โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคู ผสมผงว่านนางคำ

The development of translucent powder from Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) powder and *Curcuma aromatic* Salisb. Powder

โดย

นศภ.ธันย์ชนก อุนะกุล	**รหัสนิสิต 59210109**
นศภ.กัญจนพร สุขอรรถกิจ	**รหัสนิสิต 59210232**
นศภ.วิภาดา ขุนยัง	**รหัสนิสิต 59210234**

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคู ผสมผงว่านนางคำ

The development of translucent powder from Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) powder and *Curcuma aromatic* Salisb. Powder

โดย

นศภ.ธันย์ชนก อุนะกุล	**รหัสนิสิต 59210109**
นศภ.กัญจนพร สุขอรรถกิจ	**รหัสนิสิต 59210232**
นศภ.วิภาดา ขุนยัง	**รหัสนิสิต 59210234**

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2563

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

แป้งฝุ่นทาหน้าที่มีวางจำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบัน (พุทธศักราช 2563) มีคุณสมบัติเน้นความเรียบเนียนของผิวหน้าเป็นพิเศษ ซึ่งในแป้งฝุ่นเหล่านี้แม้จะมีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยซับความมันบนผิวหน้าได้ดี ทำให้ผิวหน้าดูเป็นธรรมชาติ ไม่ขาวโดดจนเกินงาม แต่หากลองพลิกดูส่วนประกอบของแป้งเหล่านี้ เราจะว่ามีส่วนประกอบของทัลคัมอยู่ในตำรับ ซึ่งเกิดมาจากกระบวนการในการผลิตแป้ง เรียกได้ว่าเป็นสารปนเปื้อนชนิดหนึ่งที่มีอันตรายต่อร่างกายในระยะยาว หากผู้บริโภคสูดทัลคัมเข้าไปในปริมาณมากอาจเกิดภาวะ Solicosis ในปอดได้ ในขณะที่แป้งจากพืชสามารถสลายตัวได้ ไม่เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค คณะผู้จัดทำจึงได้ทำโครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคู เนื่องจากลักษณะภายนอกของแป้งสาคูเป็นผงละเอียดสีขาว และมีคุณสมบัติที่มีความเป็นไปได้สูงในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอาจประเภทแป้งฝุ่นได้ นอกจากนี้ยังได้ผสมสารสกัดจากว่านนางคำลงในตำรับด้วย เนื่องจากพบว่าว่านนางคำมีฤทธิ์ช่วยลดการสร้างเม็ดสีที่เกิดจากแสง UVA เพื่อให้ผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นมีคุณสมบัติที่สามารถแข่งขันสู้กับแบรด์ในท้องตลาดได้ และเพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต

คณะผู้จัดทำ

1. นางสาวธันย์ชนก อุนะกุล รหัสนิสิต 59210109
2. นางสาวกัญจนพร สุขอรรถกิจ รหัสนิสิต 59210232
3. นางสาววิภาดา ขุนยัง รหัสนิสิต 59210234

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2563

เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคู ผสมสารสกัดว่านนางคำ

ผู้จัดทำโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. นสภ.ธันย์ชนก อุนะกุล รหัสนิสิต 59210109
2. นสภ.กัญจนพร สุขอรรถกิจ รหัสนิสิต 59210232
3. นสภ.วิภาดา ขุนยัง รหัสนิสิต 59210234

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ภก.ดร.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง
2. ภญ.ดร.พุทธิพร คงแก้ว

บทคัดย่อ

ในปัจจุบัน (พุทธศักราช 2563) แป้งฝุ่นทาหน้าที่มีวางจำหน่ายตามท้องตลาด มีส่วนประกอบของทัลคัมอยู่ในตำรับ หากผู้บริโภคสูดทัลคัมเข้าไปในปริมาณมากอาจเกิดภาวะ Solicosis ในปอดได้ ในขณะที่แป้งจากพืชธรรมชาติจะสามารถสลายตัวได้ ไม่เกิดสะสมในปอดและเกิดอันตรายตามมาเหมือนแป้งทัลคัม ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงประโยชน์ของช่องทางในการพัฒนาตำรับให้เกิดความหลากหลายในอุตสาหกรรมแป้งผัดหน้าและต่อยอดองค์ความรู้ของแป้งฝุ่นผัดหน้านี้เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของกลุ่มผู้บริโภคที่ให้ความสนใจกับผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากธรรมชาติและปลอดสารเคมีมากขึ้น ผลการทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเปรียบเทียบกับแป้งทัลคัมในด้านต่างๆ พบว่าแป้งสาคูมีประสิทธิภาพการไหลได้ดีกว่าทัลคัม จากการประเมินวิธี Angle of repose และ compressibility index และจากหาขนาดอนุภาคของแป้งสาคูด้วย Sieve method พบว่าแป้งสาคูมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 30.50±0.6934 μm ซึ่งบ่งบอกว่าขนาดเฉลี่ยของผงแป้งสาคูมีความละเอียดมาก และมีขนาดที่สม่ำเสมอกัน ซึ่งความละเอียดของอนุภาคของผงแป้งที่มากก็จะทำให้เนื้อสัมผัสของแป้งมีความลื่นเบา ไหลได้ดี มีการแผ่กระจายตัวได้ดี ซึ่งความละเอียดนี้ผ่านตามมาตรฐานกำหนด จากการประเมินการเปียกน้ำพบว่าแป้งสาคูและทัลคัมมีคุณสมบัติเปียกน้ำได้ยากเหมือนกัน ซึ่งแป้งจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้ยากเมื่อนำมาทาลงบนผิว ส่วนในการทดสอบการควบคุมมันพบว่าแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้เปียกน้ำมันได้ยากเหมือนกัน และสามารถดูดซับความมันบนผิวหน้าได้ดีคล้ายๆกัน ดังนั้นแป้งสาคูมีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นแป้งผัดหน้าแทนการใช้ทัลคัมได้ ในตำรับแป้งสาคูได้ทำการใส่ว่านนางคำที่มีสารสำคัญคือ Curcuminiods ซึ่งมีฤทธิ์ Antioxidant และจากการทดสอบด้วยเครื่อง HPLC ในว่านนางคำพบว่ามี % content เท่ากับ 0.5043±0.0625 ได้ทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC และ HTLC เปรียบเทียบกับสารมาตราฐาน Curcuminiods และขมิ้นชันพบว่าสารที่ตรวจพบในว่านนางคำนั้นคือ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin โดยอ้างอิงจากการศึกษาของ S Yodkeeree (พุทธศักราช2552) พบว่า BDMC มีฤทธิ์ antioxidation มากที่สุด รองลงมาเป็น DMC น้อยสุดคือ Curcumin ซึ่ง BDMC พบในว่านนางคำมากกว่าสารที่นำมาเปรียบเทียบฤทธิ์อย่างขมิ้นชัน จึงได้นำว่านนางคำมาเป็นส่วนประกอบในตำรับ ทำหน้าที่เป็น Antioxidant ผลการทดลองพบว่าสูตรตำรับที่ประกอบด้วยแป้งสาคู 80% w/w calcium carbonate 1.0% w/w Titanium dioxide 2.2% w/w ว่านนางคำ 0.432% w/w เป็นตำรับแป้งที่ดีที่สุดจากการศึกษาคุณสมบัติการไหล ความชื้น การควบคุมความมัน โดยจากการศึกษา IR spectrum พบว่าสูตรตำรับแป้งสาคูมีความเข้ากันได้ดี มีฤทธิ์ป้องกันแสงแดดได้ในระดับนึงจากการทดสอบการป้องกันแสง UV และเมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งพบว่าตำรับมีความคงตัวของฤทธิ์ Antioxidant ไม่

ถึง 30 วัน โดยในวันที่ 30 พบว่ามี curcuminiods เหลืออยู่ 68% ส่วนในวันที่ 60 พบว่ามี curcuminiods เหลืออยู่ 14.4% ซึ่งในตำรับแป้งสาคูไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในตำรับ แต่พบว่ามีการเจริญเติบโตของราเซลล์เดียวและราเส้นใยอยู่ในตำรับตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่ USP

อาจารย์ที่ปรึกษา ภก.ดร.อ.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง

Senior Project Academic Year 2020

: The development of translucent powder from Sagu (Metroxylon sagu Rottb.) powder and *Curcuma aromatic* Salisb. powder

By

1. Miss Thunchanok Unagul 59210109
2. Miss Kanjanaporn Sukathagid 59210232
3. Miss Wipada Khunyang 59210234

Advisors

1. Mr. Watcharapong Chaemsawang
2. Miss Puttiporn Khongkaew

Abstract

At present, loose powder in the market contains talcum in the formula. If consumers inhale large amounts of talcum, pulmonary silicosis may occur, while natural starch could be degraded when inhaling; thus, there would be no danger to consumers. The researcher realized the benefits of the way to develop loose powder from natural powder to create the diversity in the loose powder industry and expand the knowledge of this loose powder to meet the needs of consumers, who would pay more attention to natural and chemical-free products. The results of testing the properties of sago starch were compared with talcum powder. Sago powder had better flow efficiency than talcum. From the evaluation of the angle of repose and compressibility index method, using the sieve method found that sago powder had an average particle size of 30.50±0.6934 μm, indicating that the mean size of the sago powder was very fine. Furthermore, it had the same size, fineness, light texture, was flowy and easy to blend; as such, the particle size passed the USP standard. It was also found that sago powder and talcum had the same poor wet properties, which it was difficult to coagulate when applied to the skin. In oil control tests, it was found that both powders were also difficult to wet with oil and able to absorb oil on the surface; therefore, sago starch had good properties that were suitable to act as a substitute for talcum. The formulation of the sago powder added Curcuma aromatic Salis, which the active substance was curcuminoids and had an antioxidant activity. From the HPLC test, it was found that the curcuminoids content was 0.5043 ± 0.0625. The chemical identity was examined by TLC and HTLC, and compared with STD Curcuminoids and Curcuma longa L. According to a study by Yodkeeree (year 2009), it was found that BDMC had the most antioxidation activity, followed by DMC. The least was curcumin, which BDMC was found in Curcuma aromatic Salisb, which was more than the Curcuma longa L. Therefore, Curcuma aromatic Salisb was selected as the ingredient in this formulation. The results of the flowability test, moisture content test, and oil control test showed that the formula, which contained 80% w/w of calcium carbonate, 1.0% w/w of titanium dioxide, and 2.2% of w/w Curcuma aromatic Salisb was the

best loose powder formulation. Additionally, from the IR spectrum studies, it was found that the loose powder formulation from sago had good compatibility and a sun protection effect from the UV light protection test. Likewise, from accelerated studies, it was found that the formula was stable if the antioxidant activity was less than 30 days. On Day 30, there were 68% of the curcuminoids content remaining, and on Day 60, there were 14.4% of the curcuminoids content remaining in the loose powder formulation from the sago. However, no microbial growth was found in the formula, but it was found that the growth of yeasts and molds were within the acceptable criteria, which passed the USP standard.

Advisor Mr. Watcharapong Chaemsawang

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ภกพุทธิพร คงแก้วซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัย ที่คอย.อ.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง และภญ.อ.ดร. ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะตลอดระยะเวลาการทำโครงงานวิจัยครั้งนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ผู้จัดทำโครงงานวิจัยขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความเอื้อเฟื้อในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการทำโครงงานวิจัยนี้ ทำให้สามารถดำเนินงานวิจัยได้อย่างสะดวกและสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยที่ตั้งเอาไว้

คณะผู้จัดทำ

1. นางสาวธันย์ชนก อุนะกุล รหัสนิสิต 59210109
2. นางสาวกัญจนพร สุขอรรถกิจ รหัสนิสิต 59210232
3. นางสาววิภาดา ขุนยัง รหัสนิสิต 59210234

วันที่ 25 มิถุนายน พ.ศ. 2564

สารบัญ

คำนำ ค

บทคัดย่อ ง

กิตติกรรมประกาศ ข

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ 2

สมมติฐาน 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

กรอบแนวคิด 2

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 3

แป้งสาคู 3

ว่านนางคำ 3

Curcuminoids 6

Translucent powder 7

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 8

ตอนที่1 : ทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเทียบกับแป้ง Talcum 8
ตอนที่2 : ศึกษาปริมาณ Curcuminoids และพิสูจน์เอกลักษณ์ของว่านนางคำ 9
ตอนที่3 : พัฒนาสูตรตำรับ 11
ตอนที่4 : Validation Method 12
ตอนที่5 : ประเมินตำรับ 13

บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย 16

ตอนที่1 : ทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเทียบกับแป้ง Talcum 16
ตอนที่2 : ศึกษาปริมาณ Curcuminoids และพิสูจน์เอกลักษณ์ของว่านนางคำ 23
ตอนที่3 : พัฒนาสูตรตำรับ 42
ตอนที่4 : Validation Method 42
ตอนที่5 : ประเมินตำรับ 45

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 71

เอกสารอ้างอิง 72

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 : ตารางประเมินประสิทธิภาพของการไหล (Flowability) 8

ตารางที่ 2 : ตารางประเมินการเปียกของเหลวบนวัสดุว่าเปียกหรือไม่ 9

ตารางที่ 3 : ตารางเกณฑ์ที่ยอมรับร้อยละการคืนกลับตาม AOAC (2002) 12

ตารางที่ 4 : ตารางประเมินประสิทธิภาพของการไหล (Flowability) 13

ตารางที่ 5 : ตารางประเมินการเปียกของเหลวบนวัสดุว่าเปียกหรือไม่ 14

ตารางที่ 6 : ตารางผลการทดสอบการไหลของแป้งสาคู 16

ตารางที่ 7 : ตารางผลการทดสอบการไหลของทัลคัม 16

ตารางที่ 8 : ตารางผลการทดสอบครั้งที่ 1 ในการวัดขนาดอนุภาคโดยการแร่ง 17

ตารางที่ 9 : ตารางผลการทดสอบครั้งที่ 2 ในการวัดขนาดอนุภาคโดยการแร่ง 18

ตารางที่ 10 : ตารางผลการทดสอบครั้งที่ 3 ในการวัดขนาดอนุภาคโดยการแร่ง 18

ตารางที่ 11 : ตารางผลการศึกษาความหนาแน่นของแป้งสาคู 19

ตารางที่ 12 : ตารางเปรียบเทียบผลการศึกษาความสามารถในการเปียกของแป้งสาคูและแป้งทัลคัม 20

ตารางที่ 13 : ตารางผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคู 20

ตารางที่ 14 : ตารางผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคูหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 21
10 นาที และ 30 นาที

ตารางที่ 15 : ตารางผลการทดสอบควบคุมมันของแป้ง talcum 21

ตารางที่ 16 : ตารางผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคูหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 21
10 นาที และ 30 นาที

ตารางที่ 17 : ตารางผลการทดสอบควบคุมมันของ control (พื้นกระดาษเปล่า) 22

ตารางที่ 18 : ตารางบันทึกน้ำหนักของสารมาตรฐาน Curcuminoid 26

ตารางที่ 19 : ค่าเฉลี่ย peak area ในแต่ละความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน curcuminoid 26

ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 20 : ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่างว่านนางคำ 26

ตารางที่ 21 : ตารางผลการฉีดตัวอย่างว่านนางคำตัวอย่างละ 3 ซ้ำเข้าเครื่อง HPLC 28

ที่ความเข้มข้น 2000 μg/ml

ตารางที่ 22 : ตาราง % content ของสารตัวอย่างขมิ้นชัน 30

ตารางที่ 23 : ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่างขมิ้นชัน 30

ตารางที่ 24 : ตารางผลการฉีดสารตัวอย่างขมิ้นชันตัวอย่างละ 3 ซ้ำเข้าเครื่อง HPLC 30

ที่ความเข้มข้น 200 μg/ml

ตารางที่ 25 : ตาราง % content ของสารตัวอย่าง curcuminoid 31

ตารางที่ 26 : ตารางค่า % inhibition ของ Trolox ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 32

ตารางที่ 27 : ตารางค่า % inhibition ของ Vitamin C ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 33

ตารางที่ 28 : ตารางค่า % inhibition ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี 34

DPPH scavenging assay

ตารางที่ 29 : ตารางค่า % inhibition ของผงว่านนางคำด้วยวิธี DPPH scavenging assay 35

ตารางที่ 30 : ตารางค่า % inhibition ของผงขมิ้นชันด้วยวิธี DPPH scavenging assay 36

ตารางที่ 31 : ตารางค่า % inhibition ของ Trolox ด้วยวิธี ABTS scavenging assay 37

ตารางที่ 32 : ตารางค่า % inhibition ของ Ascorbic acid ด้วยวิธี ABTS 38

ตารางที่ 33 : ตารางค่า % inhibition ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี ABTS 39

ตารางที่ 34 : ตารางค่า % inhibition ของผงว่านนางคำด้วยวิธี ABTS 40

ตารางที่ 35 : ตารางค่า % inhibition ของผงขมิ้นชันด้วยวิธี ABTS 41

ตารางที่ 36 : ตารางผลการทดสอบ Specificity ของสารมาตรฐาน Curcuminoids 42

ตารางที่ 37 : ตารางผลการทดสอบ Specificity ของแป้งสาคู 42

ตารางที่ 38 : ตารางผลการทดสอบ Specificity ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ผสมแป้งสาคู 43

ตารางที่ 39 : ตารางผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง (Leanerity) 43

ตารางที่ 40 : ตารางผลการศึกษาขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation) 44

ตารางที่ 41 : ตารางแสดงหมู่ฟังค์ชั่นของสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบ FTIR 47

ตารางที่ 42 : ตารางแสดงผลการทดสอบความชื้นของตำรับแป้งสาคูสูตรตำรับที่ 1 50
เปรียบเทียบกับตำรับที่ 2 และตำรับที่ 3

ตารางที่ 43 : ตารางแสดงผลการทดสอบความชื้นของตำรับแป้งทัลคัมสูตรตำรับที่ 1 50
เปรียบเทียบกับตำรับที่ 2 และตำรับที่ 3

ตารางที่ 44 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 1 51

ตารางที่ 45 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 2 52

ตารางที่ 46 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 3 52

ตารางที่ 47 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 1 53

ตารางที่ 48 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 2 54

ตารางที่ 49 : ตารางแสดงผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 3 55

ตารางที่ 50 : ตารางแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการปกป้องรังสี UV ในหลอดทดลอง 56

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 : ลักษณะของลำต้น และภาพต้นว่านนางคำ 3

รูปที่ 2 : Curcumin 6

รูปที่ 3 : Demethoxycurcumin 6

รูปที่ 4 : Bisdemethoxycurcumin 6

รูปที่ 5 : ภาพแสดงการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแป้งสาคู และ แป้งทัลคัมด้วยวิธี Scanning electron and light microscopy 17

รูปที่ 6 : ผลทดสอบการเปียกของแป้งสาคู 20

รูปที่ 7 : ผลทดสอบการเปียกของแป้งทัลคัม 20

รูปที่ 8 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูพบว่าเปียกน้ำมันยาก 21

รูปที่ 9 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมพบว่าเปียกน้ำมันยาก 22

รูปที่ 10 : จากค่ามุมสัมผัสของกระดาษเปล่า (control) พบว่าผิวเปียกได้ดี 22

รูปที่ 11 : กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเทคนิค External Standard Method 26

รูปที่ 12 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Trolox ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 27

รูปที่ 13 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้น Vitamin C ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 28

รูปที่ 14 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้น Vitamin C ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 32

รูปที่ 15 : ภาพที่ 12 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำ ด้วยวิธี DPPH scavenging assay 33

รูปที่ 16 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของขมิ้นชันด้วยวิธี DPPH scavenging assay 35

รูปที่ 17 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Trolox ด้วยวิธี ABTS 36

รูปที่ 18 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Ascorbic acid ด้วยวิธี ABTS 37

รูปที่ 19 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี ABTS 38

รูปที่ 20 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำด้วยวิธี ABTS 38

รูปที่ 21 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของผงขมิ้นชันด้วยวิธี ABTS 39

รูปที่ 22 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำด้วยวิธี ABTS 40

รูปที่ 23 : กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำด้วยวิธี ABTS 41

รูปที่ 24 : IR spectrum ของแป้งสาคู (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน) 45

รูปที่ 25 : IR spectrum ของแป้งทัลคัม (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน) 46

รูปที่ 26 : IR spectrum ของว่านนางคำ (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน) 46

รูปที่ 27 : IR spectrum รวมพีคของสารตัวอย่างตำรับแป้งสาคูที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน) เทียบกับทัลคัม(สีเขียว) ว่านนางคำ (สีชมพู) และแป้งสาคู (สีแดง) 47

รูปที่ 28 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 1 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 51

รูปที่ 29 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 2 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 52

รูปที่ 30 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 3 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 53

รูปที่ 31 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 1 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 54

รูปที่ 32 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 2 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 54

รูปที่ 33 : จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 3 พบว่าเปียกน้ำมันยาก 55

รูปที่ 34 : การทดสอบตำรับแป้งมาตรฐาน 56

รูปที่ 35 : การทดสอบตำรับแป้งสาคู 57

รูปที่ 36 : การทดสอบตำรับที่ไม่ใส่แป้ง 57

รูปที่ 37 : อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในหลอดทดลอง 65

รูปที่ 38 : อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันในเพลท 65

รูปที่ 39 : Standard setting organization เกณฑ์มาตรฐานการทดสอบตรวจหา 67

จำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน

รูปที่ 40 : อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในหลอดทดลอง 67

รูปที่ 41 : อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันในเพลท 68

รูปที่ 42 : Standard setting organization เกณฑ์มาตรฐานการทดสอบตรวจหา 70
จำนวนราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด

บทที่ 1
บทนำ

แป้งฝุ่นผัดหน้าได้ถูกพัฒนาตำรับและมีการผลิตออกมาจำหน่ายตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน จากข้อมูล (1) พบว่าแป้งฝุ่นผัดหน้าครองส่วนแบ่งการตลาดร้อยละ 60 ในตลาดเครื่องสำอาง ยุคปัจจุบันพบว่าเทรนด์ส่วนใหญ่ของพฤติกรรมในการบริโภคของผู้บริโภคให้ความสนใจกับผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากธรรมชาติและปลอดสารเคมีมากขึ้นตั้งแต่เรื่องอาหารการกิน เครื่องนุ่งห่ม จนรวมไปถึงเครื่องสำอางประทินโฉม ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงประโยชน์ของช่องทางในการพัฒนาตำรับให้เกิดความหลากหลายและต่อยอดองค์ความรู้ของแป้งฝุ่นผัดหน้านี้ เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นผัดหน้าที่มุ่งเน้นไปที่การทำจากวัตถุดิบธรรมชาติเป็นหลัก เพื่อตอบสนองความต้องการของกระแสในตลาดเครื่องสำอางและสร้างความโดดเด่นที่แตกต่างให้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทแป้งฝุ่นผัดหน้า โดยแป้งฝุ่นผัดหน้า (facial Loose Powder) เป็นเครื่องสำอางที่ใช้ตกแต่งทาบนผิวหน้า แตกต่างจากแป้งชนิดอัดแข็ง (pressed Powder) ตรงที่ให้ลักษณะที่บางเบาเป็นธรรมชาติมากกว่า โดยจะใช้ทาเป็นลำดับสุดท้ายหลังจากแต่งหน้าหรือทาหลังจากลงรองพื้น การทาแป้งฝุ่นผัดหน้านี้จะช่วยควบคุมความมันของรองพื้นและความมันบนชั้นผิวหรือซีบัม (sebum) ไม่ให้ไหลเยิ้ม ช่วยให้เครื่องสำอางเกาะติดผิวหน้าได้ดีขึ้น ลดปัญหาเครื่องสำอางหลุดลอกระหว่างวัน และยังช่วยทำให้ผิวหน้าดูเรียบเนียนและสดใสขึ้นอีกด้วย

งานวิจัยนี้มีความสนใจในการพัฒนาตำรับแป้งฝุ่นผัดหน้าที่ทำมาจากแป้งสาคูแทนผงทัลคัม (talcum) เนื่องจากผงทัลคัม (talcum) ในรูปแบบธรรมชาติอาจมีการปนเปื้อนของแร่ใยหิน เมื่อสูดดมเข้าไปในปริมาณมากสามารถก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปอดตามมาได้ การนำแป้งสาคูมาใช้ทดแทนผงทัลคัม (talcum) เพื่อต่อยอดงานวิจัย (2) ที่ได้นำแป้งสาคูมาทำเป็นแป้งผัดหน้าเพื่อให้ชุมชนได้เล็งเห็นว่าต้นปาล์มสาคูมีประโยชน์หลากหลายและควรค่าแก่การอนุรักษ์ไว้ แต่ตัวผลิตภัณฑ์ยังไม่เป็นที่นิยมเท่าแบรนด์แป้งฝุ่นผัดหน้าที่ขายตามท้องตลาด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาต่อยอดทางความคิดเพื่อพัฒนาและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์แป้งผัดหน้าต่อไป ปาล์มสาคูพบมากในป่าพรุทางภาคใต้ของประเทศไทย แต่พบเพียงชนิดเดียว คือ ปาล์มสาคูยอดแดง (*Metroxylon sagus* Rottb.) และพบได้ที่จังหวัด นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส เป็นต้น แกนลำต้นของต้นปาล์มสาคูประกอบด้วยเส้นใยและแป้งจำนวนมาก ทั้งนี้ แกนลำต้นจะเริ่มสะสมแป้งเมื่ออายุประมาณ 4-5 ปี และจะสะสมแป้งได้สูงสุดเมื่อเริ่มออกดอก คือประมาณ 8 ปี จึงเป็นช่วงที่ชาวบ้านนิยมตัดลำต้นมาแยกเอาแป้ง ทั้งนี้หลังออกดอกและติดผลจนสมบูรณ์แล้วปาล์มสาคูจะหยุดการเจริญเติบโตและค่อยโทรมลงจนล้มตาย จากนั้นเหง้าและรากต้นเก่าจะเริ่มแตกหน่อและเติบโตเป็นลำต้นขึ้นมาใหม่อีกครั้ง จากข้อมูลที่น่าสนใจของปาล์มสาคูผู้วิจัยมีความสนใจที่จะพัฒนาต่อยอดสูตรตำรับแป้งสาคูผัดหน้าให้มีความน่าสนใจโดยผสมกับสมุนไพรว่านนางคำ

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพของแป้งสาคู
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ของต้านอนุมูลอิสระของว่านนางคำ
3. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับแป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคูผสมว่านนางคำ

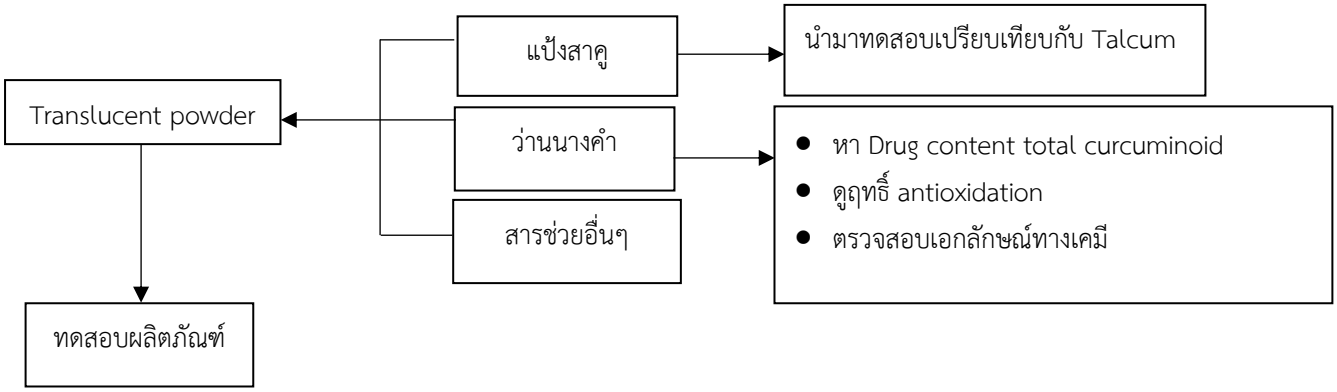
สมมติฐาน

1. แป้งฝุ่นที่ทำมาจากแป้งสาคู สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์แป้งฝุ่นที่มีลักษณะทางกายภาพที่ดี มีความลื่น,ความสามารถเคลือบคลุมผิวได้ดี, จับผิวติดทน, มีเนื้อสัมผัสความอ่อนนุ่มเป็นธรรมชาติ และการแผ่กระจายเมื่อลูบไล้ เหมาะสำหรับใช้ทาผิว ซึ่งแป้งสาคูนี้สามารถนำใช้แทนทัลคัมในผลิตภัณฑ์แป้งได้ และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
2. ว่านนางคำมีฤทธิ์ antioxidant

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภค ในการดูแลสุขภาพผิวพรรณด้วยผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดธรรมชาติ
2. เพิ่มมูลค่าสินค้า ทำให้สินค้าโดดเด่นและแตกต่างจากสินค้าตามท้องตลาดทั่วไป
3. นำสารสกัดจากธรรมชาติมาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ช่วยควบคุมความมันบนใบหน้าและสามารถป้องกันแสงแดดได้อย่างมีประสิทธิภาพ
4. สามารถนำความรู้ในการพัฒนาสูตรแป้งเพื่อนำไปปรับใช้กับผลิตภัณฑ์ประเภทอื่นๆ ในอนาคต

กรอบแนวคิด



บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ต้นสาคูและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แป้งสาคู

1.1 ข้อมูลทั่วไปของสาคู

สาคูจัดว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศไทย เพราะมีตลาดที่รองรับอย่างกว้างขวาง และเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมบริโภคกันมากในประเทศและต่างประเทศ เม็ดสาคูผลิตจากแป้งของต้นปาล์ม (*Metroxylen* sp.) นำมาผ่านกรรมวิธีทำให้เป็นเม็ดแล้วทำให้แห้ง (3)

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแป้งสาคู

จากงานวิจัยของ **ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์** ได้ทำการศึกษานำแป้งสาคูมาทำแป้งฝุ่นโรยตัว จากการศึกษาพบว่าสามารถผลิตแป้งฝุ่นโรยตัวจากแป้งสาคูได้ และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี กล่าวคือ มีคุณลักษณะในด้านความลื่น (slip), ความสามารถเคลือบคลุมผิว (covering power), การจับผิว (adhesiveness), การซับซึม (absorbency), ความเป็นนวลใย (bloom) และการแผ่กระจายเมื่อลูบไล้ (spreading power) อยู่ในเกณฑ์ดี รวมทั้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสำหรับใช้ทาผิว นอกจากนี้ยังพบว่าต้นสาคูสามารถนำมาสกัดแป้งได้ในปริมาณที่สูง โดยปริมาณของแป้งที่ได้ขึ้นกับอายุของต้น จากงานวิจัยพบว่าต้นสาคูที่มีอายุ 8 ปี สามารถนำมาสกัดได้แป้ง 49.3 กิโลกรัม/ต้น ขณะที่ต้นสาคูที่มีอายุ 15 ปี สามารถนำมาสกัดได้แป้งถึง 70.3 กิโลกรัม/ต้น ดังนั้นปริมาณแป้งสาคูที่ผลิตได้ จึงเพียงพอสำหรับการเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอางประเภทแป้งในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต (4)

2. ว่านนางคำ

2.1 ข้อมูลทั่วไปของว่านนางคำ

เป็นว่านที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับของข่า และขิง และมีลักษณะคล้ายกับขมิ้น แต่ใบจะกว้าง และใหญ่กว่า และมีแถบแดงที่ขอบ และเส้นกลางใบ เป็นว่านที่นิยมนำหัวว่านมาใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์เสริมความงาม เครื่องสำอาง รวมถึงใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ

รูปที่ 1 : ลักษณะของลำต้น และภาพต้นว่านนางคำ
อ้างอิงรูปภาพจาก: http://thaiyapruk.com/index.php/th/blog/81-herbal

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma aromatica* Salisb.

ชื่อพ้อง *C. zedoaria* Roxb.

ชื่อท้องถิ่นไทย ว่านนางคำ

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

สกุล Curcuma

สปีชีส์ *C. Aromatica*

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น

ว่านนางคำมีลำต้นแท้เป็นหัวใต้ดินแตกออกเป็นแง่ง ส่วนลำต้นที่มองเห็นเหนือดินจะเป็นส่วนของกาบใบ และใบ ที่มักเรียกหรือเข้าใจกันทั่วไปว่า ลำต้น โดยหัวหรือลำต้นแท้มีลักษณะค่อนข้างกลมเป็นแง่งยาว มีเปลือกหุ้มสีน้ำตาลอมเทา เนื้อด้านในมีเหลืองอ่อน เนื้อมีกลิ่นหอม มีรสฝาด หัวว่านางคำจะแตกแง่งออก 2-5 แง่ง เพื่อเติบโตเป็นลำต้นใหม่ ซึ่งแง่งนี้จะใช้สำหรับการแยกแง่งปลูก

ใบ

ว่านนางคำ เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว แตกใบออกจากหัวใต้ดิน 5-8 ใบ ใบมีสีเขียวสด ใบมีกาบใบเรียงซ้อนกันแน่นทำให้คล้ายลำต้น กาบใบมีลักษณะสีเขียวอมขาว กาบใบแต่ละอันยาวประมาณ 20-30 ซม. ถัดมาเป็นแผ่นใบหรือใบที่มีลักษณะเป็นรูปหอก กว้างประมาณ 10-15 ซม. ยาวประมาณ 40-70 ซม. แผ่นใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม ท้องใบด้านล่างมีขนปกคลุม มีเส้นใบมองเห็นชัดเจน มีเส้นกลางใบ และขอบใบออกสีแดง

ดอก และเมล็ด

ดอกว่านนางคำจะออกเป็นช่อ มีลักษณะคล้ายกับดอกกระเจียว มีช่อดอกยาว 5-8 ซม. ดอกที่เรามองเห็นจะประกอบด้วยใบประดับเรียงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ใบประดับมีสีขาวชมพู ปลายใบประดับมีสีขาวอมเขียว ภายในซอกของใบประดับจะเป็นที่อยู่ของดอกที่มีกลีบดอกเป็นสีขาวอมชมพูแทรกอยู่ในแต่ละซอกของใบประดับ ดอกว่านนางคำจะเริ่มแทงออกในช่วงต้นฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงเริ่มเติบโตอีกครั้งหลังจากทิ้งใบในช่วงฤดูแล้ง และหลังจากแทงดอกออกแล้ว ส่วนของใบก็จะเริ่มแทงขึ้นมาแทนก่อนดอกจะเหี่ยวลง และใบเริ่มแทงออกมาจำนวนมากขึ้นแทน (5)

2.3 สรรพคุณ

ราก นำมาต้มน้ำดื่ม

- ใช้เป็นยาขับเสมหะ
- ช่วยเจริญอาหาร
- แก้โรคหนองใน

หัวต้มน้ำดื่ม

- แก้อาการปวดท้อง แน่นท้อง
- ช่วยเจริญอาหาร
- ต้าน และยับยั้งเซลล์มะเร็ง

นำหัวมาฝน/ต้มน้ำใช้ภายนอก

– ใช้ทารักษาผดผื่น ภูมิแพ้ และช่วยลดอาการคัน
– ใช้ต้มน้ำอาบรักษาโรคผิวหนัง
– ฝนให้ละเอียด นำมาประคบรักษาแผลติดเชื้อ แผลเป็นหนอง
– นำมาผสมน้ำ ใช้ทาผิว ช่วยให้ผิวเต่งตึง และช่วยขัดเซลล์ผิว
– ใช้สระผมร่วมกับแชมพู หรือ นำมาชโลมผมทิ้งไว้ 30 นาที ก่อนล้างออก ซึ่งจะช่วยรักษารังแค รักษาอาการคันศีรษะ รวมถึงช่วยกำจัดเหา

2.4 สารสำคัญที่พบ (23)

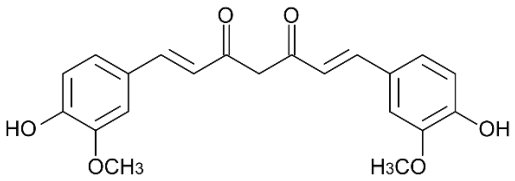
Compound	
α–Pinene	0.5
Camphene	2.0
Myrcene	0.4
1,8-Cineole	0.3
Terpinolene	0
Linalool	0.6
Camphor	26.9
Isoborneol	2.3
Borneol	1.7
α–Terpineol	0
β–Elemene	0.1
β–Caryophyllene	0
α–Humulene	1.9
β–Farnesene	0
ar-Curcumene	23.2
Germacrene D	0
Curzerene	1.4
β-Curcumene	3.9
Germacrene B	0.9
Caryophyllene oxide	0
Curzerenone	3.8
Germacrone	0.3
Xanthorrhizol	18.7
Curdione	0

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับว่านนางคำ

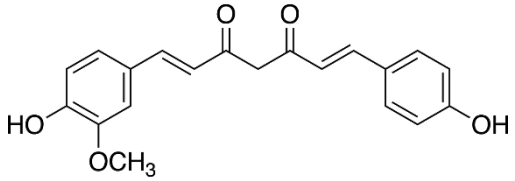
จากงานวิจัยของ ดร.อุไรวรรณ พานิช ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์ของสารสกัดจากข่าและว่านนางคำซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อการสร้างเม็ดสีผิวเมลานินของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต โดยทำการทดสอบทดสอบการทำงานและการแสดงออกของ tyrosinase ซึ่งมีหน้าที่ในการผลิตเมลานินและวัดปริมาณของเมลานินที่ถูกผลิตในเซลล์ human melanoma (G361) ที่ได้รับการฉาสวยแสง UVA นอกจากนั้นยังมีการศึกษาบทบาทต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรในการยับยั้ง melanogenesis โดยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งภาวะ oxidative stress ของเซลล์ และฤทธิ์กระตุ้น antioxidant defenses ได้แก่การทำงานของ catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GPx) และปริมาณ glutathione (GSH) ภายในเซลล์ นอกจากนั้นยังศึกษาสารสำคัญของสมุนไพรโดยใช้เทคนิค thin layer chromatography (TLC) densitometric analysis ซึ่งจากโครงการวิจัยพบว่าว่านนางคำมีฤทธิ์ต้านการทำงานของ tyrosinase ซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งภาวะ oxidative stress และยังกระตุ้น antioxidant defenses ซึ่งเป็นกลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญในการลดการสร้างเม็ดสีที่เกิดจาก UVA และจากการศึกษาโดยใช้ TLC- densitometer พบว่า eugenol และ curcuminoids เป็นสารสำคัญที่พบในว่านนางคำ (6)

3. Curcuminoids

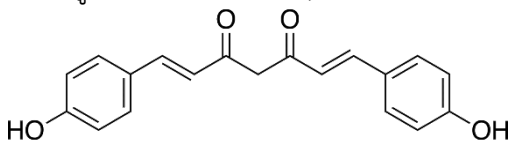
3.1 ข้อมูลทั่วไปของ Curcuminoids (7) เป็นสารสำคัญที่อยู่ในพืชวงศ์ Zingiberaceae เช่น ขมิ้นชัน ว่านนางคำ มีสีเฉพาะตัวคือสีเหลืองสว่าง สารในกลุ่ม Curcuminoids ประกอบด้วยสารหลัก 3 ชนิด คือ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxy curcumin โดยสาร Curcuminoids นั้นมีการนำไปเป็นส่วนประกอบในกลุ่มผลิตภัณฑ์หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ยา และอื่น ๆ



รูปที่ 2 : Curcumin



รูปที่ 3 : Demethoxycurcumin



รูปที่ 4 : Bisdemethoxycurcumin

อ้างอิงรูปภาพจาก: http://medherbguru.gpo.or.th/articles/D_Curcuma.pdf

สูตรโมเลกุล	$C_{21}H_{20}O_6$
น้ำหนักโมเลกุล	368.4 g/mol
ชื่อตามระบบ IUPAC	(E,E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione
สถานะ	ของแข็ง สีเหลือง
จุดหลอมเหลว	183 °C
จุดเดือด	418.73°C (rough estimate)
ความหนาแน่น	0.93
สมบัติการละลายน้ำ	Slightly soluble (hot)

3.1 สรรพคุณ

มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร บรรเทาอาการปวดท้อง ท้องอืด แน่นจุดเสียดโดยกระตุ้นการหลั่ง mucin มาเคลือบกระเพาะอาหาร และยับยั้งการหลั่งน้ำย่อยชนิดต่างๆ มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ โดยสาร Curcuminoids ที่มีสมบัติเป็นสาร antioxidant

3.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ Curcuminiods

จากงานวิจัยของ ดร.นันทิยา สมภารและคณะ ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของ Curcuminoids โดยทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง จากงานวิจัยพบว่า Curcuminoids สามารถลดการตายของเซลล์ได้ โดยสามารถยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระที่เกิดจากสารด็อกโซรูบิซิน (Doxorubicin) และแคดเมียมได้ โดยสันนิฐานว่ากลไกดังกล่าวน่าจะผ่านการกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน GCLC และ NQO – 1 โดยพบว่าโปรตีนดังกล่าวมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเซลล์ที่ได้รับสาร Curcuminoids (8)

4. Translucent powder

จากบทความทบทวนวรรณกรรมของ Abdul Kader Mohiuddin กล่าวว่า แป้งฝุ่นผัดหน้าแบบ translucent powder คือแป้งฝุ่นที่มีความเบาและนุ่มนวล ผงทัลค์ในสูตรตำรับช่วยให้แป้งสามารถดูดซึมเข้าผิวหนังได้ง่ายและทำให้ผิวหน้าปราศจากน้ำมัน ข้อเสียของแป้งชนิดนี้คือไม่ค่อยทนทานและมักเปื้อนโดยเหงื่อที่ออกมาระหว่างวัน แป้งชนิดนี้ยังสามารถช่วยให้เครื่องสำอางบนใบหน้าไม่หลุดระหว่างวัน สำหรับคนผิวมันแป้ง translucent powder เป็นสิ่งสำคัญมากเพื่อใช้ควบคุมความมันบนใบหน้า (9)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. ทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเทียบกับแป้ง Talcum

1.1 ทดสอบคุณสมบัติการไหล (Flowability) จากค่า Angle of repose (10)

โดยวัดได้จากมุมกอง (Angle of repose) นำผงแป้งมาประเมินการไหลของอนุภาค ด้วยวิธี funnel method โดยชั่งผงแป้ง จำนวน 10 กรัม เทสารผ่านกรวยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ลงในจานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.7 เซนติเมตร เมื่อสารไหลผ่านกรวยหมด วัดความสูงของสารใน disc คำนวณหา angle of repose (θ) จากสูตร $\tan \theta = h/r$

เมื่อ θ = angle of repose

h = ความสูงของกองผงแป้ง

r = รัศมีของกองผงแป้ง

ทำการวัด 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการประเมินความสามารถในการไหล

ตารางที่ 1 : ตารางประเมินประสิทธิภาพของการไหล (Flowability)

Angle of repose (θ)	Flowability
<25	Excellent
25-30	Good
30-40	Poor or Passable
>40	Extremely poor or not flow

1.2 ทดสอบวัดขนาดอนุภาคโดยการแร่ง (Sieve method)

ทำการบันทึกน้ำหนักของแร่งเปล่าแต่ละชั้น ได้แก่ 35, 40, 45, 60, 80, 120, 170, และ 230 meshพร้อมทั้งจานรองผงแป้งสาคู นำแร่งมาเรียงกันตามลำดับโดยแร่งหมายเลขต่ำอยู่บนสุด และแร่งหมายเลขสูงอยู่ล่าง ชั้นล่างสุดเป็นจานรอง ชั่งแป้งสาคู 1000 กรัม ใส่บนแร่งชั้นบนสุด แล้วเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ผงยาจะตกผ่านรูแร่งจากชั้นบนลงสู่ชั้นล่าง จากนั้นคำนวณ % weight retained ของแป้งสาคูที่ค้างอยู่บนแร่งแต่ละเบอร์, คำนวณหา weight size distribution และคำนวณค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ย (d_{av}) จากสูตร

$$d_{av} = \sum(\%\ \text{weight retained} \times \text{seive mean diameter})/\ 100$$

โดย - % weight retained คือน้ำหนักแป้งสาคูที่ค้างอยู่บนแร่ง

- Sieve mean diameter คือค่า sieve opening ของแร่งแต่ละเบอร์ที่เรียงติดกันบวกกันแล้วหารสอง

1.3 การทดสอบหาความหนาแน่น (density)

บรรจุแป้งสาคูในกระบอกตวงขนาด 100 ml โดยชั่งน้ำหนักของกระบอกตวงเปล่าก่อนแล้วนำกระบอกตวงมาบรรจุแป้งให้มีปริมาตร 50 ml นำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง นำเข้าเครื่อง tapping device แล้วบันทึกค่า bulk volume, tapped density และ % compressibility จากนั้นคำนวณค่า % porosity จากสูตร

$$\% \text{ porosity} = \left(1 - \frac{\text{true volume}}{\text{Bulk volume}}\right) \times 100$$

โดย true volume คือค่าที่อ่านจากปริมาตรน้ำกลั่นที่เหลือในกระบอกตวง 100 ml หลังจากที่เทน้ำกลั่น ลงในกระบอกตวงที่มีผงแป้งอยู่จนระดับน้ำกลั่นถึงขีดปริมาตร 100 ml

1.4 ทดสอบการเปียกน้ำ

นำแป้งสาคูทาลงบนกระดาษกรอง แล้วใช้ micropipets หยดน้ำ ลง 1 หยดโดยควบคุมที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาและที่อุณหภูมิ 40 องศา สังเกตดูการกระจายตัวของน้ำว่าแป้งสามารถดูดซับน้ำได้หรือไม่ โดยวัดค่าเป็นรัศมี (cm) แล้วทำการวัดมุมสัมผัสการเปียก (Contact angle) ซึ่งจะเป็นมุมระหว่างหยดของของเหลววัดเปรียบเทียบกับผิววัสดุ ณ จุดที่ผิวทั้ง 2 เกาะติดกัน โดยใช้มุมนี้เป็นเกณฑ์แบ่งการเปียกของของเหลวบนวัสดุว่าเปียกได้ดีหรือไม่ มีเกณฑ์ดังนี้

ตารางที่ 2 : ตารางประเมินการเปียกของเหลวบนวัสดุว่าเปียกได้ดีหรือไม่

มุมสัมผัส	**ความสามารถในการเปียก**
0°	ผิวเปียกอย่างสมบูรณ์
0°- 90°	ผิวเปียกได้ดี
>90° แต่ไม่ถึง 180°	ผิวเปียกยาก
180°	ผิวไม่เปียก

2. ศึกษาปริมาณ Curcuminiods และพิสูจน์เอกลักษณ์ของว่านนางคำ

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC) (11)

สภาวะของ HPLC

Operating	Optimal Condition
1. Column	Reverse phase column C18 อนุภาคขนาด 5 µm ความยาว 250 nm เส้นผ่านศูนย์กลางผ่านใน 4.6 nm
2. System	Isocratic solvent systems
3. Mobile Phase	Acetonitrile : DI water (50:50)
4. Detector	UV detector wavelength 421 nm
5. Flow rate	1 ml/min
6. Injection	volume 20 µl
7. Run time	10 min
8. Retention time	7.2 min

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ curcuminoids

Standard curve ของ curcuminoids

เตรียมสารละลายของ curcuminoid ในเมทานอล 6 ความเข้มข้น คือ 0.00625 mg/ml, 0.0125 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml และ 0.2 mg/ml

หาปริมาณ curcuminoids ในผงว่านนางคำ

ชั่งผงว่านนางคำน้ำหนัก 10 mg ละลายในเอทานอล 10 ml เจือจางให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 500 µg /ml แล้วกรองผ่าน syringe filter ขนาด 0.22 µm จากนั้นฉีดสาร 20 µl เข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของว่านนางคำ (12)

2.2.1 การทดสอบด้วยวิธี DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH radical (3 mg ใน 50 mL Methanol) ให้มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.72 จากนั้นดูดสารที่ใช้ในการทดสอบปริมาตร 100 µl และเติมสารละลาย DPPH ลงไป 100 µl โดยที่ความเข้มข้นสุดท้ายของสารที่ใช้ทดสอบมีค่าเท่ากับ 7.8125-2,000 µg/mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาทีในที่มืดแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm จากนั้นคำนวณ % inhibition และค่า $\mathbf{IC_{50}}$ จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = ((\mathbf{A_0} - (\mathbf{A_1} - \mathbf{A_2}))/\mathbf{A_0}) \times \mathbf{100}$$

เมื่อ $\mathbf{A_0}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ผสมกับเมทานอล

$\mathbf{A_1}$= ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

$\mathbf{A_2}$= ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับเมทานอล

ทำการทดลองเปรียบเทียบโดยใช้ Trolox ascorbic สารมาตราฐาน Curcuminiods และขมิ้นชันเป็น control

2.2.2 การทดสอบด้วยวิธี ABTS

เตรียมสารละลาย ABTS radical ด้วยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย ABTS เข้มข้น 4 mM และสารละลาย 4.9 mM $\mathbf{K_2S_2O_8}$ ด้วยน้ำกลั่นในปริมาตรที่เท่ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 16-20 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้งาน หลังจากนั้นให้เจือจางสารละลายด้วยเมทานอลในอัตราส่วน 1:50 ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7$\pm$2 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ใช้ทดสอบที่มีความเข้มข้นของสารเท่ากับ 7.8125-2,000 µg/mL มา 100 µl เติมสารละลาย ABTS 100 µl ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาทีในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm คำนวณ % inhibition และหาค่า $\mathbf{IC_{50}}$ จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = ((\mathbf{A_0} - (\mathbf{A_1} - \mathbf{A_2}))/\mathbf{A_0}) \times \mathbf{100}$$

เมื่อ $\mathbf{A_0}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ผสมกับเมทานอล

$\mathbf{A_1}$= ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

$\mathbf{A_2}$= ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับเมทานอล

ทำการทดลองเปรียบเทียบโดยใช้ Trolox ascorbic สารมาตราฐาน Curcuminoids และขมิ้นชันเป็น control

2.3 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีในว่านนางคำ

2.3.1 การวิเคราะห์แยกสารด้วยวิธี Thin layer chromatography; TLC

พิสูจน์เอกลักษณ์สารสำคัญในว่านนางคำ เทียบกับขมิ้นชัน และ สารมาตราฐาน Curcuminiods โดยใช้ Stationary phase คือแผ่น Silica gel 60 F_{254} ขนาด 5 × 10 cm, Mobile phase ใช้ Dichorometane: Methanol ในอัตราส่วน 24.25 : 0.75

2.3.2 Anisaldehyde spray reagent เพื่อตรวจสอบหาสารกลุ่ม terpeniods ในว่านนางคำ เปรียบเทียบกับ ขมิ้นชัน และสาร curcuminoids

2.3.3 $FeCl_3$ spray reagent เพื่อตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิก เปรียบเทียบกับ rutin isoquercitin และ kaemferol

2.3.4 NP/PEG spray reagent เพื่อตรวจสอบหาสารกลุ่ม flavonoids โดยเทียบว่านนางคำกับสารมาตรฐาน flavonoid คือ rutin, isoquercitin และ Kaempferol

3. พัฒนาสูตรตำรับ

พัฒนาตำรับแป้งสาคู โดยทำการปรับสัดส่วน นำส่วนผสมไปบดลดขนาดแล้วผสมกัน จากนั้นนำไปผ่านแร่งเบอร์100 และบรรจุลงเภสัชภัณฑ์ที่เหมาะสมแล้วจึงนำไปทดสอบในหัวข้อถัดไป

สูตรตำรับมาตรฐานที่ใช้เทียบ (13)

Rx

Ingredients	% by Weight	หน้าที่ในตำรับ
Talc	63	Base
Calcium carbonate	20	Absorbent base for fragrance
Zinc oxide	10	Sunscreen
Zinc sterate	7	Lubricant

สูตรตำรับที่ใช้ในการทดลอง

ตำรับ / รายการ / รายละเอียด	1	2	3
แป้งสาคู (Base) % w/w	80	40	20
Calcium carbonate (Absorbent) % w/w	1.0	1.0	1.0
Titanium dioxide (sunscreen) % w/w	2.2	2.2	2.2
ว่านนางคำ (antioxidant) % w/w	0.432	0.432	0.432

4. Validation Method

เพื่อทดสอบวิธีในการวิเคราะห์ว่ามีความเหมาะสม สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ โดย Parameter ที่พิจารณาในการทำ Validation Method มีดังนี้

4.1 ความจำเพาะ (Specificity)

เพื่อหาความสามารถในการวิเคราะห์ปริมาณ Curcuminiods โดยปราศจากการรบกวนจากสารอื่นๆเจือปน โดยคำนวณหา % recovery จากสูตร % recovery = [ค่าจากสารมาตราฐาน (STD)/ค่าจากสารที่พบในตัวอย่าง] x 100 ซึ่งในการทดลองได้ทำการชั่งแป้งฝุ่นที่มีสารสกัดของว่านนางคำ ละลายใน methanol 10 ml จากนั้นนำไป centrifuge 15 นาที จากนั้นกรองผ่านหัวกรอง Syringe filter ขนาด 0.22 μm และวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer และทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน curcuminoids ละลายใน methanol 10 ml

ตารางที่ 3 ตารางเกณฑ์ที่ยอมรับร้อยละการคืนกลับตาม AOAC (2002)

ความเข้มข้น	Recovery limit %
100 %	98-101
10 %	95-102
1 %	92-105
0.1 %	90-108
0.01 %	85-110
10 μg/g (ppm)	80-115
1 μg/g (ppm)	75-120
10 μg/kg (ppb)	70-125

4.2 ความเป็นเส้นตรง (Leanerity)

เพื่อหาความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ผลวิเคราะห์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร โดยคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ซึ่งในการทดลองได้ทำการชั่งสารมาตรฐาน Curcuminiods ละลายใน methanol ที่ความเข้มข้น 0.00625 mg/L, 0.025 mg/L, 0.025 mg/L, 0.05 mg/L, 0.1 mg/L และ 0.2 mg/L และวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer จากนั้นจึงนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) จากกราฟระหว่างค่าที่ได้กับความเข้มข้น โดยเกณฑ์มาตรฐานได้กำหนดในช่วง ≥0.995

4.3 ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation)

เพื่อหาปริมาณต่ำสุดที่ตรวจสอบเชิงปริมาณ ซึ่งในการทดลองได้ทำการชั่งสารมาตรฐาน Curcuminiods ละลายใน methanol โดยเตรียมสารลายที่ความเข้มข้น 0.002 mg/L และวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ซ้ำ 10 ครั้งแล้วนำมาคณหา Limit of Quantitation จากสมการ

$$LOQ = 10\sigma/S$$

เมื่อ σ คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ

S คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

5. ประเมินตำรับ

5.1 ทดสอบความเข้ากันของตำรับด้วย Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FTIR (13)

นำตัวอย่างแป้งสาคู ผงทัลคัม และแป้งโปร่งแสงตำรับที่ดีที่สุด ใส่ในแท่นวางตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ โดยบันทึกสเปกตรัมที่วัดได้เป็นค่า Absorbance จากนั้นทำการปรับ Smooth และ Baseline ตามลำดับ สเปกตรัมที่ได้นำมาดูผลการจัดเรียงตัวของอนุภาค ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อความเข้ากันของตำรับ โดยตำรับที่มีความเข้ากัน อนุภาคจะมีการเรียงตัวชิดกันอย่างเป็นระเบียบ อีกทั้งภาพจาก IR spectrumสามารถอธิบายการเรียงตัว ว่ามีการเรียงตัวแบบสุ่ม (Random Orientation) ไม่เป็นระเบียบหรือเรียงตัวแบบเป็นระเบียบของอนุภาค

5.2 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของแป้งสาคูด้วย Scanning Electron Microscope; SEM

ใช้ศึกษาผิวตัวอย่างวัตถุที่นำมาศึกษา โดยลำแสงอิเล็กตรอนจะส่องกราดไปบนