตำรับ (Sprayability) ได้ดี (20)

3.2. ความหนืด (Viscosity, R_2)

จากการศึกษาสมบัติการไหล และความหนืดพบว่า ความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ โดยตำรับที่เป็น formulation และ formulation + สารสกัดไวโอลาซิน 2.5 mg/mL ค่าความหนืดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 0.0169 และ 0.0256 Pa·s ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใส่สารสกัดไวโอลาซิน ลงในตำรับทำให้ค่าความหนืดของตำรับเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ซึ่งค่าความหนืดของตำรับที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Patel HM และคณะ ที่พบว่าในการพัฒนาสูตรตำรับ Film-forming topical spray ค่าความหนืดที่เหมาะสม คือช่วงความหนืดที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0250 - 0.0450 Pa·s เนื่องจากเป็นช่วงค่าความหนืดที่เหมาะสมที่สุดที่จะทำให้สามารถพ่นตำรับออกจากหัวสเปรย์ได้ และทำให้เมื่อสเปรย์แล้วตำรับจะอยู่บนผิวหนังได้โดยไม่เกิดการไหลเอี่ยมหรือซึมเข้าสู่ผิวหนัง จนกระทั่งตำรับจะก่อฟิล์ม และแห้งเคลือบติดกับผิวหนัง (57)

จากรูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 \text{ s}^{-1}$) และ Shear viscosity ลักษณะความชันของกราฟ (Flow curve) แสดงให้เห็นว่าพฤติกรรมการไหลของตำรับแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ เมื่อมีแรงกระทำในช่วงแรกที่ shear rate $0.1 - 0.1259 \text{ s}^{-1}$ จะส่งผลให้ตำรับมีความหนืดลดลง ซึ่งตรงกับสมบัติการไหลประเภท Pseudoplastic แต่ต่อมาเมื่อให้แรงเพิ่มมากขึ้น shear rate $0.1584 - 100 \text{ s}^{-1}$ พบว่าความหนืดของตำรับเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่งความหนืดจะคงที่ ซึ่งตรงกับสมบัติการไหลประเภท Dilatant พฤติกรรมการไหลของตำรับดังกล่าวที่มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติการไหลแยกออก 2 ช่วง อาจเป็นผลมาจากการใส่พลาสติกไซเซอร์ในตำรับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Saide O. UmERoVA และคณะ ที่มีการศึกษาสมบัติการไหลเมื่อใส่พลาสติกไซเซอร์ลงในสารละลายพอลิเมอร์ โดยพบว่า สารละลายพอลิเมอร์ Ethyl cellulose (EC) ในตัวทำละลาย Terpineol (ไม่มี Plasticizer) พบว่าในช่วงที่มีค่า Shear rate ต่ำ สมบัติการไหลของสารละลายเป็น

ประเภท Rheopexic และเมื่อ Shear rate สูงขึ้นพบว่า สมบัติการไหลของสารละลายเป็นประเภท Pseudoplastic และเมื่อทำการเติม Dibutyl phthalate (DBP) ซึ่งเป็นพลาสติกไซเซออร์ลงในตำรับพบว่า มีการแบ่งสมบัติการไหลเป็น 3 ช่วงได้แก่ rheopexic, pseudoplastic และ thixotropic ตามลำดับ และพบว่าความแตกต่างของปริมาณพลาสติกไซเซออร์อาจส่งผลกับพฤติกรรมกรการไหลของสารละลาย เนื่องจากใส่พลาสติกไซเซออร์อาจทำให้ EC ก่อตัวเป็นโครงร่างได้ชั่วคราว เนื่องจาก DBP ถูกดูดซับบน โมเลกุลของ EC จึงอาจทำให้ Conformation ของ EC เปลี่ยนแปลงไป (58)



รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate (0.1-100 s⁻¹) และ Shear viscosity

3.3. สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม ได้แก่ ความเค้น (Stress, R₃) ความเครียด (Strain, R₄)

Young modulus (R₅) และความทนทาน (Toughness, R₇)

จากความสัมพันธ์ของค่าความเค้น (R₃) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0270) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความเค้น (R₃) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) ซึ่งหมายถึงความเค้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate ลดลง ความสัมพันธ์ของค่าความเครียด (R₄) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบ Linear อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0193) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า ความเครียด (R₄) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) ซึ่งหมายถึงความเครียดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate เพิ่มขึ้น และความสัมพันธ์ของค่า Young modulus (R₅) เป็นไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.0155) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า Young modulus (R₅) คือ ความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) ซึ่งหมายถึง Young modulus (R₅) จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Diethyl phthalate ลดลง ดังนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Diethyl phthalate (B) ทำให้ค่าความเค้น (R₃) และ Young modulus (R₅) มีค่าลดลง แต่ค่าความเครียด

(R_d) มีค่าเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonfaung P และคณะ ที่มีการใช้ชนิดของพลาสติกไซเซออร์กุ่มพทาเลทเอสเทอร์ พบว่าเมื่อมีการเติมพลาสติกไซเซออร์กุ่มพทาเลทเอสเทอร์ ในปริมาณที่มากขึ้นส่งผลให้ค่าความเค้น และ Young modulus มีค่าลดลง จากการที่พลาสติกไซเซออร์กุ่มพทาเลทเอสเทอร์ เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่คาร์บอกซิเลท 2 หมู่ แต่ละโมเลกุลเชื่อมต่อกันด้วยแรง Vander Waal จะแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ ส่งผลให้ลดแรงระหว่างโมเลกุลซึ่งจะไปลดการเกาะติดกันระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ในขณะที่ความเครียดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมาก แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติของฟิล์มมีความยืดหยุ่นที่มากขึ้นและมีความเปราะที่ลดลง (59)

ความสัมพันธ์ของค่าความทนทาน (R_7) เปลี่ยนไปในรูปแบบความสัมพันธ์แบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ (p -value = 0.0024) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความทนทาน (R_7) ได้แก่ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 (A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0088) และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.0116) ได้สมการความสัมพันธ์ Partial least square regression ซึ่งหมายถึงความทนทานจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Asasutjarit R และคณะ ที่กล่าวถึงคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่มีการใช้ตัวทำละลายที่ไม่ละลายน้ำเป็นส่วนประกอบในตำรับ เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในตำรับ ส่งผลทำให้ค่าความเครียด และความเค้นมีค่าสูงขึ้น ทำให้ค่าความทนทานที่เป็นพื้นที่ใต้เส้นโค้งของความสัมพันธ์ระหว่างความเครียด และความเค้นสูงขึ้นตามความเข้มข้นของพอลิเมอร์เช่นกัน (60) และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำส่งผลให้ความทนทานสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wetchakun C และคณะ ที่กล่าวว่าเมื่อเพิ่มเอทานอลจะทำให้ Crosslink density ลดลง ส่งผลให้ระยะห่างระหว่างพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ทำให้แรงระหว่างพอลิเมอร์ลดลง ส่งผลให้ค่า Toughness หรือความทนทานลดลง (61)

3.4. ระยะเวลาที่ทำให้แห้ง (Time to dry, R_6)

จากผลการสอบหาระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้ง พบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งคือ ความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 จะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งมากขึ้น ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Reid ML และคณะ (62) ที่กล่าวว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์จะทำให้อัตราการระเหยลดลง หรือทำให้ระยะเวลาที่ทำให้แห้งเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ส่งผลให้ความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น ทำให้เอทานอลแพร่ไปที่ผิวหน้าของฟิล์มได้ยากขึ้น จึงลดการสัมผัสระหว่างเอทานอลกับอากาศ ทำให้อัตราการระเหยลดลง ส่งผลให้ฟิล์มใช้เวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งมากขึ้น (63) และเมื่อลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ จะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งเพิ่มขึ้น เนื่องจากการลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ ทำให้ในตำรับมีน้ำมากขึ้น ซึ่งน้ำมีอัตรา

การระเหยที่ต่ำกว่าเอทานอล จึงทำให้ระยะเวลาที่ทำให้แห้งเพิ่มขึ้น (41) และเมื่อใส่สารสกัดไวโอลาซิน ทำให้ระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลเช่นเดียวกับการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์

4. การหาสูตรตำรับที่เหมาะสม

จากผลการทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อของตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน โดยวิธี Agar well diffusion พบว่า Positive control คือ ตำรับที่มี Clindamycin เข้มข้น 25 µg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และ Negative control คือ น้ำกลั่นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการ และสภาวะในการทดลองสามารถใช้ทดสอบฤทธิ์การฆ่าเชื้อได้ โดยตำรับ, ตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน 2.5 mg/mL, ตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน 5.0 mg/mL และตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน 2.5 mg/mL มี Inhibition zone เท่า ๆ กัน เนื่องจากในตำรับมีส่วนประกอบของเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อได้ นอกจากนี้สารสกัดไวโอลาซิน เป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำ อยู่ใน Eudragit® RS 100 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic polymer) ทำให้ไม่เกิดปลดปล่อยสารไวโอลาซิน หรือปลดปล่อยสารไวโอลาซิน ไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (64)

จากผลการเปรียบเทียบร้อยละการทนทาน เมื่อเตรียมตำรับที่ดีที่สุด และนำไปประเมินในแต่ละหัวข้อ ค่าร้อยละของสเปรย์ (R₁) ความหนืด (R₂) ความเค้น (R₃) ความเครียด (R₄) Young modulus (R₅) เวลาที่ทำให้แห้ง (R₆) และความทนทาน (R₇) มีค่าร้อยละการทนทาน 75.33, 67.67, 50.69, 69.30, 34.80, 60.06 และ 81.25 ตามลำดับ และเมื่อใส่สารสกัดไวโอลาซิน เข้มข้น 2.5 mg/mL ลงในตำรับที่ดีที่สุด การเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทนทาน และค่าจริงที่ได้จากการทดลองของตำรับที่มีสารสกัดไวโอลาซิน เข้มข้น 2.5 mg/mL มีค่าร้อยละของสเปรย์ (R₁) ความหนืด (R₂) ความเค้น (R₃) ความเครียด (R₄) Young modulus (R₅) เวลาที่ทำให้แห้ง (R₆) และความทนทาน (R₇) มีค่าร้อยละการทนทาน 72.22, 97.46, 40.97, 98.19, 36.10, 98.21 และ 35.17 ตามลำดับ พบว่าเมื่อใส่สารสกัดไวโอลาซิน ลงในตำรับที่ดีที่สุด ทำให้ค่าร้อยละการทนทานของความเค้น (R₃) Young modulus (R₅) และความทนทาน (R₇) ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทนทานในตำรับที่ดีที่สุดที่ไม่มีสารสกัดไวโอลาซิน แสดงให้เห็นว่าการใส่สารสกัดไวโอลาซิน ลงในตำรับที่ดีที่สุดส่งผลทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลง

5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลอง พัฒนาตำรับสำหรับนำส่งสารสกัดไวโอลาซินจากแบคทีเรียทางผิวหนัง โดยระบบกักฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ พบว่าสารสกัดไวโอลาซินสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดได้ เท่ากับ 0.25 และ 0.5 mg/mL ตามลำดับ และฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดได้เท่ากับ 0.5 mg/mL และพบว่าสารสกัดไว

โกลาซีนมีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระได้ แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารมาตรฐาน ได้แก่ Gallic acid และ Ascorbic acid

ตำรับระบบก่อก่อฟิล์มในรูปแบบสเปรย์ที่ได้จาก Design of experiments แบบ Central composite design พบว่ารัศมีของสเปรย์ (Spray radius) จะกว้างขึ้นเมื่อลดความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ ความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 และลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ ช่วงค่าความหนืดที่เหมาะสมที่สุดคือช่วงจะทำให้สามารถพ่นตำรับออกจากหัวสเปรย์ได้ และทำให้เมื่อสเปรย์แล้วตำรับจะอยู่บนผิวหนังได้โดยไม่เกิดการไหลเอี่ยม หรือซึมเข้าสู่ผิวหนัง จนกระทั่งตำรับจะแห้ง ในส่วนของสมบัติความยืดหยุ่นของฟิล์มพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Diethyl phthalate ทำให้ความเค้น และ Young modulus มีค่าลดลง แต่ทำให้ความเครียดมีค่าเพิ่มขึ้น และค่าความทนทานจะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 เพิ่มขึ้น และลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ ในส่วนของปัจจัยที่ส่งผลต่อระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้ง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Eudragit® RS 100 จะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งมากขึ้น เมื่อลดอัตราส่วนระหว่างเอทานอลกับน้ำ จะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มแห้งเพิ่มขึ้น และพบว่าตำรับ, ตำรับที่มีสารสกัดไวโกลาซีน 2.5 mg/mL, ตำรับที่มีสารสกัดไวโกลาซีน 5.0 mg/mL และตำรับที่มีสารสกัดไวโกลาซีน 10 mg/mL มี Inhibition zone เท่า ๆ กัน เนื่องจากสารสกัดไวโกลาซีน เป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำ อยู่ใน Eudragit® RS 100 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic polymer) ทำให้ไม่เกิดปลดปล่อยสารไวโกลาซีน หรือปลดปล่อยสารไวโกลาซีน ไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

อย่างไรก็ตามทางคณะผู้วิจัยเห็นว่า การเลือกใช้ชนิดของพอลิเมอร์และพลาสติกไซเซออร์มีผลอย่างยิ่งในการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาจากตำรับสำหรับนำส่งสารโดยระบบก่อก่อฟิล์ม ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสมบัติของพอลิเมอร์, พลาสติกไซเซออร์และสารสำคัญในแง่ความเข้ากันได้ หรือ ในการเพิ่ม permeability ของฟิล์ม เพื่อให้ฟิล์มปลดปล่อยสารออกมาได้ และในการทำตำรับในรูปแบบสเปรย์ควรศึกษาเพิ่มเติมว่าองค์ประกอบของตำรับส่งผลต่อความหนืด และสมบัติการไหลอย่างไรเพราะจะส่งผลต่อความสามารถในการสเปรย์ตำรับ

เอกสารอ้างอิง

1. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015;40(4):277-83.
2. Duffy E. Should I prescribe a topical antiseptic cream instead of a topical antibiotic for minor skin infections? *Best Practice*. 2015(68):18-20.
3. Lee YJ, Bashyal P, Pandey RP, Sohng JK. Enzymatic and Microbial Biosynthesis of Novel Violacein Glycosides with Enhanced Water Solubility and Improved Antinematode Activity. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2019;24(2):366-74.
4. Hizbullahi UM, Nafi'u A, Mustapha G, Hauwa'u MM. Bacterial pigments and its significance. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*. 2017;4(3):285-8.
5. Atalah J, Blamey L, Muñoz-Ibacache S, Gutierrez F, Urzua M, Encinas MV, et al. Isolation and characterization of violacein from an Antarctic *Iodobacter*: a non-pathogenic psychrotolerant microorganism. *Extremophiles*. 2020;24(1):43-52.
6. Mishra M. Semisolid dosage forms manufacturing: Tools, critical process parameters, strategies, optimization and recent advances. 2018.
7. Patel D, Chaudhary SA, Parmar B, Bhura N. Transdermal drug delivery system: a review. *The pharma innovation*. 2012;1(4):66-75.
8. Kathe K, Kathpalia H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017;12(6):487-97.
9. Venegas FA, Köllisch G, Mark K, Diederich WE, Kaufmann A, Bauer S, et al. The Bacterial Product Violacein Exerts an Immunostimulatory Effect Via TLR8. *Scientific Reports*. 2019;9(1):13661.
10. Vishnu T, Palaniswamy M. Isolation and identification of chromobacterium sp. from different ecosystems. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016;9:253-7.
11. Nakamura Y, Asada C, Sawada T. Production of antibacterial violet pigment by psychrotropic bacterium RT102 strain. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2003;8(1):37-40.
12. Bromberg N, Justo GZ, Haun M, Durán N, Ferreira CV. Violacein cytotoxicity on human blood lymphocytes and effect on phosphatases. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2005;20(5):449-54.

13. Konzen M, De Marco D, Cordova CA, Vieira TO, Antônio RV, Creczynski-Pasa TB. Antioxidant properties of violacein: possible relation on its biological function. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2006;14(24):8307-13.
14. Venil CK, Zakaria ZA, Ahmad WA. Bacterial pigments and their applications. *Process Biochemistry*. 2013;48(7):1065-79.
15. McCaig LF, McDonald LC, Mandal S, Jernigan DB. Staphylococcus aureus-associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(11):1715-23.
16. Chapter 3 - Supragingival Microbes. In: Zhou X, Li Y, editors. *Atlas of Oral Microbiology*. Oxford: Academic Press; 2015. p. 41-65.
17. El-Ferjani RM, Ahmad M, Dhiyaaldeen SM, Harun FW, Ibrahim MY, Adam H, et al. In vivo Assessment of Antioxidant and Wound Healing Improvement of a New Schiff Base Derived Co (II) Complex in Rats. *Scientific Reports*. 2016;6(1):38748.
18. . !!! INVALID CITATION !!! {}.
19. Muro S. Structure and Function of Epithelial and Endothelial Barrier. In: Muro s, editor. *Drug Delivery Across Physiological Barriers*,2016. p. 3-40.
20. Gohel MC, Nagori SA. Fabrication of modified transport fluconazole transdermal spray containing ethyl cellulose and Eudragit RS1 0 0 as film formers. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(2):684-91.
21. Mori NM, Patel P, Sheth NR, Rathod LV, Ashara KC. Fabrication and characterization of film-forming voriconazole transdermal spray for the treatment of fungal infection. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 2017;55(1):41-51.
22. Tran TTD, Tran PHL. Controlled Release Film Forming Systems in Drug Delivery: The Potential for Efficient Drug Delivery. *Pharmaceutics*. 2019;11(6):290.
23. Ranade S, Bajaj A, Londhe V, Babul N, Kao D. Fabrication of topical metered dose film forming sprays for pain management. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017;100:132-41.
24. Donnelly RF, Singh TRR. Film-Forming and Heated Systems. *Novel Delivery Systems for Transdermal and Intradermal Drug Delivery*2015. p. 97-124.
25. Na Y-G, Huh HW, Kim M-K, Byeon J-J, Han M-G, Lee H-K, et al. Development and evaluation of a film-forming system hybridized with econazole-loaded

- nanostructured lipid carriers for enhanced antifungal activity against dermatophytes. *Acta Biomaterialia*. 2020;101:507-18.
26. Kim DW, Kim KS, Seo YG, Lee B-J, Park YJ, Youn YS, et al. Novel sodium fusidate-loaded film-forming hydrogel with easy application and excellent wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;495(1):67-74.
 27. Chandak AR, Verma PRP. Development and Evaluation of HPMC Based Matrices for Transdermal Patches of Tramadol. *Clinical Research and Regulatory Affairs*. 2008;25(1):13-30.
 28. Vijaya R, Chokkalingam P, Anuzvi A, Sanoj V, Kumar J. Study of the hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) combinations in the development of transdermal film for amitriptyline HCl and their in vitro characterization. *Int J Pharm Chem Biol Sci*. 2015;5:548-56.
 29. Patel DP, Setty CM, Mistry GN, Patel SL, Patel TJ, Mistry PC, et al. Development and Evaluation of Ethyl Cellulose-Based Transdermal Films of Furosemide for Improved In Vitro Skin Permeation. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(2):437-42.
 30. Klucel™ Hydroxypropylcellulose Physical and Chemical Properties [Available from: https://www.ashland.com/file_source/Ashland/Product/Documents/Pharmaceutical/PC_11229_Klucel_HPC.pdf].
 31. Bühler V. Polyvinylpyrrolidone excipients for pharmaceuticals: povidone, crospovidone and copovidone: Springer Science & Business Media; 2005.
 32. Kwon JS, Kim DY, Seo HW, Jeong SH, Kim JH, Kim MS. Preparation of erythromycin-loaded poly(vinylalcohol) film and investigation of its feasibility as a transdermal delivery carrier. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2014;11(3):211-6.
 33. Sun Y, Cui F, Shi K, Wang J, Niu M, Ma R. The Effect of Chitosan Molecular Weight on the Characteristics of Spray-Dried Methotrexate-Loaded Chitosan Microspheres for Nasal Administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2009;35(3):379-86.
 34. Can AS, Erdal MS, Güngör S, Özsoy Y. Optimization and characterization of chitosan films for transdermal delivery of ondansetron. *Molecules*. 2013;18(5):5455-71.
 35. Joshi M. Role of eudragit in targeted drug delivery. *Int J Curr Pharm Res*. 2013;5(2):58-62.

36. Klykken PC, Servinski MAM, Thomas X, editors. *Silicone Film-Forming Technologies for Health Care Applications* 2009.
37. Bajaj H, Kumar T, Singh V. Film forming gels: A review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7:2085-91.
38. Šveikauskaitė I, Briedis V. Effect of Film-Forming Polymers on Release of Naftifine Hydrochloride from Nail Lacquers. *International Journal of Polymer Science*. 2017;2017:1476270.
39. Frederiksen K, Guy RH, Petersson K. Formulation considerations in the design of topical, polymeric film-forming systems for sustained drug delivery to the skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015;91:9-15.
40. Williams AC, Walters KA. *Chemical penetration enhancement: possibilities and problems. Dermatologic, cosmeceutic, and cosmetic development: therapeutic and novel approaches* New York: Informa Healthcare. 2008:497-504.
41. Zurdo Schroeder I, Franke P, Schaefer UF, Lehr C-M. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2007;65(1):111-21.
42. Vij N, Saudagar R. FORMULATION, DEVELOPMENT AND EVALUATION OF FILM-FORMING GEL FOR PROLONGED DERMAL DELIVERY OF TERBINAFINE HYDROCHLORIDE. 2020.
43. Garvie-Cook H, Frederiksen K, Petersson K, Guy RH, Gordeev S. Characterization of Topical Film-Forming Systems Using Atomic Force Microscopy and Raman Microspectroscopy. *Molecular Pharmaceutics*. 2015;12(3):751-7.
44. De A, Chakraborty S, Mukherjee A. Formulation & optimization of the transdermal film of 5-FU with in-vitro and ex-vivo study using ethyl cellulose and two grades of hydroxy propyl methyl cellulose. *Pharm Sin*. 2013;4(4):103-11.
45. Garvie-Cook H, Frederiksen K, Petersson K, Guy RH, Gordeev SN. Biophysical elucidation of the mechanism of enhanced drug release and topical delivery from polymeric film-forming systems. *Journal of Controlled Release*. 2015;212:103-12.
46. Wilson DI. What is rheology? *Eye*. 2018;32(2):179-83.
47. Vieira Carlesso M. *The Foaming Behavior of Alkane Emulsified Ceramic Suspension: From LAPES to HAPES* 2008.

48. Phaechamud T, Jantadee T, Mahadlek J, Charoensuksai P, Pichayakorn W. Characterization of Antimicrobial Agent Loaded Eudragit RS Solvent Exchange-Induced In Situ Forming Gels for Periodontitis Treatment. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(2):494-508.
49. Shenoy A. *Rheology of Filled Polymer Systems*1999.
50. Sharma S, Mulvaney S, Rizvi S. *Food Process Engineering - Theory and Laboratory Experiments*2000.
51. Quinn PJ, Markey BK, Leonard F, FitzPatrick E, Fanning S. *Concise review of veterinary microbiology*: John Wiley & Sons; 2015.
52. Cappuccino JG, Sherman N. *Microbiology: a laboratory manual*. 2005.
53. Motyl M, Dorso K, Barrett J, Giacobbe R. Basic microbiological techniques used in antibacterial drug discovery. *Current protocols in pharmacology*. 2006;Chapter 13:Unit13A.3.
54. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71-9.
55. Aruldass CA, Masalamany SRL, Venil CK, Ahmad WA. Antibacterial mode of action of violacein from *Chromobacterium violaceum* UTM5 against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Environmental science and pollution research international*. 2018;25(6):5164-80.
56. K R, M M B. IN VIVO AND in VITRO ANALYSES to REVEAL THE POTENTIAL of *SOLANUM VIOLACEUM* as EFFICIENT HEPATOPROTECTIVE AGENT. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2020;7(9):41-58.
57. Patel HM, Gangat A, Patel UB, Akbari B. Fabrication and Characterization of Luliconazole Film-Forming Topical Spray for the Treatment of Fungal Infections. *Manipal Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;6(2):52-64.
58. Umerova S, Dulina I, Ragulya A. Rheology of plasticized polymer solutions. *Epitoanyag - Journal of Silicate Based and Composite Materials*. 2015;67:119-25.
59. Boonfaung P, Somwangthanaroj A, editors. *Development of Packaging Film from Bioplastic Polylactic Acid (PLA) with Plasticizers*2011.
60. Asasutjarit R, Larpmahawong P, Fuongfuchat A, Sareedenchai V, Veeranondha S. Physicochemical properties and anti-*Propionibacterium acnes* activity of film-

forming solutions containing alpha-mangostin-rich extract. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(2):306-16.

61. Wetchakun C, Puapermpoonsiri U, Sila-on W. Effect of Alcohol and Co-Film Former on The Physical and Mechanical Properties of Facial Mask Formulations. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences (IJPS)*. 2016;11:25-32.
62. Reid ML, Jones SA, Brown MB. Transient drug supersaturation kinetics of beclomethasone dipropionate in rapidly drying films. *International journal of pharmaceutics*. 2009;371(1-2):114-9.
63. Aronson CL, Catalogna JC, Webster WD. The Dynamics of Solvent Evaporation from Hydroxypropylcellulose/Methanol Solutions with Lyotropic Liquid Crystalline Capability. *Polymer Bulletin*. 2004;53(1):43-52.
64. Tapaswi, Dash T, Verma P. Matrix Tablets: An Approach towards Oral Extended Release Drug Delivery. *International journal of Pharmaceutical research & review*. 2013;2.

ภาคผนวก

ตารางที่ 22 แสดงค่าขนาดรัศมีสเปรย์ในการฉีดแต่ละรอบของแต่ละตำรับที่ทำการประเมิน

Run	รัศมีสเปรย์ในการฉีดแต่ละรอบ (เซนติเมตร)						ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	4	5	ค่าเฉลี่ย	
1	1.00	1.15	1.25	1.25	1.05	1.12	0.11
2	1.50	1.60	1.75	1.50	1.60	1.66	0.17
3	1.60	1.75	1.75	1.65	1.65	1.90	0.49
4	1.10	1.15	1.10	1.25	1.25	1.64	1.06
5	1.40	1.50	1.30	1.60	1.50	2.05	1.32
6	1.65	1.50	1.50	1.60	1.60	2.31	1.65
7	1.85	1.65	2.00	1.65	2.00	2.69	1.93
8	0.80	0.70	0.75	0.95	0.85	2.01	2.68
9	1.05	1.10	1.10	1.10	1.00	2.39	2.96
10	1.00	0.85	0.90	0.70	0.75	2.37	3.42
11	1.60	1.60	1.60	1.70	1.45	3.16	3.51
12	2.15	2.35	2.30	2.35	2.15	3.88	3.63
13	0.85	0.85	0.75	0.80	0.90	2.86	4.54
14	1.40	1.30	1.20	1.25	1.35	3.42	4.73
15	1.35	1.40	1.30	1.30	1.35	3.62	5.09
16	1.25	1.30	1.20	1.35	1.25	3.73	5.49
17	1.20	1.10	1.25	1.15	1.20	3.82	5.90
Ref	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	0.00
F	1.55	1.55	1.60	1.65	1.65	1.60	0.05
F/V	1.60	1.65	1.70	1.70	1.75	1.68	0.06

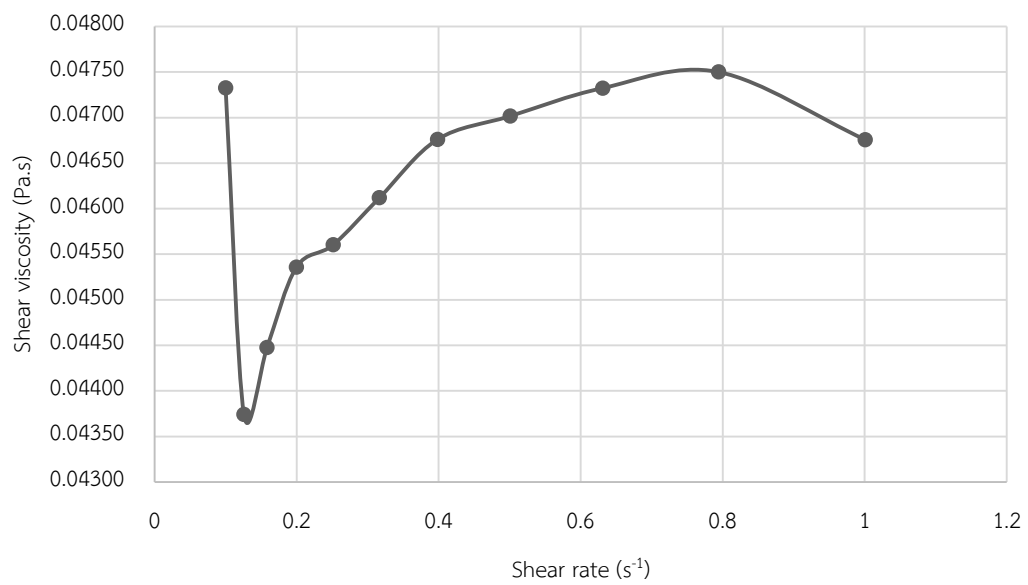
* F = Formulation

** F/V = Formulation + Violacein 2.5 mg/ml

ตารางที่ 23 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa-s) ของ Run 1

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa-s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.04696	0.04503	0.04999	0.04733	0.00250
0.1259	0.04345	0.04160	0.04617	0.04374	0.00230
0.1584	0.04453	0.04249	0.04641	0.04448	0.00196
0.1997	0.04571	0.04341	0.04695	0.04536	0.00180
0.2515	0.04599	0.04382	0.04700	0.04560	0.00162
0.3167	0.04668	0.04439	0.04729	0.04612	0.00153
0.3984	0.04751	0.04529	0.04748	0.04676	0.00127
0.501	0.04734	0.04546	0.04825	0.04702	0.00142
0.631	0.04765	0.04603	0.04829	0.04732	0.00116
0.7942	0.04768	0.04652	0.04830	0.04750	0.00090
1.001	0.04710	0.04580	0.04737	0.04676	0.00084
1.259	0.04758	0.04634	0.04902	0.04765	0.00134
1.585	0.04987	0.04758	0.05032	0.04926	0.00147
1.995	0.05020	0.04816	0.04996	0.04944	0.00111
2.512	0.04601	0.04856	0.05157	0.04871	0.00278
3.162	0.04901	0.04704	0.05016	0.04874	0.00158
3.981	0.04850	0.04691	0.04937	0.04826	0.00125
5.012	0.04965	0.04708	0.04778	0.04817	0.00133
6.31	0.04852	0.04660	0.04889	0.04800	0.00123
7.944	0.04856	0.04670	0.04895	0.04807	0.00120
10	0.04832	0.04701	0.04877	0.04803	0.00091
12.59	0.04863	0.04662	0.04895	0.04807	0.00126
15.85	0.04871	0.04687	0.04914	0.04824	0.00121
19.95	0.04888	0.04687	0.04913	0.04829	0.00124
25.12	0.04874	0.04694	0.04923	0.04830	0.00121
31.62	0.04884	0.04717	0.04922	0.04841	0.00109
39.81	0.04899	0.04716	0.04917	0.04844	0.00111

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.04897	0.04724	0.04947	0.04856	0.00117
63.1	0.04904	0.04704	0.04945	0.04851	0.00129
79.44	0.04940	0.04735	0.04922	0.04866	0.00114
100	0.04955	0.04721	0.04948	0.04875	0.00133

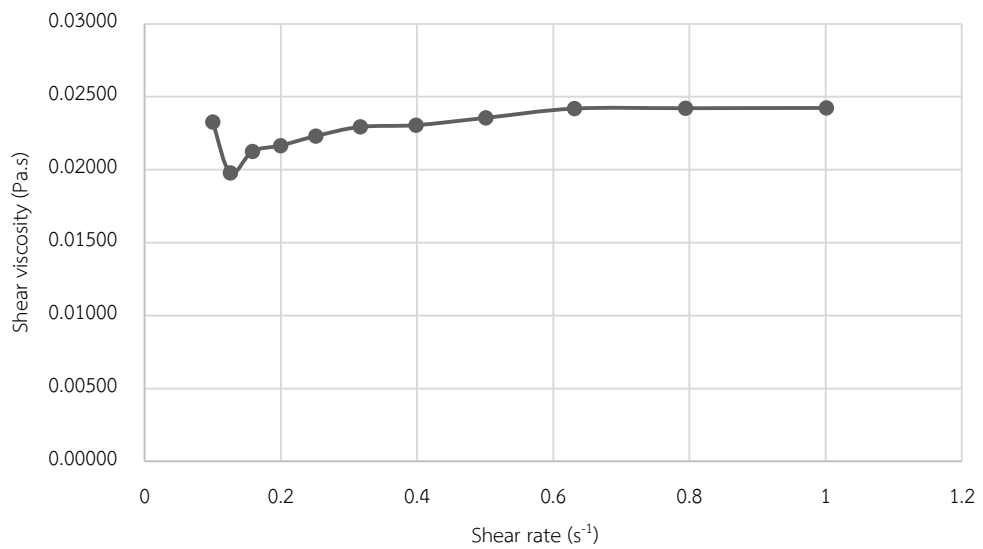


รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 1)

ตารางที่ 24 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa-s) ของ Run 2

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa-s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02281	0.02354	0.02346	0.02327	0.00040
0.1259	0.01961	0.01967	0.02006	0.01978	0.00024
0.1584	0.02139	0.02033	0.02205	0.02126	0.00087
0.1997	0.02177	0.02092	0.02229	0.02166	0.00069
0.2515	0.02219	0.02167	0.02307	0.02231	0.00071
0.3167	0.02314	0.02211	0.02357	0.02294	0.00075
0.3984	0.02331	0.02236	0.02350	0.02306	0.00061
0.501	0.02345	0.02292	0.02430	0.02356	0.00070
0.631	0.02437	0.02360	0.02461	0.02419	0.00053
0.7942	0.02475	0.02388	0.02403	0.02422	0.00047
1.001	0.02474	0.02344	0.02453	0.02424	0.00070
1.259	0.02524	0.02352	0.02436	0.02437	0.00086
1.585	0.02501	0.02397	0.02535	0.02478	0.00072
1.995	0.02450	0.02410	0.02535	0.02465	0.00064
2.512	0.02100	0.02178	0.02295	0.02191	0.00098
3.162	0.02510	0.02387	0.02460	0.02452	0.00062
3.981	0.02494	0.02350	0.02433	0.02426	0.00072
5.012	0.02452	0.02250	0.02293	0.02332	0.00106
6.31	0.02437	0.02336	0.02420	0.02398	0.00054
7.944	0.02449	0.02339	0.02432	0.02407	0.00059
10	0.02422	0.02326	0.02402	0.02383	0.00051
12.59	0.02457	0.02346	0.02412	0.02405	0.00056
15.85	0.02439	0.02324	0.02425	0.02396	0.00063
19.95	0.02452	0.02320	0.02432	0.02401	0.00071
25.12	0.02459	0.02345	0.02422	0.02409	0.00058
31.62	0.02448	0.02342	0.02420	0.02403	0.00055
39.81	0.02442	0.02335	0.02436	0.02404	0.00060

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.02468	0.02350	0.02440	0.02419	0.00062
63.1	0.02482	0.02368	0.02419	0.02423	0.00057
79.44	0.02449	0.02349	0.02423	0.02407	0.00052
100	0.02451	0.02389	0.02450	0.02430	0.00036

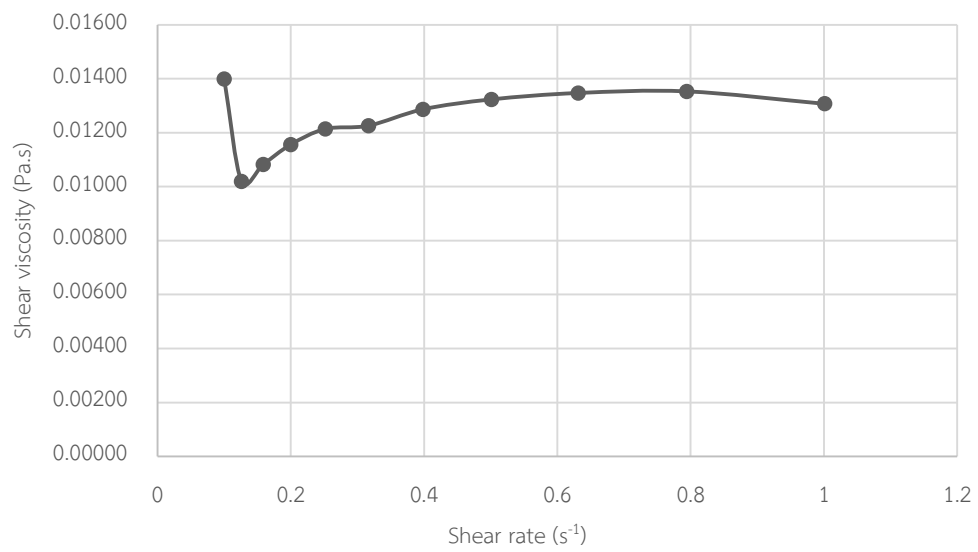


รูปที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 2)

ตารางที่ 25 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 3

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.01344	0.01347	0.01507	0.01399	0.00093
0.1259	0.00876	0.01011	0.01173	0.01020	0.00149
0.1584	0.00929	0.01076	0.01240	0.01082	0.00155
0.1997	0.01031	0.01143	0.01293	0.01156	0.00131
0.2515	0.01153	0.01181	0.01307	0.01214	0.00082
0.3167	0.01168	0.01195	0.01315	0.01226	0.00078
0.3984	0.01224	0.01267	0.01369	0.01287	0.00074
0.501	0.01253	0.01293	0.01424	0.01323	0.00089
0.631	0.01285	0.01323	0.01433	0.01347	0.00077
0.7942	0.01333	0.01320	0.01406	0.01353	0.00046
1.001	0.01253	0.01249	0.01419	0.01307	0.00097
1.259	0.01389	0.01287	0.01308	0.01328	0.00054
1.585	0.01386	0.01384	0.01499	0.01423	0.00066
1.995	0.01420	0.01436	0.01542	0.01466	0.00066
2.512	0.01428	0.01211	0.01506	0.01382	0.00153
3.162	0.01407	0.01504	0.01472	0.01461	0.00049
3.981	0.01359	0.01367	0.01433	0.01386	0.00041
5.012	0.01163	0.01464	0.01474	0.01367	0.00177
6.31	0.01352	0.01370	0.01386	0.01369	0.00017
7.944	0.01344	0.01361	0.01364	0.01356	0.00011
10	0.01316	0.01367	0.01392	0.01358	0.00039
12.59	0.01339	0.01340	0.01375	0.01351	0.00021
15.85	0.01352	0.01366	0.01361	0.01360	0.00007
19.95	0.01355	0.01355	0.01367	0.01359	0.00007
25.12	0.01336	0.01358	0.01366	0.01353	0.00016
31.62	0.01346	0.01352	0.01371	0.01356	0.00013
39.81	0.01349	0.01357	0.01367	0.01358	0.00009

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.01339	0.01362	0.01360	0.01354	0.00013
63.1	0.01295	0.01356	0.01378	0.01343	0.00043
79.44	0.01365	0.01364	0.01395	0.01375	0.00018
100	0.01357	0.01379	0.01388	0.01375	0.00016

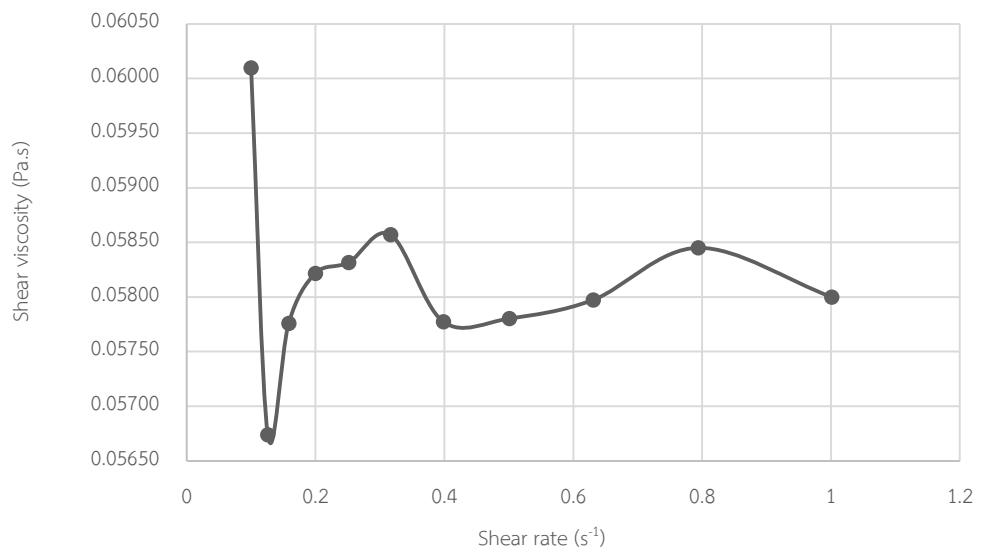


รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 3)

ตารางที่ 26 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 4

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.0614	0.05773	0.06116	0.06010	0.00205
0.1259	0.0585	0.05414	0.05758	0.05674	0.00230
0.1584	0.06012	0.05572	0.05744	0.05776	0.00222
0.1997	0.06032	0.05615	0.05818	0.05822	0.00209
0.2515	0.05979	0.05691	0.05825	0.05832	0.00144
0.3167	0.06003	0.05757	0.05811	0.05857	0.00129
0.3984	0.05894	0.05725	0.05713	0.05777	0.00101
0.501	0.05817	0.05751	0.05773	0.05780	0.00034
0.631	0.05804	0.05796	0.05792	0.05797	0.00006
0.7942	0.05857	0.05821	0.05857	0.05845	0.00021
1.001	0.05837	0.05891	0.05672	0.05800	0.00114
1.259	0.05901	0.05809	0.0569	0.05800	0.00106
1.585	0.05995	0.05935	0.05764	0.05898	0.00120
1.995	0.0606	0.06059	0.05901	0.06007	0.00092
2.512	0.05747	0.06102	0.05629	0.05826	0.00246
3.162	0.05951	0.05924	0.05882	0.05919	0.00035
3.981	0.05893	0.05886	0.0584	0.05873	0.00029
5.012	0.05949	0.05908	0.058	0.05886	0.00077
6.31	0.05876	0.05866	0.05824	0.05855	0.00028
7.944	0.05889	0.05865	0.05829	0.05861	0.00030
10	0.05901	0.05862	0.05882	0.05882	0.00020
12.59	0.05897	0.05888	0.05853	0.05879	0.00023
15.85	0.05896	0.05887	0.05852	0.05878	0.00023
19.95	0.0591	0.05908	0.05867	0.05895	0.00024
25.12	0.05931	0.05918	0.0586	0.05903	0.00038
31.62	0.05926	0.05917	0.05878	0.05907	0.00026
39.81	0.0592	0.05895	0.05871	0.05895	0.00025

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.05899	0.05911	0.05877	0.05896	0.00017
63.1	0.05934	0.05951	0.05895	0.05927	0.00029
79.44	0.05979	0.05923	0.0586	0.05921	0.00060
100	0.05925	0.05963	0.05864	0.05917	0.00050

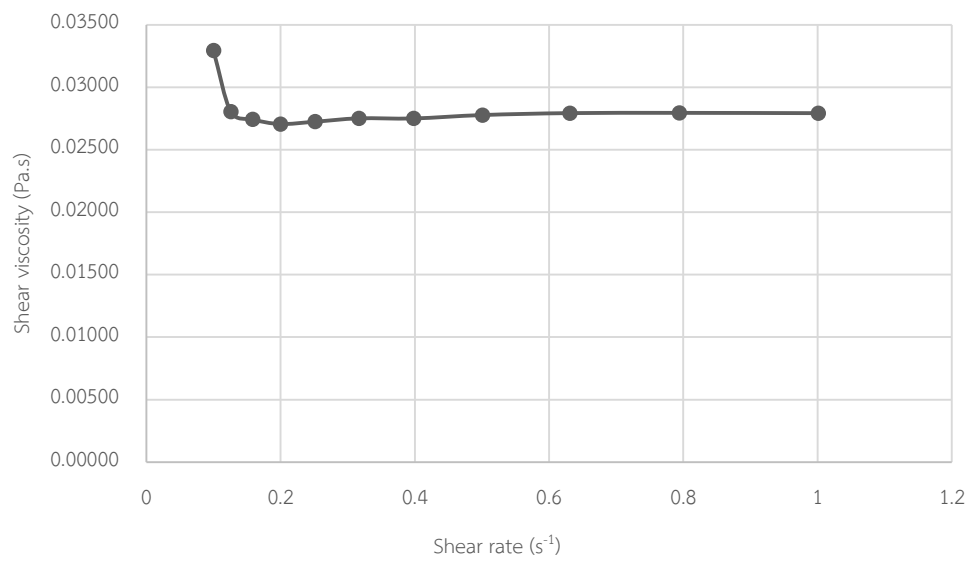


รูปที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 4)

ตารางที่ 27 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 5

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.0614	0.05773	0.06116	0.06010	0.00205
0.1259	0.0585	0.05414	0.05758	0.05674	0.00230
0.1584	0.06012	0.05572	0.05744	0.05776	0.00222
0.1997	0.06032	0.05615	0.05818	0.05822	0.00209
0.2515	0.05979	0.05691	0.05825	0.05832	0.00144
0.3167	0.06003	0.05757	0.05811	0.05857	0.00129
0.3984	0.05894	0.05725	0.05713	0.05777	0.00101
0.501	0.05817	0.05751	0.05773	0.05780	0.00034
0.631	0.05804	0.05796	0.05792	0.05797	0.00006
0.7942	0.05857	0.05821	0.05857	0.05845	0.00021
1.001	0.05837	0.05891	0.05672	0.05800	0.00114
1.259	0.05901	0.05809	0.0569	0.05800	0.00106
1.585	0.05995	0.05935	0.05764	0.05898	0.00120
1.995	0.0606	0.06059	0.05901	0.06007	0.00092
2.512	0.05747	0.06102	0.05629	0.05826	0.00246
3.162	0.05951	0.05924	0.05882	0.05919	0.00035
3.981	0.05893	0.05886	0.0584	0.05873	0.00029
5.012	0.05949	0.05908	0.058	0.05886	0.00077
6.31	0.05876	0.05866	0.05824	0.05855	0.00028
7.944	0.05889	0.05865	0.05829	0.05861	0.00030
10	0.05901	0.05862	0.05882	0.05882	0.00020
12.59	0.05897	0.05888	0.05853	0.05879	0.00023
15.85	0.05896	0.05887	0.05852	0.05878	0.00023
19.95	0.0591	0.05908	0.05867	0.05895	0.00024
25.12	0.05931	0.05918	0.0586	0.05903	0.00038
31.62	0.05926	0.05917	0.05878	0.05907	0.00026
39.81	0.0592	0.05895	0.05871	0.05895	0.00025

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.05899	0.05911	0.05877	0.05896	0.00017
63.1	0.05934	0.05951	0.05895	0.05927	0.00029
79.44	0.05979	0.05923	0.0586	0.05921	0.00060
100	0.05925	0.05963	0.05864	0.05917	0.00050

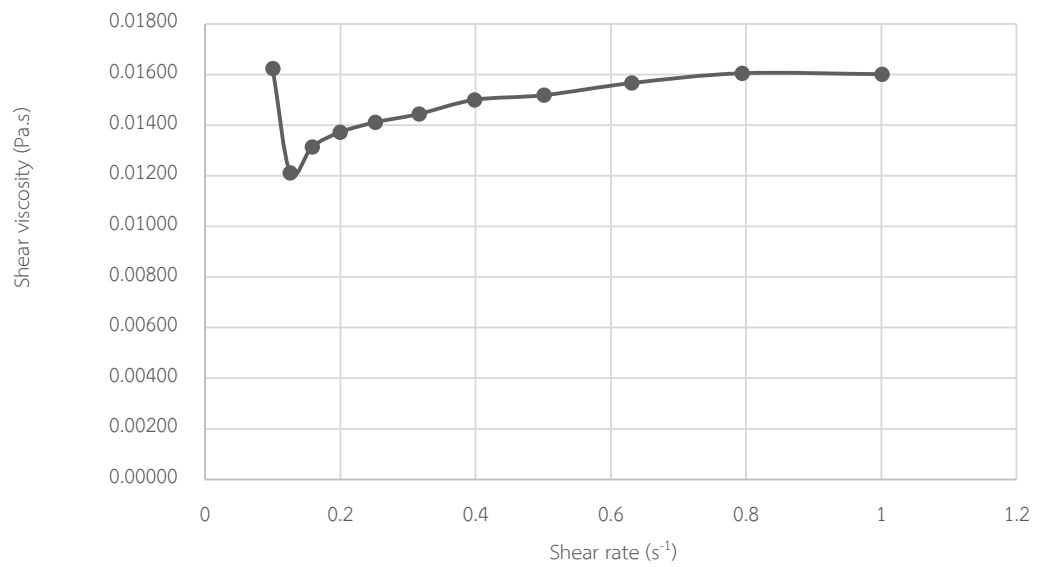


รูปที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 5)

ตารางที่ 28 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 6

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.0614	0.05773	0.06116	0.06010	0.00205
0.1259	0.0585	0.05414	0.05758	0.05674	0.00230
0.1584	0.06012	0.05572	0.05744	0.05776	0.00222
0.1997	0.06032	0.05615	0.05818	0.05822	0.00209
0.2515	0.05979	0.05691	0.05825	0.05832	0.00144
0.3167	0.06003	0.05757	0.05811	0.05857	0.00129
0.3984	0.05894	0.05725	0.05713	0.05777	0.00101
0.501	0.05817	0.05751	0.05773	0.05780	0.00034
0.631	0.05804	0.05796	0.05792	0.05797	0.00006
0.7942	0.05857	0.05821	0.05857	0.05845	0.00021
1.001	0.05837	0.05891	0.05672	0.05800	0.00114
1.259	0.05901	0.05809	0.0569	0.05800	0.00106
1.585	0.05995	0.05935	0.05764	0.05898	0.00120
1.995	0.0606	0.06059	0.05901	0.06007	0.00092
2.512	0.05747	0.06102	0.05629	0.05826	0.00246
3.162	0.05951	0.05924	0.05882	0.05919	0.00035
3.981	0.05893	0.05886	0.0584	0.05873	0.00029
5.012	0.05949	0.05908	0.058	0.05886	0.00077
6.31	0.05876	0.05866	0.05824	0.05855	0.00028
7.944	0.05889	0.05865	0.05829	0.05861	0.00030
10	0.05901	0.05862	0.05882	0.05882	0.00020
12.59	0.05897	0.05888	0.05853	0.05879	0.00023
15.85	0.05896	0.05887	0.05852	0.05878	0.00023
19.95	0.0591	0.05908	0.05867	0.05895	0.00024
25.12	0.05931	0.05918	0.0586	0.05903	0.00038
31.62	0.05926	0.05917	0.05878	0.05907	0.00026
39.81	0.0592	0.05895	0.05871	0.05895	0.00025

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.05899	0.05911	0.05877	0.05896	0.00017
63.1	0.05934	0.05951	0.05895	0.05927	0.00029
79.44	0.05979	0.05923	0.0586	0.05921	0.00060
100	0.05925	0.05963	0.05864	0.05917	0.00050

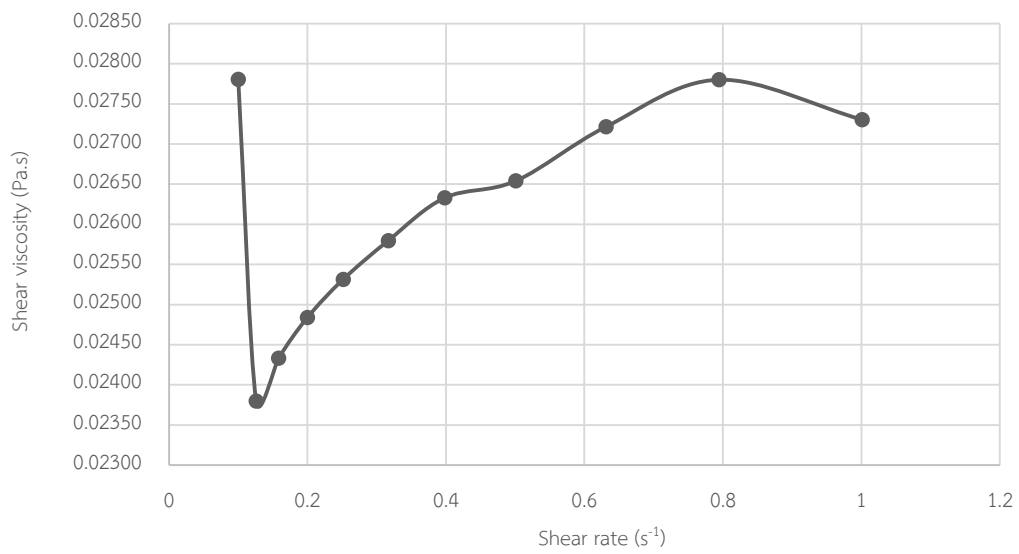


รูปที่ 22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 6)

ตารางที่ 29 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 7

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02838	0.02816	0.02687	0.02780	0.00082
0.1259	0.02467	0.02412	0.02260	0.02380	0.00107
0.1584	0.02553	0.02440	0.02307	0.02433	0.00123
0.1997	0.02567	0.02482	0.02402	0.02484	0.00083
0.2515	0.02593	0.02541	0.02460	0.02531	0.00067
0.3167	0.02679	0.02568	0.02492	0.02580	0.00094
0.3984	0.02721	0.02640	0.02538	0.02633	0.00092
0.501	0.02748	0.02655	0.02559	0.02654	0.00095
0.631	0.02797	0.02747	0.02620	0.02721	0.00091
0.7942	0.02888	0.02752	0.02700	0.02780	0.00097
1.001	0.02913	0.02700	0.02578	0.02730	0.00170
1.259	0.02876	0.02730	0.02685	0.02764	0.00100
1.585	0.02923	0.02779	0.02734	0.02812	0.00099
1.995	0.02972	0.02886	0.02744	0.02867	0.00115
2.512	0.02968	0.02527	0.02661	0.02719	0.00226
3.162	0.02910	0.02851	0.02779	0.02847	0.00066
3.981	0.02863	0.02772	0.02684	0.02773	0.00090
5.012	0.02970	0.02847	0.02694	0.02837	0.00138
6.31	0.02850	0.02740	0.02656	0.02749	0.00097
7.944	0.02844	0.02741	0.02664	0.02750	0.00090
10	0.02871	0.02705	0.02626	0.02734	0.00125
12.59	0.02845	0.02731	0.02622	0.02733	0.00112
15.85	0.02855	0.02738	0.02649	0.02747	0.00103
19.95	0.02855	0.02730	0.02657	0.02747	0.00100
25.12	0.02848	0.02710	0.02646	0.02735	0.00103
31.62	0.02855	0.02746	0.02661	0.02754	0.00097
39.81	0.02862	0.02744	0.02665	0.02757	0.00099

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.02877	0.02741	0.02668	0.02762	0.00106
63.1	0.02843	0.02751	0.02669	0.02754	0.00087
79.44	0.02893	0.02769	0.02668	0.02777	0.00113
100	0.02879	0.02748	0.02668	0.02765	0.00107

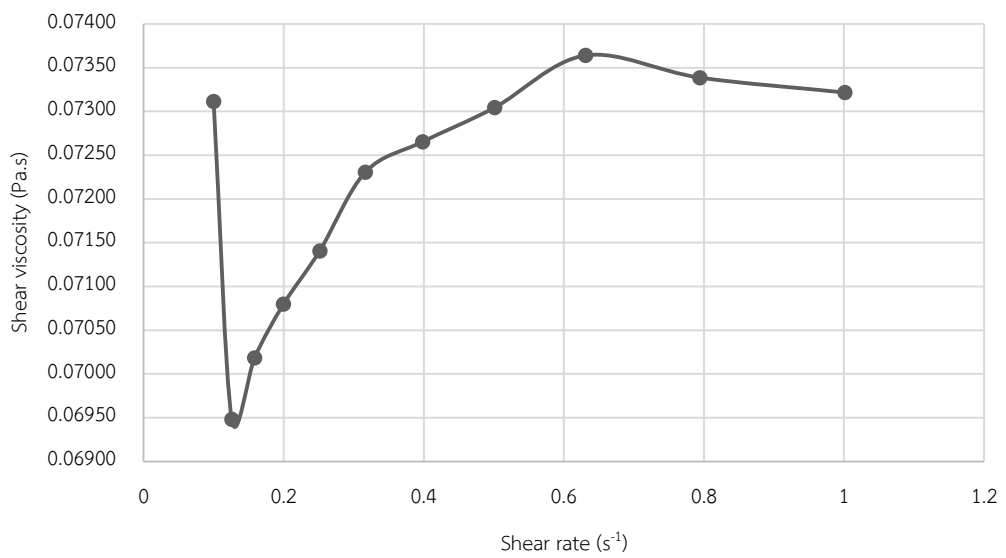


รูปที่ 23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 7)

ตารางที่ 30 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 8

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.07222	0.07426	0.07286	0.07311	0.00104
0.1259	0.06886	0.07039	0.06919	0.06948	0.00081
0.1584	0.06961	0.07102	0.06992	0.07018	0.00074
0.1997	0.07049	0.07140	0.07050	0.07080	0.00052
0.2515	0.07126	0.07201	0.07095	0.07141	0.00055
0.3167	0.07214	0.07277	0.07201	0.07231	0.00041
0.3984	0.07220	0.07313	0.07263	0.07265	0.00047
0.501	0.07286	0.07355	0.07272	0.07304	0.00044
0.631	0.07328	0.07432	0.07332	0.07364	0.00059
0.7942	0.07380	0.07379	0.07257	0.07339	0.00071
1.001	0.07268	0.07394	0.07303	0.07322	0.00065
1.259	0.07346	0.07436	0.07390	0.07391	0.00045
1.585	0.07506	0.07564	0.07542	0.07537	0.00029
1.995	0.07455	0.07483	0.07529	0.07489	0.00037
2.512	0.07529	0.07225	0.07114	0.07289	0.00215
3.162	0.07420	0.07440	0.07333	0.07398	0.00057
3.981	0.07361	0.07369	0.07309	0.07346	0.00033
5.012	0.07413	0.07428	0.07432	0.07424	0.00010
6.31	0.07369	0.07409	0.07309	0.07362	0.00050
7.944	0.07374	0.07402	0.07321	0.07366	0.00041
10	0.07363	0.07378	0.07312	0.07351	0.00035
12.59	0.07380	0.07421	0.07347	0.07383	0.00037
15.85	0.07398	0.07443	0.07347	0.07396	0.00048
19.95	0.07410	0.07424	0.07354	0.07396	0.00037
25.12	0.07420	0.07449	0.07367	0.07412	0.00042
31.62	0.07421	0.07467	0.07384	0.07424	0.00042
39.81	0.07443	0.07454	0.07374	0.07424	0.00043

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.07438	0.07455	0.07388	0.07427	0.00035
63.1	0.07452	0.07479	0.07416	0.07449	0.00032
79.44	0.07455	0.07502	0.07422	0.07460	0.00040
100	0.07451	0.07468	0.07379	0.07433	0.00047

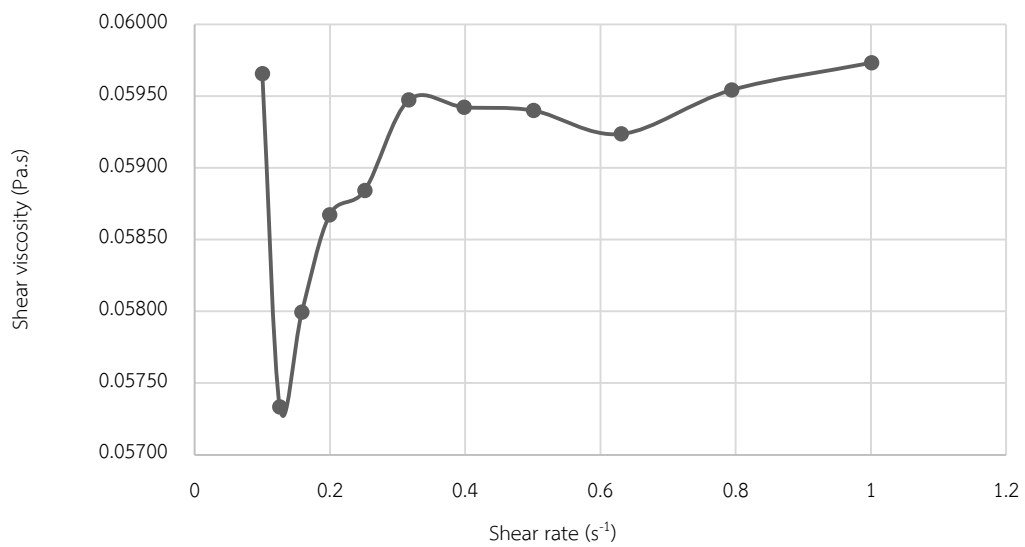


รูปที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 8)

ตารางที่ 31 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 9

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.05993	0.05899	0.06005	0.05966	0.00058
0.1259	0.05783	0.05573	0.05844	0.05733	0.00142
0.1584	0.05830	0.05665	0.05903	0.05799	0.00122
0.1997	0.05901	0.05719	0.05982	0.05867	0.00135
0.2515	0.05995	0.05720	0.05938	0.05884	0.00145
0.3167	0.06062	0.05796	0.05984	0.05947	0.00137
0.3984	0.06062	0.05772	0.05993	0.05942	0.00151
0.501	0.06054	0.05801	0.05965	0.05940	0.00128
0.631	0.06023	0.05766	0.05982	0.05924	0.00138
0.7942	0.06048	0.05788	0.06027	0.05954	0.00144
1.001	0.06061	0.05882	0.05977	0.05973	0.00090
1.259	0.06206	0.05920	0.06105	0.06077	0.00145
1.585	0.06200	0.06048	0.06223	0.06157	0.00095
1.995	0.06131	0.06020	0.06112	0.06088	0.00059
2.512	0.06144	0.05871	0.05849	0.05955	0.00164
3.162	0.06193	0.05930	0.06027	0.06050	0.00133
3.981	0.06161	0.05916	0.06025	0.06034	0.00123
5.012	0.05993	0.06080	0.06049	0.06041	0.00044
6.31	0.06160	0.05883	0.05971	0.06005	0.00142
7.944	0.06164	0.05901	0.05966	0.06010	0.00137
10	0.06149	0.05898	0.05946	0.05998	0.00133
12.59	0.06151	0.05915	0.05968	0.06011	0.00124
15.85	0.06187	0.05906	0.05962	0.06018	0.00149
19.95	0.06188	0.05928	0.05971	0.06029	0.00139
25.12	0.06190	0.05920	0.05985	0.06032	0.00141
31.62	0.06196	0.05934	0.05986	0.06039	0.00139
39.81	0.06211	0.05922	0.05964	0.06032	0.00156

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.06199	0.05949	0.05994	0.06047	0.00133
63.1	0.06241	0.05953	0.05999	0.06064	0.00155
79.44	0.06246	0.05984	0.06041	0.06090	0.00138
100	0.06250	0.05965	0.06001	0.06072	0.00155

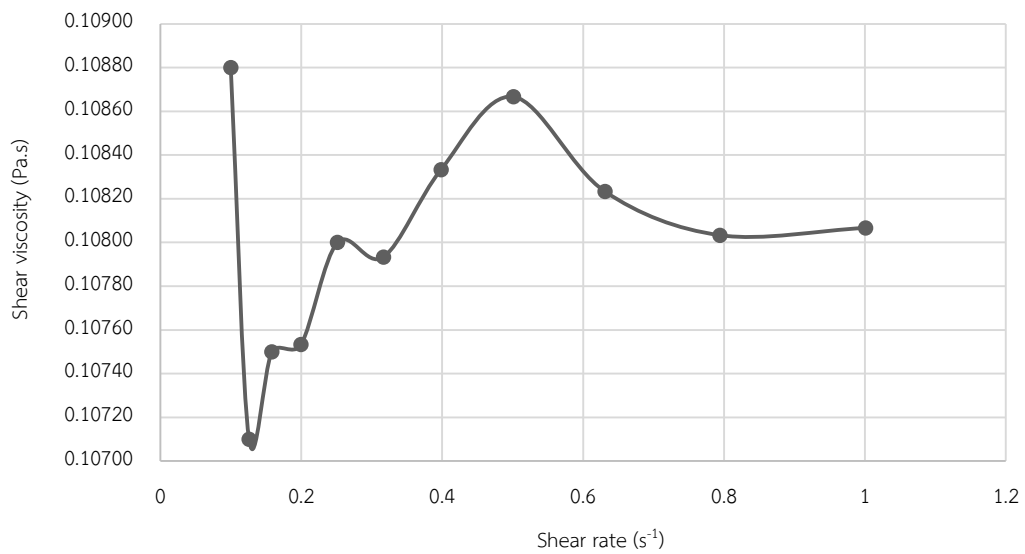


รูปที่ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 9)

ตารางที่ 32 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 10

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.10830	0.10710	0.11100	0.10880	0.00200
0.1259	0.10720	0.10320	0.11090	0.10710	0.00385
0.1584	0.10710	0.10310	0.11230	0.10750	0.00461
0.1997	0.10670	0.10250	0.11340	0.10753	0.00550
0.2515	0.10610	0.10370	0.11420	0.10800	0.00550
0.3167	0.10610	0.10450	0.11320	0.10793	0.00463
0.3984	0.10670	0.10500	0.11330	0.10833	0.00438
0.501	0.10660	0.10560	0.11380	0.10867	0.00447
0.631	0.10680	0.10440	0.11350	0.10823	0.00472
0.7942	0.10590	0.10480	0.11340	0.10803	0.00468
1.001	0.10630	0.10400	0.11390	0.10807	0.00518
1.259	0.10800	0.10530	0.11580	0.10970	0.00545
1.585	0.11060	0.10770	0.11720	0.11183	0.00487
1.995	0.10900	0.10650	0.11490	0.11013	0.00431
2.512	0.10750	0.10620	0.11520	0.10963	0.00486
3.162	0.10820	0.10580	0.11460	0.10953	0.00455
3.981	0.10810	0.10630	0.11520	0.10987	0.00471
5.012	0.10680	0.10720	0.11640	0.11013	0.00543
6.31	0.10820	0.10580	0.11470	0.10957	0.00460
7.944	0.10830	0.10590	0.11470	0.10963	0.00455
10	0.10840	0.10580	0.11510	0.10977	0.00480
12.59	0.10880	0.10590	0.11500	0.10990	0.00465
15.85	0.10880	0.10620	0.11510	0.11003	0.00458
19.95	0.10890	0.10640	0.11520	0.11017	0.00453
25.12	0.10930	0.10640	0.11550	0.11040	0.00465
31.62	0.10950	0.10660	0.11550	0.11053	0.00454
39.81	0.10960	0.10690	0.11530	0.11060	0.00429

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.10960	0.10690	0.11570	0.11073	0.00451
63.1	0.10980	0.10690	0.11580	0.11083	0.00454
79.44	0.10970	0.10700	0.11560	0.11077	0.00440
100	0.10970	0.10650	0.11590	0.11070	0.00478

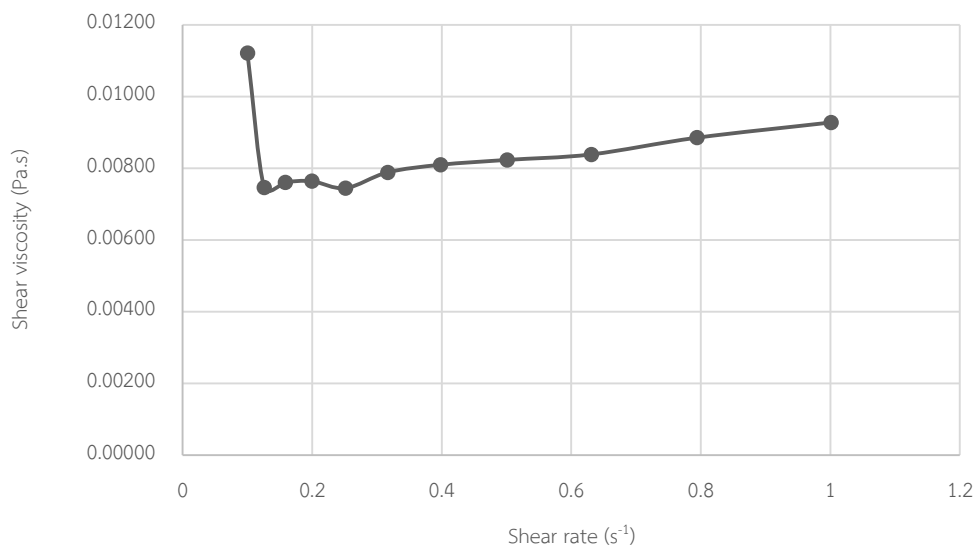


รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 10)

ตารางที่ 33 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 11

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.01241	0.01061	0.01062	0.01121	0.00104
0.1259	0.00880	0.00700	0.00657	0.00746	0.00118
0.1584	0.00900	0.00695	0.00687	0.00761	0.00121
0.1997	0.00916	0.00687	0.00689	0.00764	0.00132
0.2515	0.00867	0.00659	0.00707	0.00744	0.00109
0.3167	0.00884	0.00712	0.00770	0.00788	0.00087
0.3984	0.00832	0.00765	0.00831	0.00810	0.00038
0.501	0.00832	0.00792	0.00846	0.00823	0.00028
0.631	0.00823	0.00824	0.00868	0.00838	0.00026
0.7942	0.00887	0.00865	0.00903	0.00885	0.00019
1.001	0.00950	0.00953	0.00880	0.00927	0.00041
1.259	0.00917	0.00842	0.00891	0.00883	0.00038
1.585	0.01014	0.00987	0.00956	0.00986	0.00029
1.995	0.01085	0.01033	0.01018	0.01045	0.00035
2.512	0.00574	0.00816	0.01054	0.00815	0.00240
3.162	0.01029	0.00925	0.00947	0.00967	0.00055
3.981	0.00957	0.00952	0.00956	0.00955	0.00003
5.012	0.00765	0.00730	0.01060	0.00852	0.00181
6.31	0.00944	0.00913	0.00930	0.00929	0.00016
7.944	0.00958	0.00919	0.00933	0.00936	0.00020
10	0.00962	0.00913	0.00898	0.00925	0.00034
12.59	0.00936	0.00917	0.00938	0.00930	0.00011
15.85	0.00930	0.00917	0.00910	0.00919	0.00010
19.95	0.00928	0.00925	0.00907	0.00920	0.00011
25.12	0.00948	0.00912	0.00928	0.00929	0.00018
31.62	0.00953	0.00910	0.00914	0.00926	0.00024
39.81	0.00935	0.00929	0.00910	0.00924	0.00013

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.00953	0.00932	0.00917	0.00934	0.00018
63.1	0.00941	0.00904	0.00923	0.00922	0.00018
79.44	0.00986	0.00918	0.00914	0.00940	0.00040
100	0.00940	0.00906	0.00922	0.00922	0.00017

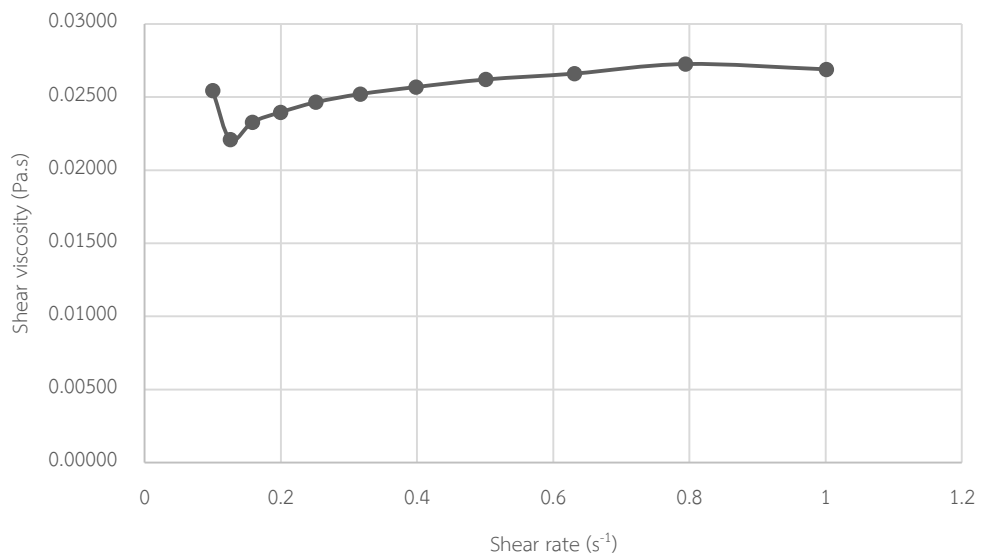


รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run11)

ตารางที่ 34 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 12

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02655	0.02491	0.02486	0.02544	0.00096
0.1259	0.02285	0.02213	0.02128	0.02209	0.00079
0.1584	0.02367	0.02349	0.02268	0.02328	0.00053
0.1997	0.02454	0.02397	0.02337	0.02396	0.00059
0.2515	0.02501	0.02461	0.02431	0.02464	0.00035
0.3167	0.02558	0.02506	0.02497	0.02520	0.00033
0.3984	0.02586	0.02588	0.02530	0.02568	0.00033
0.501	0.02631	0.02638	0.02591	0.02620	0.00025
0.631	0.02654	0.02651	0.02675	0.02660	0.00013
0.7942	0.02693	0.02778	0.02706	0.02726	0.00046
1.001	0.02667	0.02733	0.02668	0.02689	0.00038
1.259	0.02774	0.02828	0.02760	0.02787	0.00036
1.585	0.02843	0.02819	0.02853	0.02838	0.00017
1.995	0.02734	0.02886	0.02836	0.02819	0.00077
2.512	0.02947	0.02665	0.02505	0.02706	0.00224
3.162	0.02867	0.02853	0.02771	0.02830	0.00052
3.981	0.02786	0.02839	0.02802	0.02809	0.00027
5.012	0.02652	0.02817	0.02802	0.02757	0.00091
6.31	0.02782	0.02786	0.02756	0.02775	0.00016
7.944	0.02761	0.02798	0.02757	0.02772	0.00023
10	0.02753	0.02788	0.02725	0.02755	0.00032
12.59	0.02783	0.02797	0.02754	0.02778	0.00022
15.85	0.02777	0.02785	0.02773	0.02778	0.00006
19.95	0.02768	0.02810	0.02773	0.02784	0.00023
25.12	0.02780	0.02800	0.02756	0.02779	0.00022
31.62	0.02786	0.02800	0.02764	0.02783	0.00018
39.81	0.02779	0.02815	0.02772	0.02789	0.00023

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.02778	0.02829	0.02900	0.02836	0.00061
63.1	0.02812	0.02836	0.02782	0.02810	0.00027
79.44	0.02815	0.02861	0.02786	0.02821	0.00038
100	0.02807	0.02859	0.02812	0.02826	0.00029

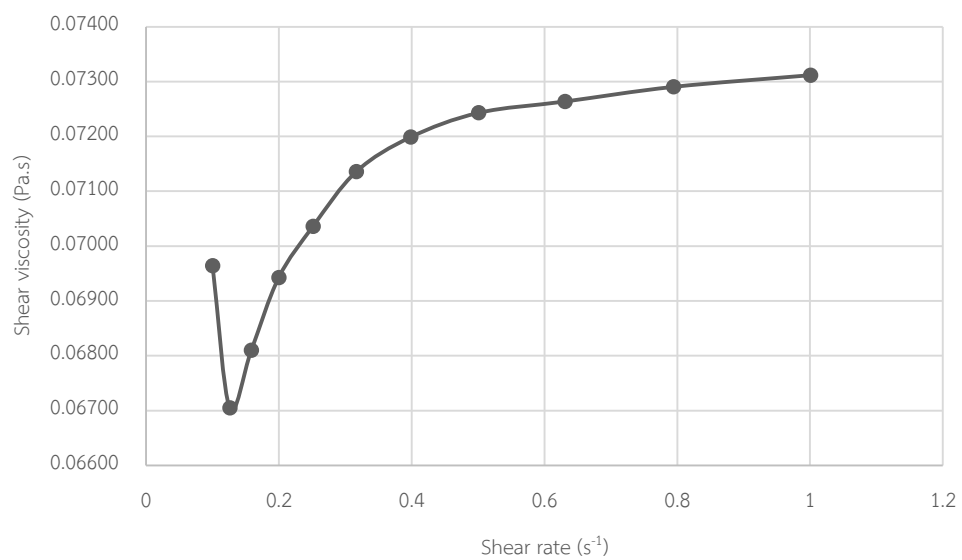


รูปที่ 28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 12)

ตารางที่ 35 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 13

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.06982	0.06843	0.07068	0.06964	0.00114
0.1259	0.06692	0.06577	0.06847	0.06705	0.00135
0.1584	0.06779	0.06729	0.06922	0.06810	0.00100
0.1997	0.06905	0.06908	0.07015	0.06943	0.00063
0.2515	0.07001	0.06965	0.07143	0.07036	0.00094
0.3167	0.07076	0.07090	0.07242	0.07136	0.00092
0.3984	0.07109	0.07171	0.07316	0.07199	0.00106
0.501	0.07139	0.07228	0.07362	0.07243	0.00112
0.631	0.07212	0.07278	0.07301	0.07264	0.00046
0.7942	0.07226	0.07248	0.07397	0.07290	0.00093
1.001	0.07120	0.07337	0.07478	0.07312	0.00180
1.259	0.07315	0.07393	0.07567	0.07425	0.00129
1.585	0.07461	0.07579	0.07702	0.07581	0.00121
1.995	0.07494	0.07499	0.07606	0.07533	0.00063
2.512	0.07488	0.07103	0.07474	0.07355	0.00218
3.162	0.07363	0.07412	0.07578	0.07451	0.00113
3.981	0.07366	0.07400	0.07638	0.07468	0.00148
5.012	0.07369	0.07463	0.07430	0.07421	0.00048
6.31	0.07348	0.07400	0.07559	0.07436	0.00110
7.944	0.07364	0.07407	0.07569	0.07447	0.00108
10	0.07326	0.07416	0.07572	0.07438	0.00124
12.59	0.07368	0.07438	0.07570	0.07459	0.00103
15.85	0.07376	0.07443	0.07586	0.07468	0.00107
19.95	0.07385	0.07451	0.07610	0.07482	0.00116
25.12	0.07411	0.07470	0.07612	0.07498	0.00103
31.62	0.07410	0.07473	0.07612	0.07498	0.00103
39.81	0.07413	0.07461	0.07607	0.07494	0.00101

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.07421	0.07459	0.07633	0.07504	0.00113
63.1	0.07468	0.07506	0.07652	0.07542	0.00097
79.44	0.07460	0.07478	0.07627	0.07522	0.00092
100	0.07448	0.07510	0.07611	0.07523	0.00082

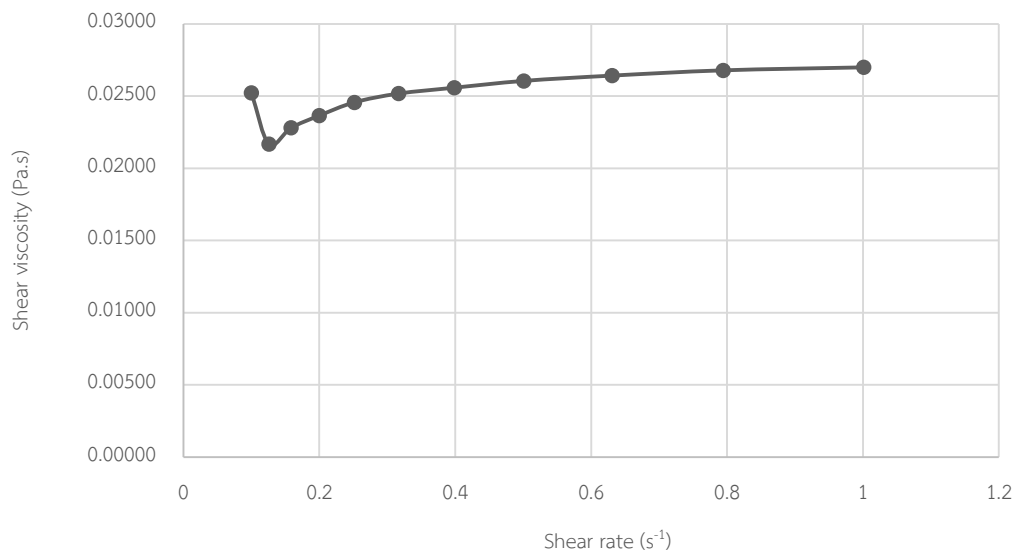


รูปที่ 29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 13)

ตารางที่ 36 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 14

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02587	0.02663	0.02320	0.02523	0.00180
0.1259	0.02243	0.02282	0.01976	0.02167	0.00167
0.1584	0.02337	0.02385	0.02118	0.02280	0.00142
0.1997	0.02402	0.02490	0.02201	0.02364	0.00148
0.2515	0.02499	0.02497	0.02374	0.02457	0.00072
0.3167	0.02524	0.02576	0.02452	0.02517	0.00062
0.3984	0.02579	0.02592	0.02503	0.02558	0.00048
0.501	0.02610	0.02656	0.02550	0.02605	0.00053
0.631	0.02660	0.02645	0.02621	0.02642	0.00020
0.7942	0.02679	0.02706	0.02650	0.02678	0.00028
1.001	0.02611	0.02781	0.02705	0.02699	0.00085
1.259	0.02803	0.02756	0.02726	0.02762	0.00039
1.585	0.02846	0.02877	0.02830	0.02851	0.00024
1.995	0.02854	0.02925	0.02952	0.02910	0.00051
2.512	0.02848	0.02461	0.03086	0.02798	0.00315
3.162	0.02843	0.02869	0.02844	0.02852	0.00015
3.981	0.02792	0.02799	0.02817	0.02803	0.00013
5.012	0.02615	0.02693	0.02639	0.02649	0.00040
6.31	0.02804	0.02797	0.02779	0.02793	0.00013
7.944	0.02781	0.02803	0.02774	0.02786	0.00015
10	0.02779	0.02791	0.02746	0.02772	0.00023
12.59	0.02768	0.02796	0.02783	0.02782	0.00014
15.85	0.02787	0.02810	0.02781	0.02793	0.00015
19.95	0.02777	0.02804	0.02778	0.02786	0.00015
25.12	0.02778	0.02805	0.02772	0.02785	0.00018
31.62	0.02798	0.02811	0.02784	0.02798	0.00014
39.81	0.02784	0.02824	0.02788	0.02799	0.00022

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.02800	0.02813	0.02785	0.02799	0.00014
63.1	0.02814	0.02829	0.02840	0.02828	0.00013
79.44	0.02840	0.02830	0.02826	0.02832	0.00007
100	0.02803	0.02862	0.02812	0.02826	0.00032

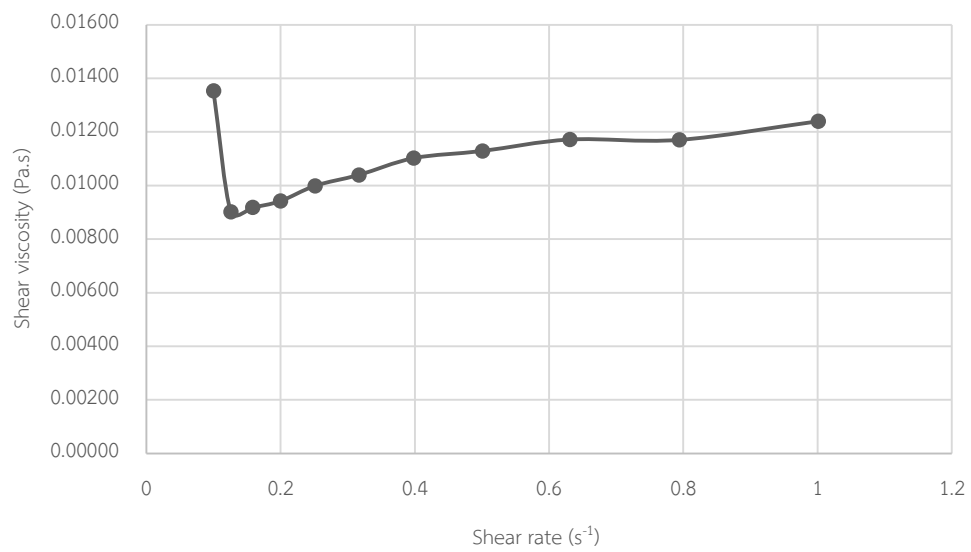


รูปที่ 30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 14)

ตารางที่ 37 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 15

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.01524	0.01312	0.01224	0.01353	0.00154
0.1259	0.01002	0.00855	0.00849	0.00902	0.00087
0.1584	0.00963	0.00938	0.00853	0.00918	0.00057
0.1997	0.00931	0.00975	0.00920	0.00942	0.00029
0.2515	0.00995	0.01026	0.00976	0.00999	0.00025
0.3167	0.00995	0.01119	0.01005	0.01040	0.00069
0.3984	0.01070	0.01151	0.01085	0.01102	0.00043
0.501	0.01094	0.01166	0.01127	0.01129	0.00036
0.631	0.01174	0.01193	0.01148	0.01172	0.00023
0.7942	0.01152	0.01239	0.01120	0.01170	0.00062
1.001	0.01292	0.01269	0.01158	0.01240	0.00072
1.259	0.01308	0.01229	0.01261	0.01266	0.00040
1.585	0.01271	0.01301	0.01291	0.01288	0.00015
1.995	0.01283	0.01469	0.01364	0.01372	0.00093
2.512	0.01037	0.01261	0.01170	0.01156	0.00113
3.162	0.01295	0.01397	0.01301	0.01331	0.00057
3.981	0.01339	0.01352	0.01303	0.01331	0.00025
5.012	0.01064	0.01471	0.01373	0.01303	0.00212
6.31	0.01267	0.01338	0.01278	0.01294	0.00038
7.944	0.01282	0.01324	0.01282	0.01296	0.00024
10	0.01312	0.01311	0.01276	0.01300	0.00021
12.59	0.01276	0.01331	0.01279	0.01295	0.00031
15.85	0.01265	0.01332	0.01285	0.01294	0.00034
19.95	0.01266	0.01320	0.01273	0.01286	0.00029
25.12	0.01283	0.01334	0.01265	0.01294	0.00036
31.62	0.01296	0.01333	0.01270	0.01300	0.00032
39.81	0.01268	0.01325	0.01275	0.01289	0.00031

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.01243	0.01333	0.01251	0.01276	0.00050
63.1	0.01278	0.01352	0.01274	0.01301	0.00044
79.44	0.01301	0.01384	0.01300	0.01328	0.00048
100	0.01292	0.01373	0.01301	0.01322	0.00044

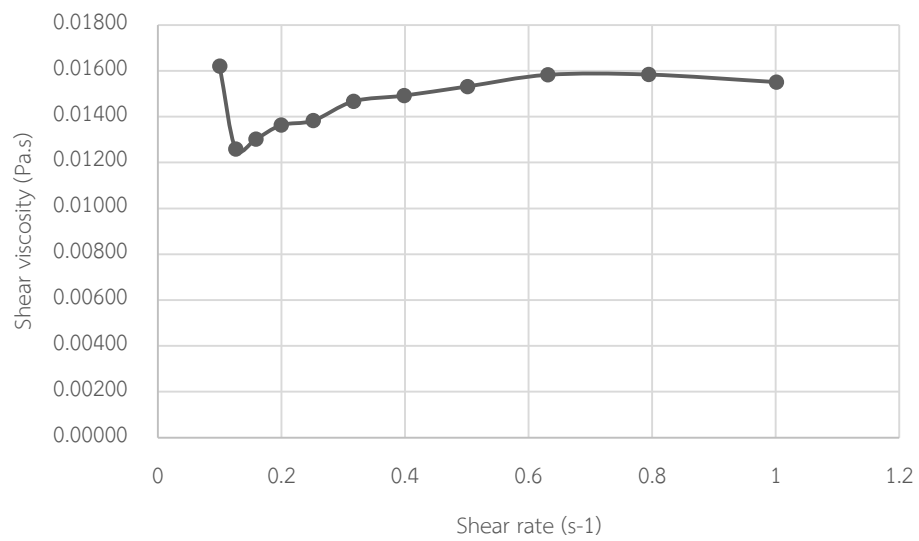


รูปที่ 31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 15)

ตารางที่ 38 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 16

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.01580	0.01505	0.01777	0.01621	0.00140
0.1259	0.01348	0.01083	0.01347	0.01259	0.00153
0.1584	0.01341	0.01184	0.01381	0.01302	0.00104
0.1997	0.01367	0.01262	0.01461	0.01363	0.00100
0.2515	0.01316	0.01321	0.01512	0.01383	0.00112
0.3167	0.01426	0.01373	0.01602	0.01467	0.00120
0.3984	0.01429	0.01429	0.01618	0.01492	0.00109
0.501	0.01438	0.01467	0.01691	0.01532	0.00138
0.631	0.01503	0.01505	0.01740	0.01583	0.00136
0.7942	0.01512	0.01531	0.01709	0.01584	0.00109
1.001	0.01503	0.01449	0.01701	0.01551	0.00133
1.259	0.01570	0.01578	0.01717	0.01622	0.00083
1.585	0.01592	0.01566	0.01727	0.01628	0.00086
1.995	0.01616	0.01516	0.01756	0.01629	0.00121
2.512	0.01138	0.01729	0.01765	0.01544	0.00352
3.162	0.01591	0.01568	0.01792	0.01650	0.00123
3.981	0.01557	0.01595	0.01742	0.01631	0.00098
5.012	0.01614	0.01577	0.01671	0.01621	0.00047
6.31	0.01537	0.01558	0.01726	0.01607	0.00104
7.944	0.01522	0.01570	0.01716	0.01603	0.00101
10	0.01531	0.01566	0.01714	0.01604	0.00097
12.59	0.01491	0.01554	0.01719	0.01588	0.00118
15.85	0.01528	0.01550	0.01728	0.01602	0.00110
19.95	0.01515	0.01566	0.01720	0.01600	0.00107
25.12	0.01512	0.01561	0.01725	0.01599	0.00112
31.62	0.01516	0.01546	0.01729	0.01597	0.00115
39.81	0.01511	0.01564	0.01719	0.01598	0.00108

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.01528	0.01571	0.01713	0.01604	0.00097
63.1	0.01513	0.01585	0.01769	0.01622	0.00132
79.44	0.13680	0.01557	0.01758	0.05665	0.06942
100	0.01512	0.01590	0.01756	0.01619	0.00125

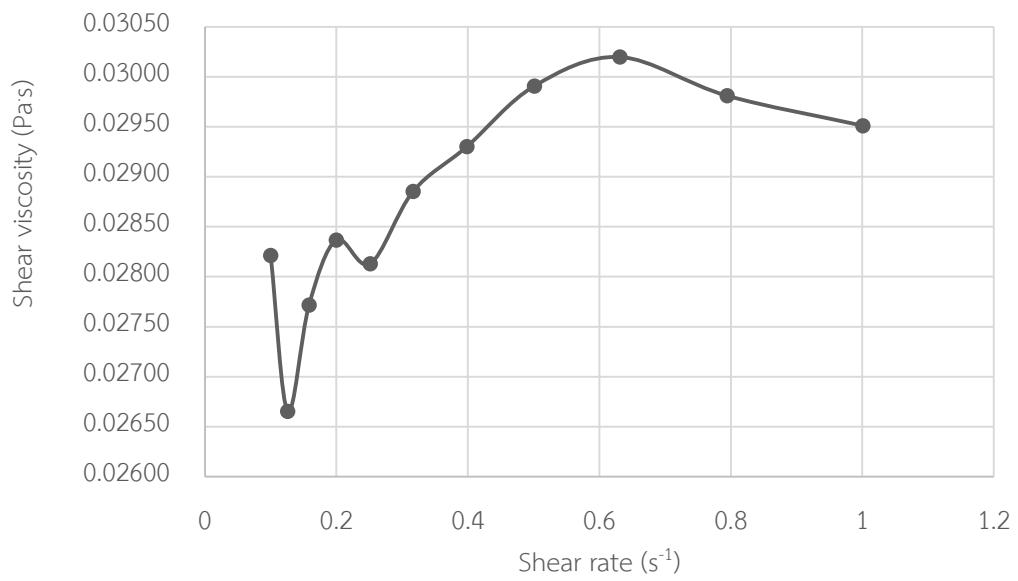


รูปที่ 32 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 16)

ตารางที่ 39 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Run 17

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02932	0.02774	0.02758	0.02821	0.00096
0.1259	0.02679	0.02830	0.02487	0.02665	0.00172
0.1584	0.02772	0.02982	0.02561	0.02772	0.00211
0.1997	0.02790	0.03080	0.02640	0.02837	0.00224
0.2515	0.02866	0.02877	0.02696	0.02813	0.00101
0.3167	0.02905	0.02897	0.02854	0.02885	0.00027
0.3984	0.02965	0.02947	0.02878	0.02930	0.00046
0.501	0.03026	0.03016	0.02930	0.02991	0.00053
0.631	0.03054	0.03062	0.02943	0.03020	0.00067
0.7942	0.03003	0.03016	0.02924	0.02981	0.00050
1.001	0.03021	0.03032	0.02800	0.02951	0.00131
1.259	0.03013	0.02894	0.02797	0.02901	0.00108
1.585	0.03032	0.02936	0.02882	0.02950	0.00076
1.995	0.03027	0.02900	0.02815	0.02914	0.00107
2.512	0.02930	0.02852	0.03059	0.02947	0.00105
3.162	0.03081	0.02952	0.02925	0.02986	0.00083
3.981	0.03059	0.02974	0.02965	0.02999	0.00052
5.012	0.03020	0.02890	0.03016	0.02975	0.00074
6.31	0.03041	0.02895	0.02932	0.02956	0.00076
7.944	0.03020	0.02911	0.02926	0.02952	0.00059
10	0.03017	0.02896	0.02950	0.02954	0.00061
12.59	0.03035	0.02915	0.02916	0.02955	0.00069
15.85	0.03018	0.02902	0.02921	0.02947	0.00062
19.95	0.03020	0.02924	0.02905	0.02950	0.00062
25.12	0.03021	0.02926	0.02934	0.02960	0.00053
31.62	0.03040	0.02915	0.02917	0.02957	0.00072
39.81	0.03028	0.02924	0.02933	0.02962	0.00058

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.03040	0.02936	0.02937	0.02971	0.00060
63.1	0.03040	0.02927	0.02947	0.02971	0.00060
79.44	0.03080	0.02961	0.03061	0.03034	0.00064
100	0.03049	0.02949	0.02966	0.02988	0.00054

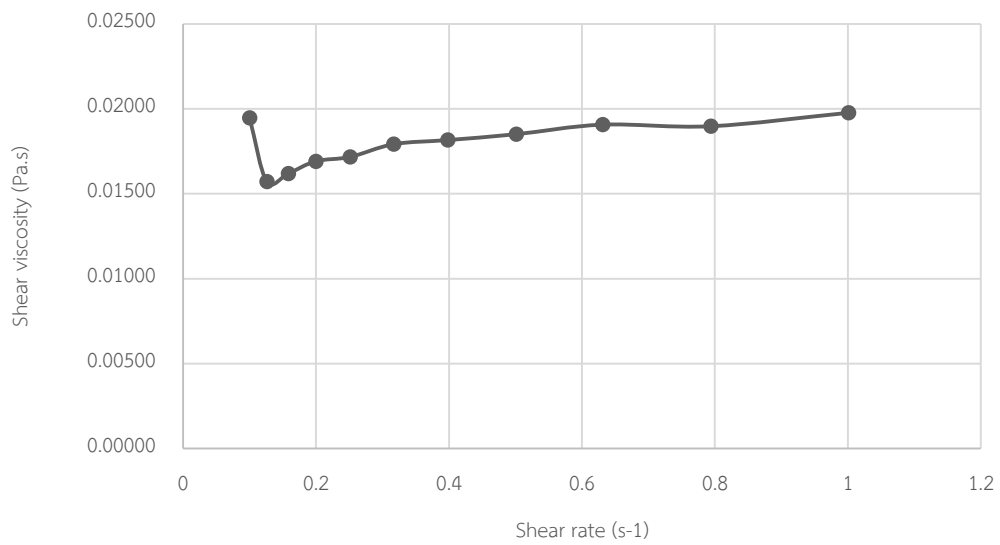


รูปที่ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Run 17)

ตารางที่ 40 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Formulation

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.01927	0.01975	0.01938	0.01947	0.00025
0.1259	0.01600	0.01606	0.01511	0.01572	0.00053
0.1584	0.01609	0.01658	0.01592	0.01620	0.00034
0.1997	0.01690	0.01742	0.01643	0.01692	0.00050
0.2515	0.01712	0.01750	0.01689	0.01717	0.00031
0.3167	0.01782	0.01837	0.01757	0.01792	0.00041
0.3984	0.01769	0.01849	0.01831	0.01816	0.00042
0.501	0.01845	0.01861	0.01846	0.01851	0.00009
0.631	0.01922	0.01915	0.01884	0.01907	0.00020
0.7942	0.01874	0.01945	0.01874	0.01898	0.00041
1.001	0.01954	0.01993	0.01983	0.01977	0.00020
1.259	0.01976	0.01930	0.01945	0.01950	0.00023
1.585	0.01983	0.02051	0.02094	0.02043	0.00056
1.995	0.02040	0.02141	0.02093	0.02091	0.00051
2.512	0.01491	0.02381	0.02308	0.02060	0.00494
3.162	0.01983	0.02083	0.02050	0.02039	0.00051
3.981	0.01984	0.02044	0.02032	0.02020	0.00032
5.012	0.01999	0.02073	0.02031	0.02034	0.00037
6.31	0.01964	0.02009	0.01984	0.01986	0.00023
7.944	0.01959	0.02025	0.02006	0.01997	0.00034
10	0.01975	0.02022	0.02012	0.02003	0.00025
12.59	0.01947	0.02010	0.01982	0.01980	0.00032
15.85	0.01955	0.02011	0.01982	0.01983	0.00028
19.95	0.01972	0.02029	0.02006	0.02002	0.00029
25.12	0.01950	0.02010	0.01997	0.01986	0.00032
31.62	0.01954	0.02016	0.01994	0.01988	0.00031
39.81	0.01971	0.02023	0.02003	0.01999	0.00026

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
50.12	0.01969	0.02038	0.02007	0.02005	0.00035
63.1	0.01956	0.02049	0.02024	0.02010	0.00048
79.44	0.01983	0.02044	0.02002	0.02010	0.00031
100	0.01982	0.02054	0.02034	0.02023	0.00037

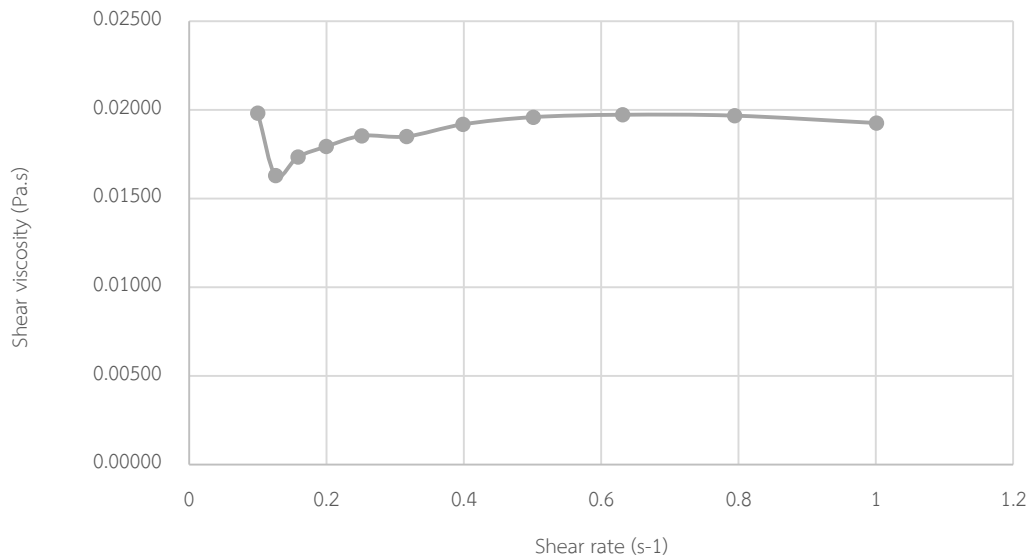


รูปที่ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Formulation)

ตารางที่ 41 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่า Shear viscosity (Pa·s) ของ Formulation + Violacein 2.5 mg/ml

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	0.02001	0.01955	0.01994	0.01983	0.00025
0.1259	0.01654	0.01591	0.01649	0.01631	0.00035
0.1584	0.01711	0.01751	0.01744	0.01735	0.00021
0.1997	0.01808	0.01813	0.01761	0.01794	0.00029
0.2515	0.01861	0.01869	0.01834	0.01855	0.00018
0.3167	0.01843	0.01878	0.01832	0.01851	0.00024
0.3984	0.01874	0.01982	0.01901	0.01919	0.00056
0.501	0.01909	0.02003	0.01968	0.01960	0.00048
0.631	0.01894	0.02039	0.01987	0.01973	0.00073
0.7942	0.01894	0.02048	0.01963	0.01968	0.00077
1.001	0.01821	0.02064	0.01895	0.01927	0.00125
1.259	0.02053	0.02137	0.02098	0.02096	0.00042
1.585	0.02041	0.02241	0.02119	0.02134	0.00101
1.995	0.02075	0.02210	0.02148	0.02144	0.00068
2.512	0.01834	0.02213	0.01794	0.01947	0.00231
3.162	0.02093	0.02141	0.02059	0.02098	0.00041
3.981	0.02008	0.02121	0.02036	0.02055	0.00059
5.012	0.02080	0.01953	0.02112	0.02048	0.00084
6.31	0.02001	0.02093	0.02033	0.02042	0.00047
7.944	0.02008	0.02102	0.02021	0.02044	0.00051
10	0.02017	0.02138	0.02000	0.02052	0.00075
12.59	0.01993	0.02101	0.02023	0.02039	0.00056
15.85	0.02016	0.02096	0.02023	0.02045	0.00044
19.95	0.02005	0.02106	0.02002	0.02038	0.00059
25.12	0.01995	0.02115	0.02017	0.02042	0.00064
31.62	0.02018	0.02099	0.02041	0.02053	0.00042

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)				ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	
39.81	0.01998	0.02108	0.02026	0.02044	0.00057
50.12	0.02008	0.02123	0.02023	0.02051	0.00063
63.1	0.02025	0.02097	0.02034	0.02052	0.00039
79.44	0.02025	0.02148	0.02084	0.02086	0.00062
100	0.02029	0.02136	0.02023	0.02063	0.00064



รูปที่ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate ($0.1-100 s^{-1}$) และ Shear viscosity (Formulation + Violacein 2.5 mg/mL)

ตารางที่ 42 แสดงค่า Shear rate (s^{-1}) เทียบกับค่าเฉลี่ย Shear viscosity (Pa·s) ของแต่ละตำรับ

Shear rate (s^{-1})	Shear viscosity (Pa·s)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	*F	**F/V
0.1	0.047	0.0233	0.014	0.060	0.033	0.016	0.028	0.073	0.060	0.109	0.011	0.025	0.070	0.025	0.014	0.016	0.028	0.019	0.020
0.1259	0.044	0.0198	0.010	0.057	0.028	0.012	0.024	0.069	0.057	0.107	0.007	0.022	0.067	0.022	0.009	0.013	0.027	0.016	0.016
0.1584	0.044	0.0213	0.011	0.058	0.027	0.013	0.024	0.070	0.058	0.108	0.008	0.023	0.068	0.023	0.009	0.013	0.028	0.016	0.017
0.1997	0.045	0.0217	0.012	0.058	0.027	0.014	0.025	0.071	0.059	0.108	0.008	0.024	0.069	0.024	0.009	0.014	0.028	0.017	0.018
0.2515	0.046	0.0223	0.012	0.058	0.027	0.014	0.025	0.071	0.059	0.108	0.007	0.025	0.070	0.025	0.010	0.014	0.028	0.017	0.019
0.3167	0.046	0.0229	0.012	0.059	0.028	0.014	0.026	0.072	0.059	0.108	0.008	0.025	0.071	0.025	0.010	0.015	0.029	0.018	0.019
0.3984	0.047	0.0231	0.013	0.058	0.028	0.015	0.026	0.073	0.059	0.108	0.008	0.026	0.072	0.026	0.011	0.015	0.029	0.018	0.019
0.501	0.047	0.0236	0.013	0.058	0.028	0.015	0.027	0.073	0.059	0.109	0.008	0.026	0.072	0.026	0.011	0.015	0.030	0.019	0.020
0.631	0.047	0.0242	0.013	0.058	0.028	0.016	0.027	0.074	0.059	0.108	0.008	0.027	0.073	0.026	0.012	0.016	0.030	0.019	0.020
0.7942	0.048	0.0242	0.014	0.058	0.028	0.016	0.028	0.073	0.060	0.108	0.009	0.027	0.073	0.027	0.012	0.016	0.028	0.019	0.020
1.001	0.047	0.0242	0.013	0.058	0.028	0.016	0.027	0.073	0.060	0.108	0.009	0.027	0.073	0.027	0.012	0.016	0.027	0.020	0.019
1.259	0.048	0.0244	0.013	0.058	0.028	0.016	0.028	0.074	0.061	0.110	0.009	0.028	0.074	0.028	0.013	0.016	0.028	0.020	0.021
1.585	0.049	0.0248	0.014	0.059	0.029	0.017	0.028	0.075	0.062	0.112	0.010	0.028	0.076	0.029	0.013	0.016	0.028	0.020	0.021
1.995	0.049	0.0247	0.015	0.060	0.029	0.018	0.029	0.075	0.061	0.110	0.010	0.028	0.075	0.029	0.014	0.016	0.028	0.021	0.021

Shear rate (s ⁻¹)	Shear viscosity (Pa·s)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	*F	**F/V
2.512	0.049	0.0219	0.014	0.058	0.031	0.018	0.027	0.073	0.060	0.110	0.008	0.027	0.074	0.028	0.012	0.015	0.029	0.021	0.019
3.162	0.049	0.0245	0.015	0.059	0.029	0.017	0.028	0.074	0.061	0.110	0.010	0.028	0.075	0.029	0.013	0.017	0.029	0.020	0.021
3.981	0.048	0.0243	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.073	0.060	0.110	0.010	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.021
5.012	0.048	0.0233	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.074	0.026	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
6.31	0.048	0.0240	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.074	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
7.944	0.048	0.0241	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.074	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
10	0.048	0.0238	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.074	0.028	0.013	0.016	0.029	0.020	0.021
12.59	0.048	0.0241	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
15.85	0.048	0.0240	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.029	0.020	0.020
19.95	0.048	0.0240	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.029	0.020	0.020
25.12	0.048	0.0241	0.014	0.059	0.029	0.016	0.027	0.074	0.060	0.110	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
31.62	0.048	0.0240	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.074	0.060	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.021
39.81	0.048	0.0240	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.074	0.060	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.020
50.12	0.049	0.0242	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.074	0.060	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.021
63.1	0.049	0.0242	0.013	0.059	0.029	0.016	0.028	0.074	0.061	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.021
79.44	0.049	0.0241	0.014	0.059	0.029	0.016	0.028	0.075	0.061	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.057	0.030	0.020	0.021

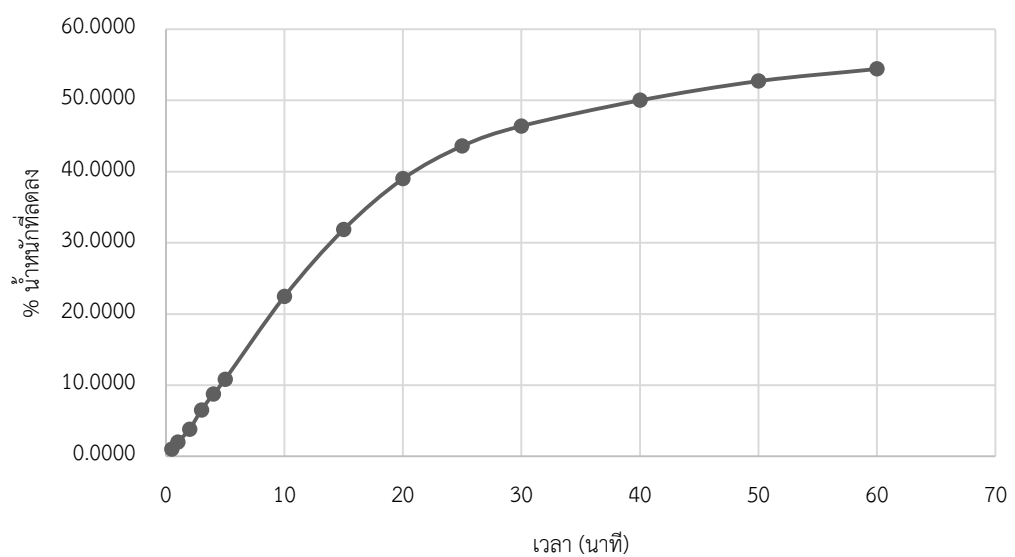
Shear rate (s ⁻¹)	Shear viscosity (Pa·s)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	*F	**F/V
100	0.049	0.0243	0.014	0.059	0.029	0.017	0.028	0.074	0.061	0.111	0.009	0.028	0.075	0.028	0.013	0.016	0.030	0.020	0.021

* F = Formulation

** F/V = Formulation + Violacein 2.5 mg/ml

ตารางที่ 43 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 1

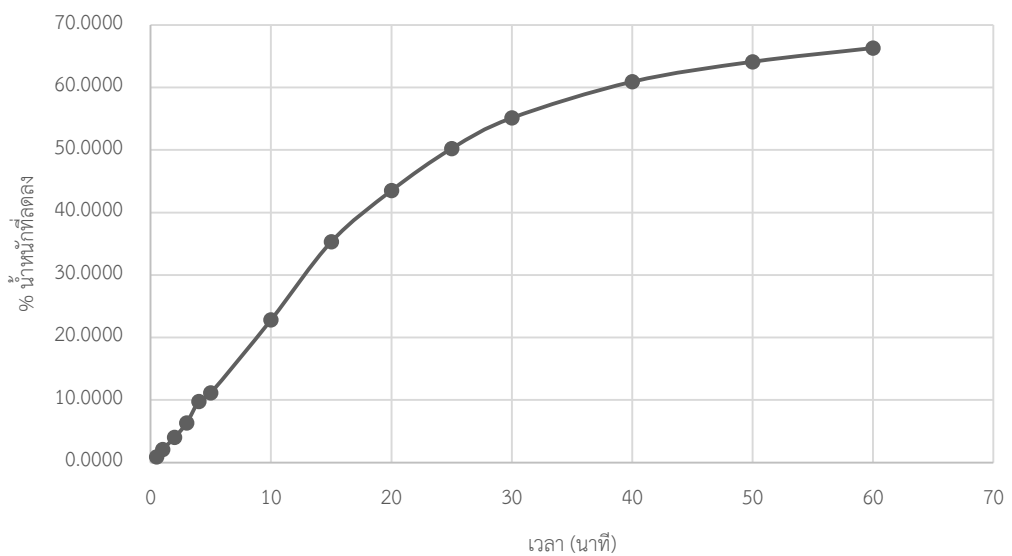
น้ำหนัก Plate	8.9400	9.0880	8.5525
0 s	9.1050	9.2535	8.7210
30 s	9.1030	9.2515	8.7200
60 s	9.1015	9.2495	8.7185
2 min	9.0985	9.2465	8.7155
3 min	9.0950	9.2425	8.7095
4 min	9.0920	9.2375	8.7065
5 min	9.0885	9.2345	8.7025
10 min	9.0705	9.2135	8.6835
15 min	9.0570	9.1965	8.6670
20 min	9.0450	9.1850	8.6550
25 min	9.0380	9.1770	8.6470
30 min	9.0330	9.1730	8.6420
40 min	9.0270	9.1670	8.6360
50 min	9.0225	9.1630	8.6310
60 min	9.0195	9.1605	8.6280



รูปที่ 36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 1)

ตารางที่ 44 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 2

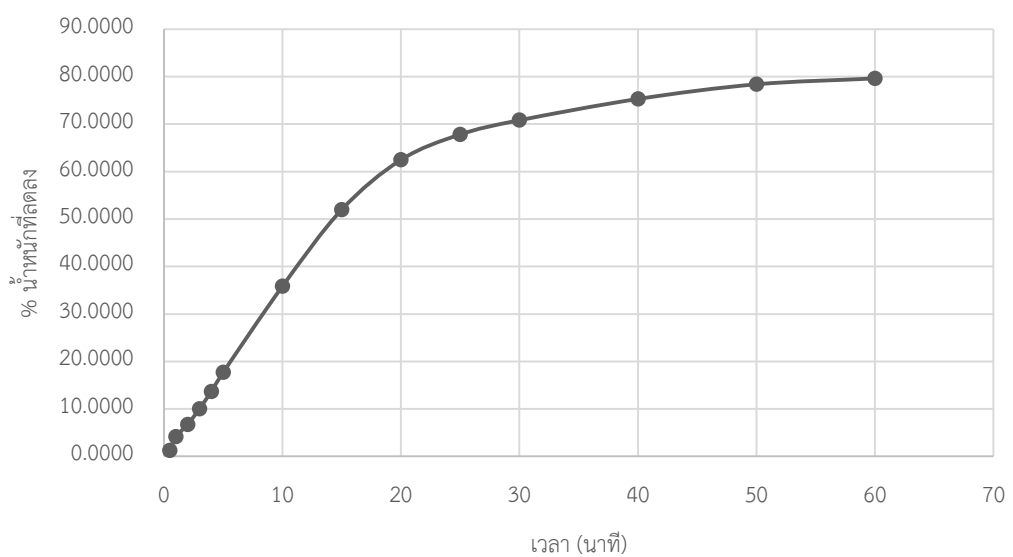
น้ำหนัก Plate	7.8965	7.8325	7.8320
0 s	8.0645	8.0250	7.9920
30 s	8.0635	8.0235	7.9900
60 s	8.0620	8.0200	7.9885
2 min	8.0590	8.0160	7.9855
3 min	8.0560	8.0120	7.9805
4 min	8.0530	8.0010	7.9760
5 min	8.0500	7.9990	7.9740
10 min	8.0335	7.9715	7.9565
15 min	8.0065	7.9520	7.9385
20 min	7.9945	7.9340	7.9255
25 min	7.9845	7.9205	7.9140
30 min	7.9770	7.9110	7.9055
40 min	7.9670	7.9010	7.8955
50 min	7.9605	7.8960	7.8905
60 min	7.9565	7.8915	7.8875



รูปที่ 37 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 2)

ตารางที่ 45 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 3

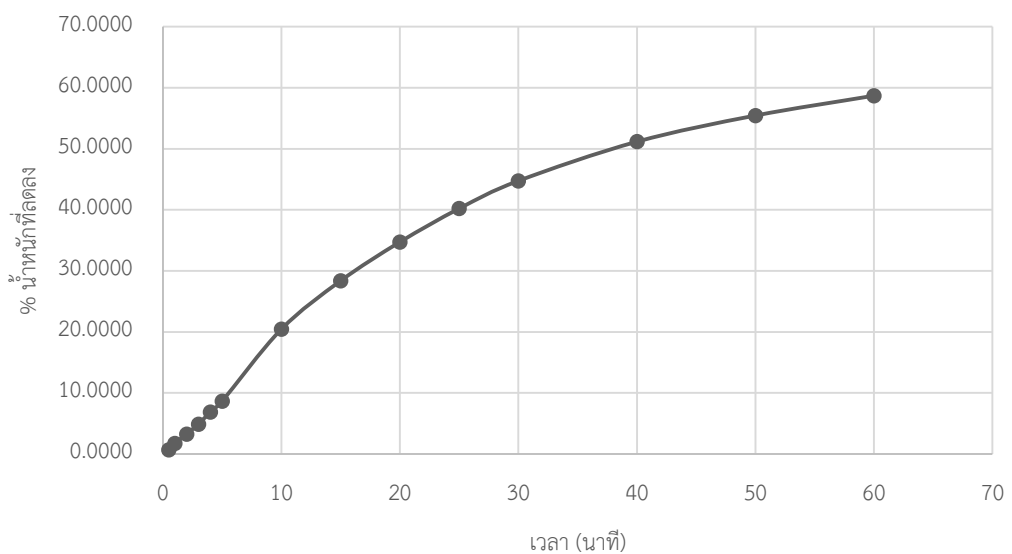
น้ำหนัก Plate	8.5585	8.5365	9.0715
0 s	8.7600	8.6920	9.2380
30 s	8.7575	8.6900	9.2360
60 s	8.7545	8.6835	9.2310
2 min	8.7495	8.6810	9.2250
3 min	8.7440	8.6735	9.2210
4 min	8.7355	8.6700	9.2135
5 min	8.7270	8.6635	9.2075
10 min	8.6845	8.6355	9.1820
15 min	8.6495	8.6110	9.1565
20 min	8.6310	8.5945	9.1370
25 min	8.6225	8.5850	9.1275
30 min	8.6175	8.5800	9.1220
40 min	8.6085	8.5735	9.1140
50 min	8.6010	8.5700	9.1085
60 min	8.5985	8.5685	9.1060



รูปที่ 38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 3)

ตารางที่ 46 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 4

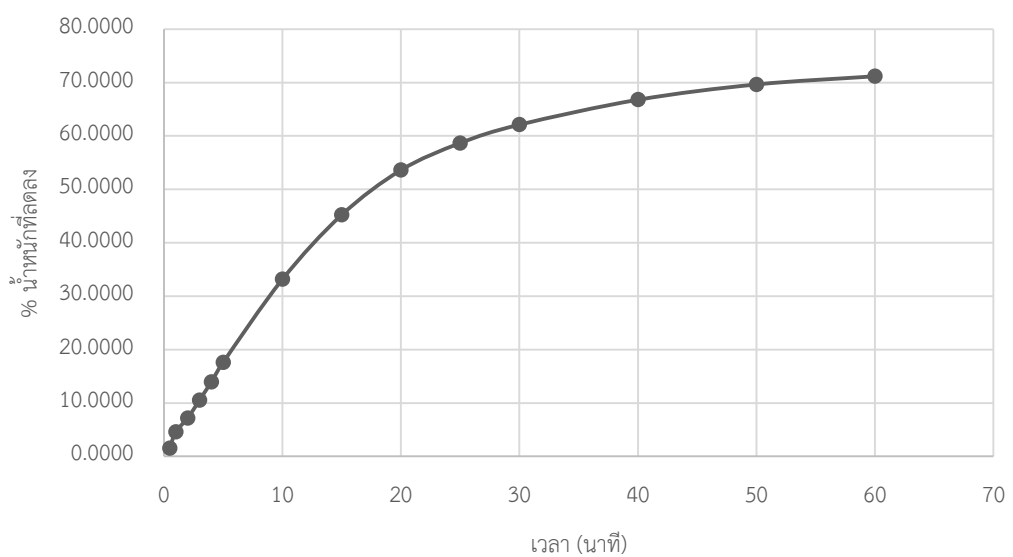
น้ำหนัก Plate	7.8190	7.3140	7.7200
0 s	8.0015	7.5145	7.9200
30 s	8.0000	7.5135	7.9185
60 s	7.9980	7.5115	7.9165
2 min	7.9950	7.5085	7.9135
3 min	7.9920	7.5050	7.9105
4 min	7.9890	7.5015	7.9055
5 min	7.9865	7.4975	7.9015
10 min	7.9620	7.4745	7.8805
15 min	7.9455	7.4610	7.8645
20 min	7.9335	7.4495	7.8510
25 min	7.9240	7.4395	7.8385
30 min	7.9160	7.4295	7.8300
40 min	7.9050	7.4160	7.8170
50 min	7.8975	7.4075	7.8080
60 min	7.8920	7.4010	7.8010



รูปที่ 39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 4)

ตารางที่ 47 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 5

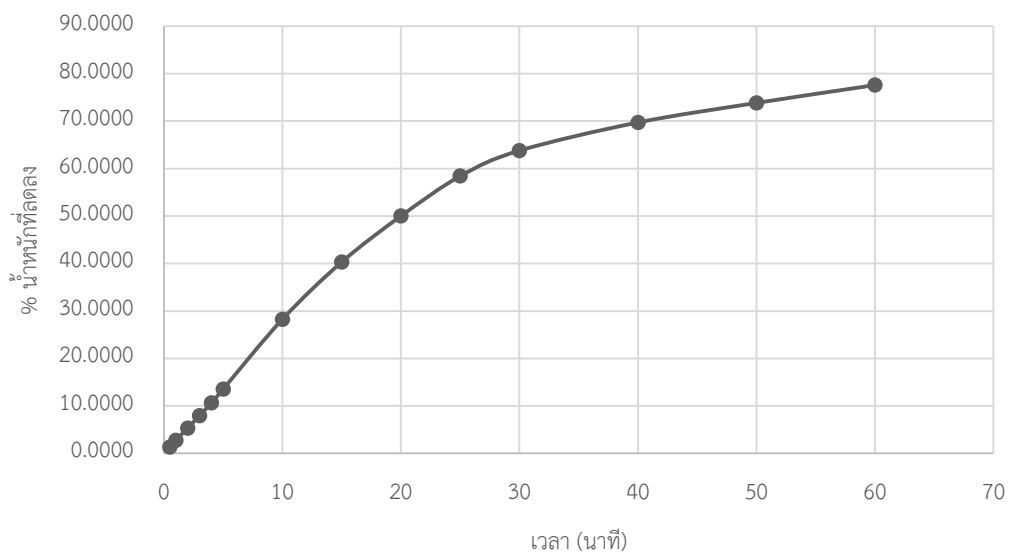
น้ำหนัก Plate	8.5295	8.5690	8.5640
0 s	8.7050	8.7300	8.7520
30 s	8.7015	8.7280	8.7495
60 s	8.6980	8.7220	8.7430
2 min	8.6930	8.7180	8.7385
3 min	8.6855	8.7125	8.7340
4 min	8.6780	8.7085	8.7275
5 min	8.6730	8.7035	8.7180
10 min	8.6420	8.6795	8.6915
15 min	8.6200	8.6620	8.6675
20 min	8.6040	8.6490	8.6525
25 min	8.5960	8.6400	8.6430
30 min	8.5905	8.6340	8.6365
40 min	8.5820	8.6265	8.6280
50 min	8.5785	8.6210	8.6220
60 min	8.5765	8.6180	8.6190



รูปที่ 40 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 5)

ตารางที่ 48 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 6

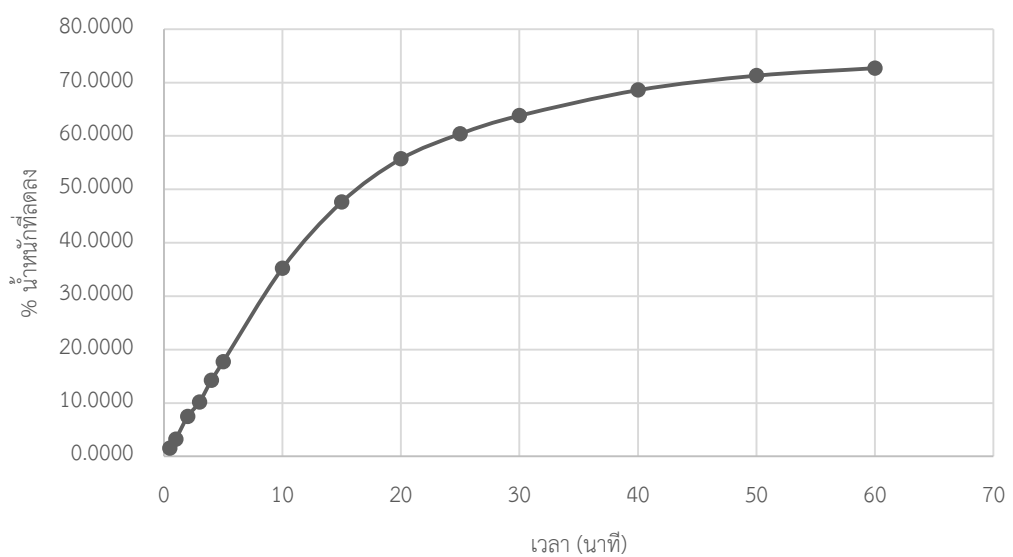
น้ำหนัก Plate	7.8105	7.8960	7.8300
0 s	7.9995	8.0760	8.0085
30 s	7.9970	8.0740	8.0060
60 s	7.9940	8.0710	8.0040
2 min	7.9895	8.0665	7.9990
3 min	7.9845	8.0615	7.9945
4 min	7.9800	8.0570	7.9890
5 min	7.9755	8.0510	7.9835
10 min	7.9490	8.0225	7.9580
15 min	7.9255	8.0035	7.9345
20 min	7.9080	7.9860	7.9165
25 min	7.8935	7.9705	7.9005
30 min	7.8820	7.9610	7.8920
40 min	7.8705	7.9505	7.8815
50 min	7.8635	7.9435	7.8730
60 min	7.8570	7.9365	7.8660



รูปที่ 41 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 6)

ตารางที่ 49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 7

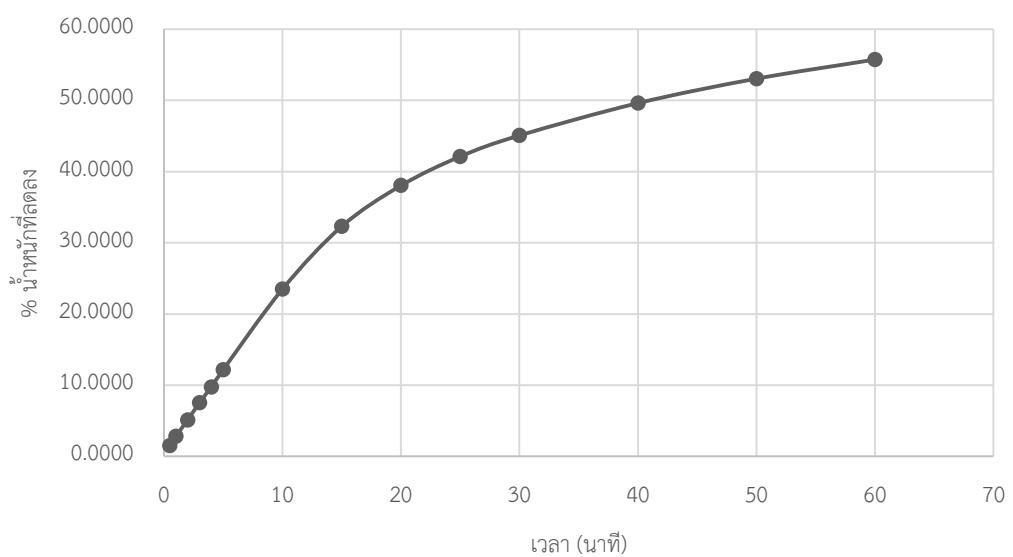
น้ำหนัก Plate	9.0725	8.9525	8.5335
0 s	9.2475	9.1105	8.7005
30 s	9.2455	9.1080	8.6975
60 s	9.2425	9.1055	8.6945
2 min	9.2375	9.0980	8.6860
3 min	9.2330	9.0940	8.6810
4 min	9.2240	9.0885	8.6750
5 min	9.2180	9.0830	8.6690
10 min	9.1875	9.0560	8.6390
15 min	9.1660	9.0365	8.6180
20 min	9.1515	9.0245	8.6040
25 min	9.1425	9.0170	8.5970
30 min	9.1365	9.0115	8.5915
40 min	9.1280	9.0045	8.5830
50 min	9.1230	8.9995	8.5795
60 min	9.1205	8.9970	8.5775



รูปที่ 42 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 7)

ตารางที่ 50 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 8

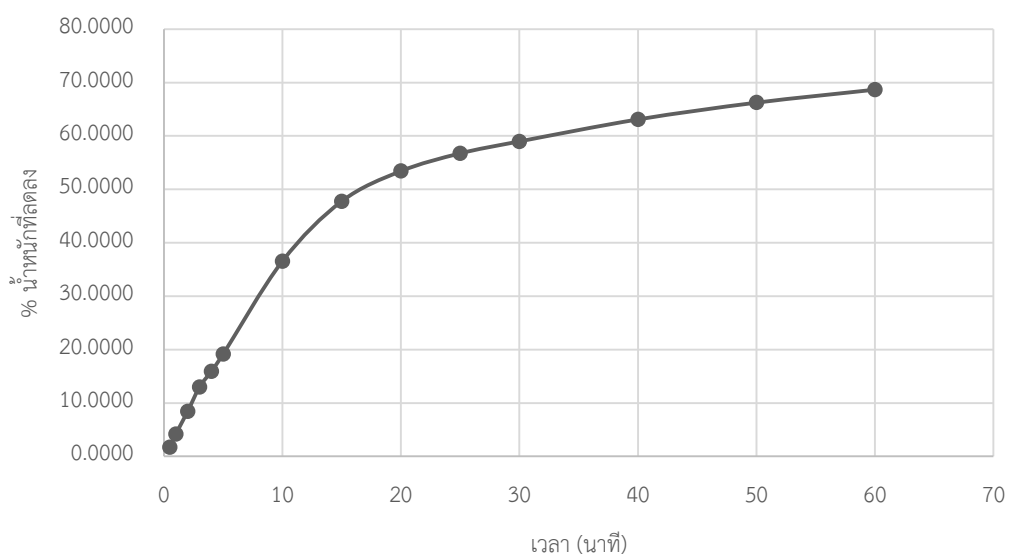
น้ำหนัก Plate	7.7910	7.9055	7.9020
0 s	7.9755	8.0890	8.0735
30 s	7.9735	8.0860	8.0705
60 s	7.9705	8.0840	8.0685
2 min	7.9665	8.0800	8.0640
3 min	7.9620	8.0755	8.0600
4 min	7.9580	8.0720	8.0555
5 min	7.9540	8.0670	8.0515
10 min	7.9340	8.0460	8.0315
15 min	7.9170	8.0315	8.0155
20 min	7.9070	8.0200	8.0060
25 min	7.8990	8.0130	7.9990
30 min	7.8935	8.0070	7.9945
40 min	7.8850	7.9990	7.9865
50 min	7.8790	7.9925	7.9805
60 min	7.8740	7.9875	7.9760



รูปที่ 43 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 8)

ตารางที่ 51 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 9

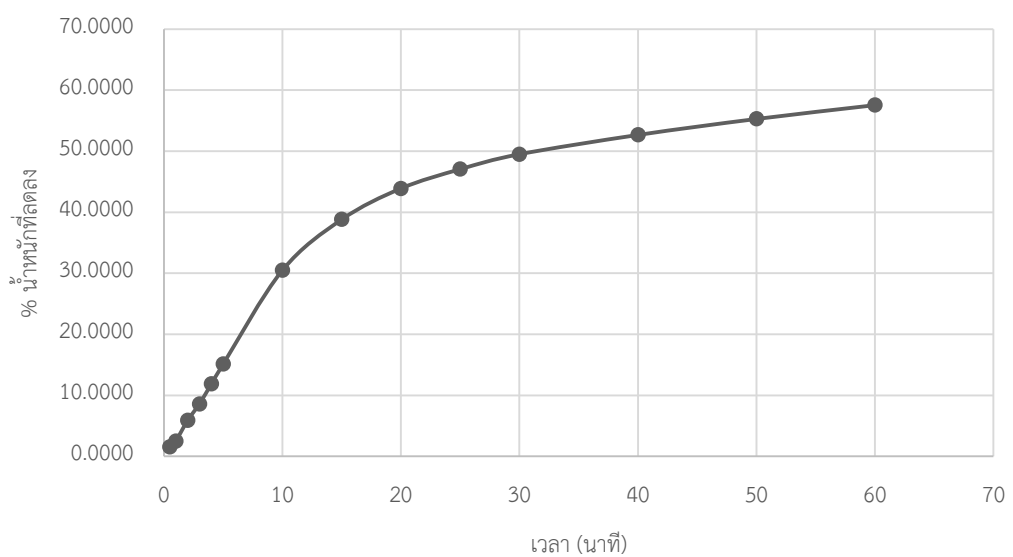
น้ำหนัก Plate	8.5585	9.0730	9.0905
0 s	8.7385	9.2580	9.2825
30 s	8.7360	9.2545	9.2790
60 s	8.7285	9.2515	9.2760
2 min	8.7185	9.2455	9.2685
3 min	8.7135	9.2335	9.2600
4 min	8.7090	9.2280	9.2535
5 min	8.7045	9.2210	9.2470
10 min	8.6735	9.1875	9.2145
15 min	8.6550	9.1660	9.1920
20 min	8.6435	9.1570	9.1810
25 min	8.6375	9.1510	9.1745
30 min	8.6335	9.1470	9.1700
40 min	8.6270	9.1395	9.1610
50 min	8.6215	9.1335	9.1550
60 min	8.6165	9.1290	9.1510



รูปที่ 44 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 9)

ตารางที่ 52 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 10

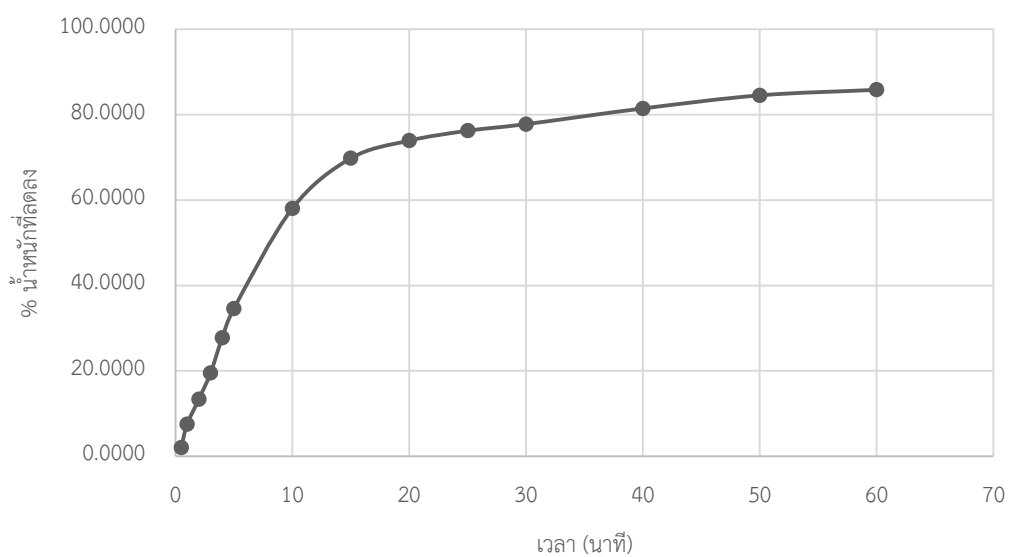
น้ำหนัก Plate	8.4020	8.4205	7.8230
0 s	8.5785	8.6135	8.0060
30 s	8.5760	8.6100	8.0035
60 s	8.5760	8.6070	8.0010
2 min	8.5685	8.6015	7.9955
3 min	8.5635	8.5965	7.9905
4 min	8.5585	8.5915	7.9825
5 min	8.5540	8.5845	7.9760
10 min	8.5280	8.5555	7.9460
15 min	8.5115	8.5380	7.9340
20 min	8.5010	8.5290	7.9255
25 min	8.4960	8.5220	7.9200
30 min	8.4915	8.5180	7.9150
40 min	8.4860	8.5115	7.9095
50 min	8.4820	8.5060	7.9045
60 min	8.4780	8.5020	7.9000



รูปที่ 45 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 10)

ตารางที่ 53 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 11

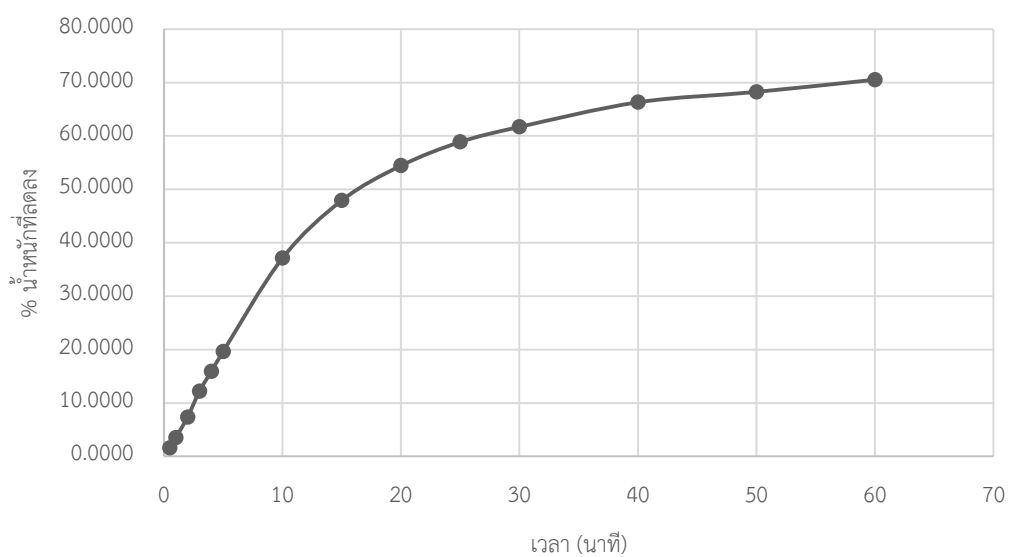
น้ำหนัก Plate	7.9005	8.4010	7.8340
0 s	8.0635	8.6005	7.9960
30 s	8.0595	8.5960	7.9935
60 s	8.0415	8.5885	7.9910
2 min	8.0265	8.5800	7.9845
3 min	8.0130	8.5715	7.9750
4 min	7.9925	8.5575	7.9665
5 min	7.9750	8.5480	7.9585
10 min	7.9425	8.4930	7.9215
15 min	7.9295	8.4695	7.8965
20 min	7.9250	8.4625	7.8865
25 min	7.9235	8.4555	7.8825
30 min	7.9235	8.4505	7.8790
40 min	7.9235	8.4390	7.8705
50 min	7.9235	8.4305	7.8625
60 min	7.9235	8.4295	7.8570



รูปที่ 46 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 11)

ตารางที่ 54 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 12

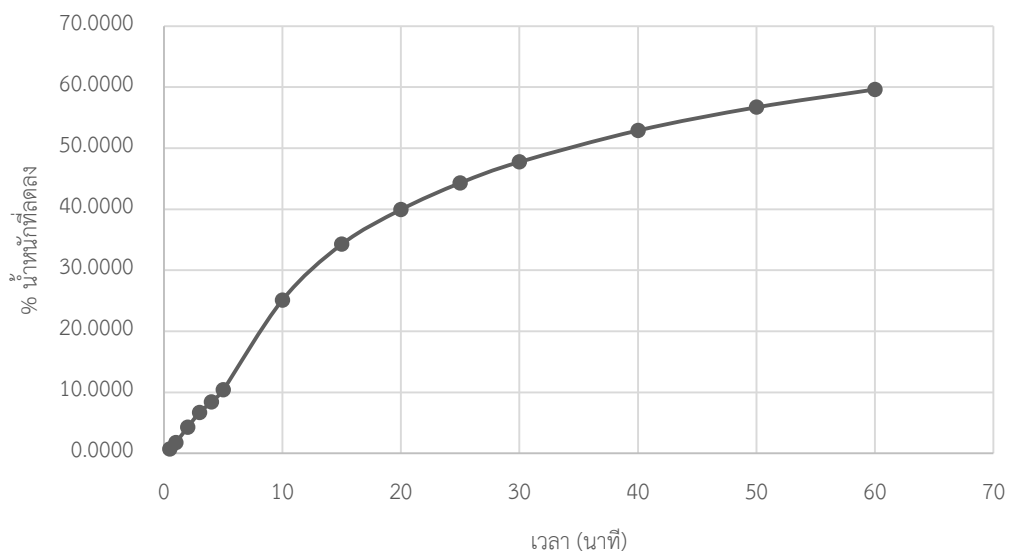
น้ำหนัก Plate	9.0730	8.9540	8.9425
0 s	9.2665	9.1200	9.1265
30 s	9.2645	9.1170	9.1230
60 s	9.2605	9.1135	9.1200
2 min	9.2575	9.1020	9.1145
3 min	9.2505	9.0925	9.1050
4 min	9.2435	9.0840	9.1005
5 min	9.2375	9.0765	9.0940
10 min	9.2115	9.0415	9.0610
15 min	9.1920	9.0225	9.0410
20 min	9.1770	9.0155	9.0270
25 min	9.1655	9.0105	9.0190
30 min	9.1585	9.0065	9.0145
40 min	9.1495	8.9980	9.0070
50 min	9.1445	8.9980	9.0010
60 min	9.1395	8.9950	8.9965



รูปที่ 47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 12)

ตารางที่ 55 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 13

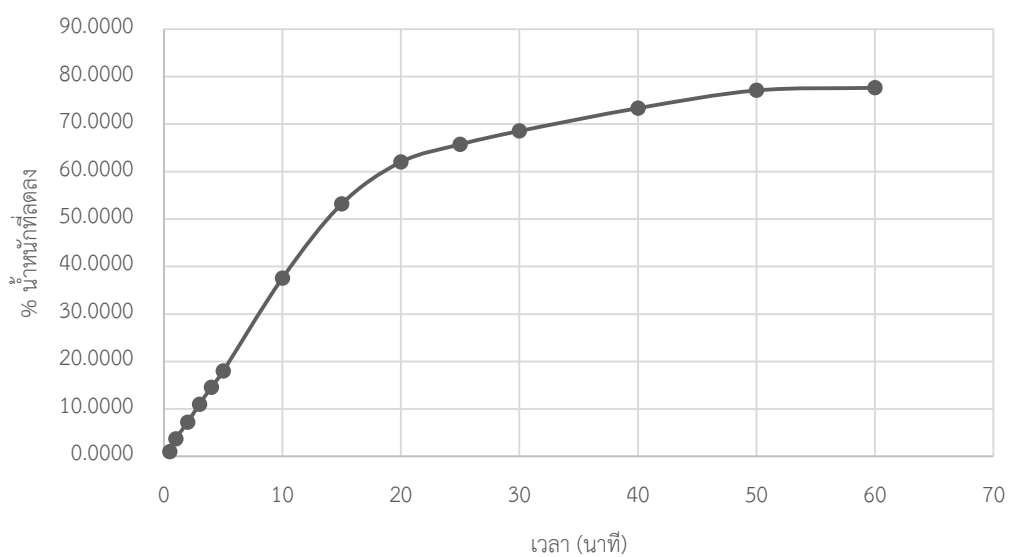
น้ำหนัก Plate	7.8030	7.8080	8.4085
0 s	7.9890	7.9965	8.6140
30 s	7.9875	7.9955	8.6125
60 s	7.9855	7.9935	8.6105
2 min	7.9820	7.9895	8.6030
3 min	7.9785	7.9855	8.5965
4 min	7.9750	7.9820	8.5935
5 min	7.9720	7.9770	8.5900
10 min	7.9425	7.9470	8.5645
15 min	7.9265	7.9290	8.5455
20 min	7.9165	7.9180	8.5335
25 min	7.9100	7.9100	8.5225
30 min	7.9040	7.9035	8.5150
40 min	7.8940	7.8945	8.5040
50 min	7.8870	7.8875	8.4960
60 min	7.8815	7.8820	8.4900



รูปที่ 48 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 13)

ตารางที่ 56 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 14

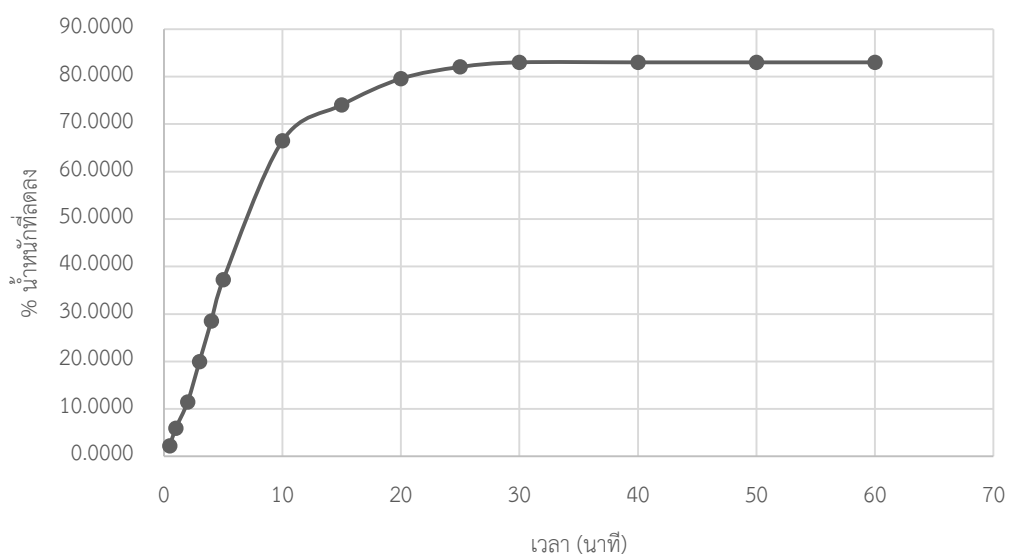
น้ำหนัก Plate	8.5420	8.5380	9.0775
0 s	8.7150	8.7190	9.2735
30 s	8.7135	8.7175	9.2710
60 s	8.7100	8.7120	9.2650
2 min	8.7025	8.7070	9.2585
3 min	8.6970	8.6990	9.2510
4 min	8.6900	8.6925	9.2450
5 min	8.6835	8.6855	9.2400
10 min	8.6515	8.6485	9.2010
15 min	8.6250	8.6210	9.1690
20 min	8.6080	8.6060	9.1525
25 min	8.6020	8.5995	9.1445
30 min	8.5975	8.5940	9.1390
40 min	8.5890	8.5860	9.1290
50 min	8.5825	8.5785	9.1225
60 min	8.5805	8.5785	9.1215



รูปที่ 49 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 14)

ตารางที่ 57 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 15

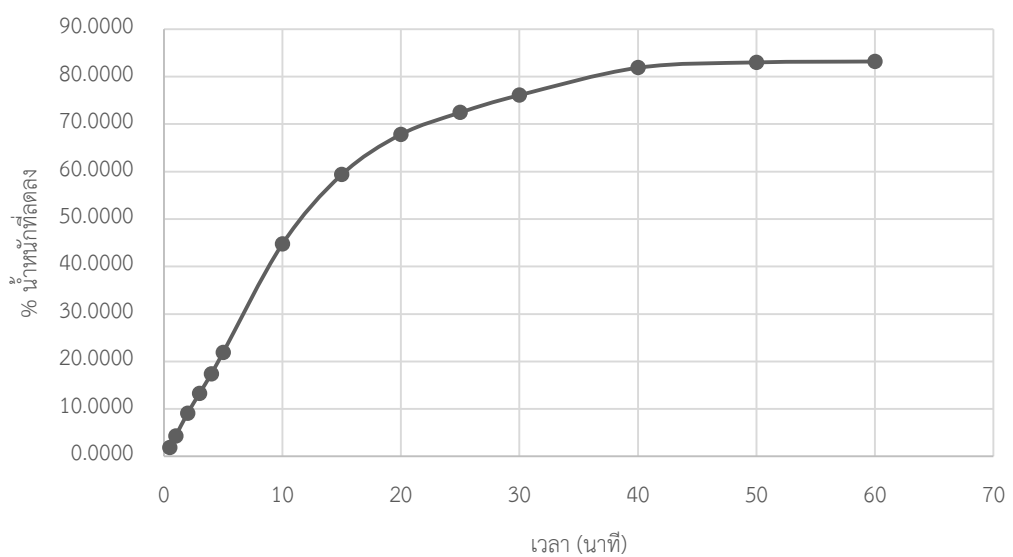
น้ำหนัก Plate	8.4160	7.9160	7.9090
0 s	8.6035	8.0595	8.0485
30 s	8.5990	8.0565	8.0455
60 s	8.5955	8.0500	8.0390
2 min	8.5855	8.0420	8.0310
3 min	8.5750	8.0300	8.0150
4 min	8.5605	8.0170	8.0025
5 min	8.5430	8.0050	7.9910
10 min	8.4855	7.9610	7.9540
15 min	8.4700	7.9520	7.9425
20 min	8.4615	7.9450	7.9325
25 min	8.4535	7.9405	7.9325
30 min	8.4480	7.9405	7.9325
40 min	8.4480	7.9405	7.9325
50 min	8.4480	7.9405	7.9325
60 min	8.4480	7.9405	7.9325



รูปที่ 50 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 15)

ตารางที่ 58 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 16

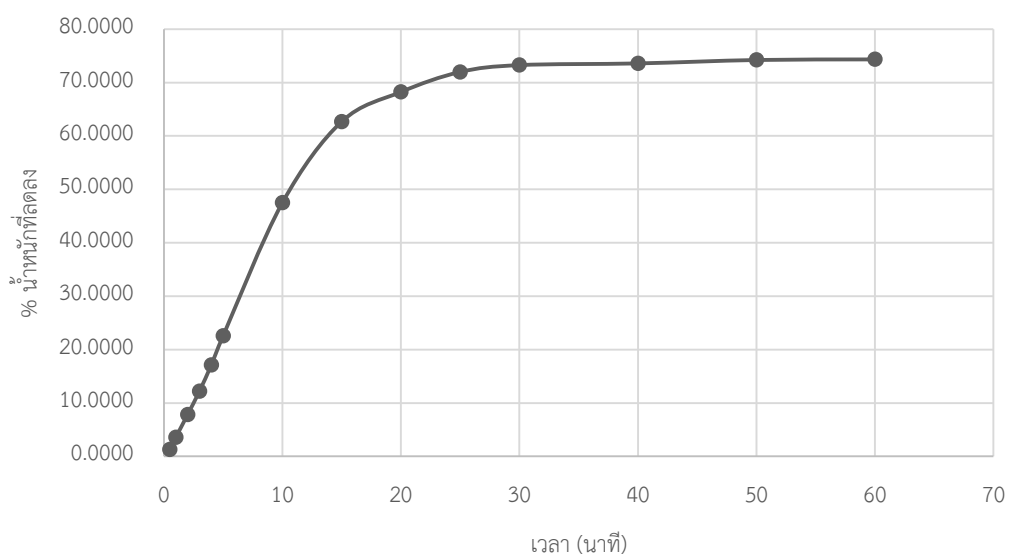
น้ำหนัก Plate	9.0730	8.9615	8.5390
0 s	9.2560	9.1865	8.7070
30 s	9.2530	9.1825	8.7035
60 s	9.2450	9.1790	8.7010
2 min	9.2380	9.1675	8.6920
3 min	9.2300	9.1580	8.6855
4 min	9.2230	9.1500	8.6770
5 min	9.2170	9.1350	8.6710
10 min	9.1800	9.0865	8.6260
15 min	9.1570	9.0510	8.6000
20 min	9.1380	9.0325	8.5885
25 min	9.1270	9.0230	8.5825
30 min	9.1205	9.0150	8.5760
40 min	9.1090	9.0015	8.5675
50 min	9.1040	9.0000	8.5675
60 min	9.1035	9.0000	8.5670



รูปที่ 51 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 16)

ตารางที่ 59 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Run 17

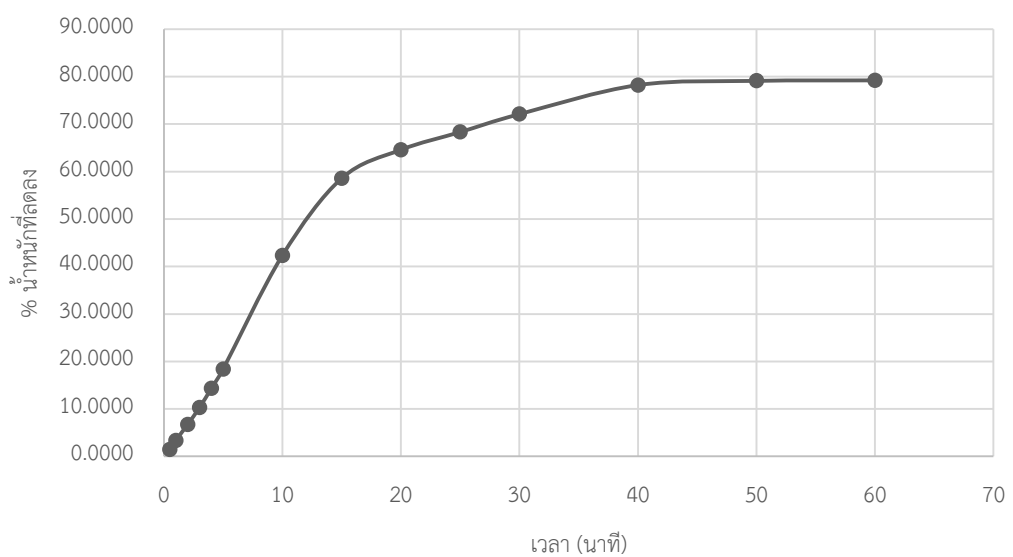
น้ำหนัก Plate	8.9665	8.9585	9.0855
0 s	9.1225	9.1135	9.2420
30 s	9.1200	9.1120	9.2400
60 s	9.1165	9.1085	9.2365
2 min	9.1095	9.1020	9.2300
3 min	9.1025	9.0950	9.2235
4 min	9.0955	9.0885	9.2140
5 min	9.0890	9.0780	9.2055
10 min	9.0510	9.0360	9.1690
15 min	9.0255	9.0145	9.1450
20 min	9.0155	9.0065	9.1370
25 min	9.0090	9.0015	9.1310
30 min	9.0080	8.9990	9.1285
40 min	9.0080	8.9990	9.1270
50 min	9.0065	8.9985	9.1260
60 min	9.0065	8.9980	9.1260



รูปที่ 52 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Run 17)

ตารางที่ 60 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Formulation

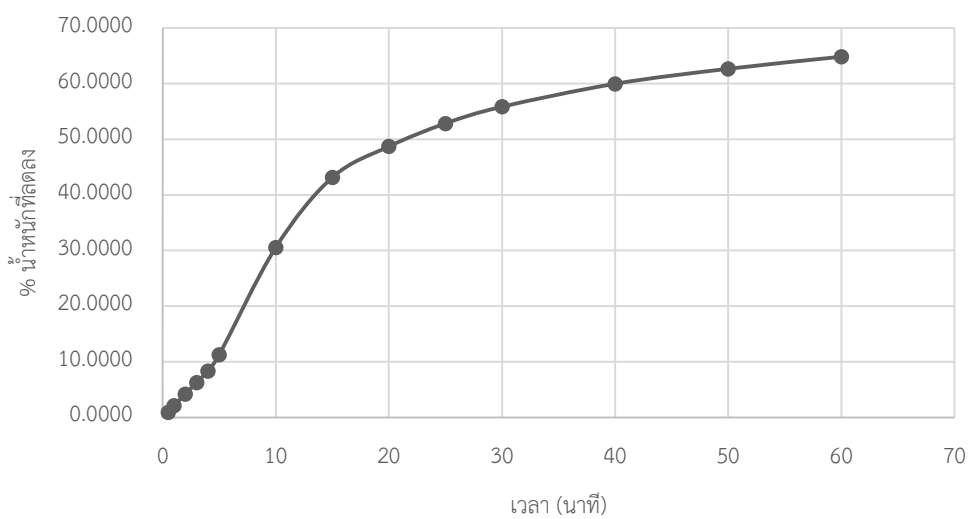
น้ำหนัก Plate	7.9150	8.3955	7.8950
0 s	8.0755	8.5700	8.1225
30 s	8.0740	8.5670	8.1185
60 s	8.0710	8.5635	8.1145
2 min	8.0645	8.5580	8.1080
3 min	8.0590	8.5515	8.1000
4 min	8.0525	8.5455	8.0895
5 min	8.0475	8.5375	8.0790
10 min	8.0040	8.4940	8.0340
15 min	7.9805	8.4660	7.9930
20 min	7.9705	8.4565	7.9785
25 min	7.9650	8.4495	7.9700
30 min	7.9595	8.4430	7.9605
40 min	7.9505	8.4330	7.9445
50 min	7.9490	8.4315	7.9425
60 min	7.9485	8.4315	7.9425



รูปที่ 53 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Formulation)

ตารางที่ 61 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักรที่ลดลงกับเวลา (นาที) ของ Formulation +
Violacein 2.5 mg/mL

น้ำหนัก Plate	9.0880	8.5355	8.9485
0 s	9.3460	8.7900	9.2250
30 s	9.3440	8.7875	9.2220
60 s	9.3420	8.7850	9.2170
2 min	9.3365	8.7790	9.2125
3 min	9.3305	8.7695	9.2065
4 min	9.3240	8.7640	9.2000
5 min	9.3140	8.7610	9.1915
10 min	9.2815	8.7320	9.1580
15 min	9.2550	8.7005	9.1270
20 min	9.2295	8.6775	9.1050
25 min	9.2135	8.6640	9.0875
30 min	9.2055	8.6550	9.0785
40 min	9.1945	8.6445	9.0665
50 min	9.1870	8.6370	9.0570
60 min	9.1785	8.6310	9.0510



รูปที่ 54 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %น้ำหนักรที่ลดลงกับเวลา (นาที) (Formulation +
Violacein 2.5 mg/mL)

ตารางที่ 62 แสดงค่า Stress (MPa), Strain (%) และ Toughness (MJ/m³)

Run	Stress (MPa)					Strain (%)					Toughness (MJ/m ³)				
	1	2	3	AVG	SD	1	2	3	AVG	SD	1	2	3	AVG	SD
1	0.088	0.090	0.091	0.090	0.001	189.046	193.974	195.660	192.893	3.437	0.056	0.059	0.061	0.059	0.003
2	0.055	0.055	0.061	0.057	0.003	260.338	263.080	274.648	266.022	7.595	0.070	0.079	0.086	0.079	0.008
3	0.044	0.046	0.047	0.046	0.002	125.528	147.908	162.894	145.443	18.805	0.001	0.010	0.017	0.009	0.008
4	ไม่สามารถทำการวัดค่าได้														
5	0.095	0.108	0.110	0.104	0.008	125.660	136.224	146.644	136.176	10.492	0.000	0.007	0.016	0.008	0.008
6	0.057	0.057	0.057	0.057	0.000	180.854	190.978	206.178	192.670	12.747	0.031	0.031	0.044	0.035	0.008
7	0.159	0.165	0.167	0.164	0.004	123.666	129.352	131.222	128.080	3.935	0.008	0.009	0.014	0.010	0.003
8	0.090	0.091	0.091	0.091	0.001	257.016	262.720	264.832	261.523	4.043	0.142	0.143	0.145	0.143	0.001
9	0.2269	0.2336	0.2680	0.2429	0.0221	124.9720	125.1280	125.3960	125.1653	0.2145	0.0021	0.0027	0.0045	0.0031	0.0013
10	0.1223	0.1234	0.1247	0.1235	0.0012	225.7340	229.3600	231.0120	228.7020	2.6998	0.1120	0.1128	0.1226	0.1158	0.0059
11	0.0837	0.0854	0.0855	0.0849	0.0010	137.0740	154.6640	155.9460	149.2280	10.5452	0.0097	0.0194	0.0207	0.0166	0.0060
12	0.1091	0.1107	0.1118	0.1105	0.0014	147.0180	161.3160	180.3860	162.9067	16.7408	0.0008	0.0042	0.0161	0.0070	0.0081
13	0.2005	0.2047	0.2051	0.2034	0.0025	182.3360	184.4400	188.4500	185.0753	3.1061	0.1087	0.1127	0.1138	0.1117	0.0027
14	0.0449	0.0762	0.0766	0.0659	0.0182	129.3340	129.4860	129.7880	129.5360	0.2311	0.0003	0.0009	0.0009	0.0007	0.0003
15	0.1620	0.1136	0.1089	0.1282	0.0294	128.3920	131.0900	131.6260	130.3693	1.7333	0.0075	0.0029	0.0076	0.0060	0.0027

Run	Stress (MPa)					Strain (%)					Toughness (MJ/m ³)				
	1	2	3	AVG	SD	1	2	3	AVG	SD	1	2	3	AVG	SD
16	ไม่สามารถทำการวัดค่าได้														
17	0.0412	0.0416	0.0421	0.0417	0.0004	291.9140	294.9760	295.0000	293.9633	1.7748	0.0727	0.0729	0.0777	0.0744	0.0028
Ref	ไม่สามารถทำการวัดค่าได้														
F	0.0375	0.0377	0.0383	0.0379	0.0004	276.9820	282.1020	283.7460	280.9433	3.5277	0.0495	0.0537	0.0559	0.0530	0.0032
F/V	0.0189	0.0191	0.0198	0.0193	0.0004	307.5000	310.8680	322.0940	313.4873	7.6415	0.0290	0.0317	0.0329	0.0312	0.0020

* F = Formulation

** F/V = Formulation + Violacein 2.5 mg/ml

แบบฟอร์มรายงานการเงิน

รายงานสรุปการเงิน

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาและประเมินรูปแบบกึ่งฟิล์มชนิดสเปรย์นำส่งไวโอลาซินสำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ญญ.ผศ.ดร. ธนิกานต์ แสงนิ่ม

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2563 ถึงวันที่ 9 เมษายน 2564

ระยะเวลาดำเนินการ 11 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2563 ถึงวันที่ 9 เมษายน 2564

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ (100%) 9,000 บาท เมื่อวันที่ 2 กุมภาพันธ์ 2564

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าวัสดุและสารเคมี	8,500	8,500	เหลือ 0 บาท
2. ค่าใช้เครื่อง Texture analysis	500	500	เหลือ 0 บาท
รวม	9,000	9,000	เหลือ 0 บาท

(.....)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย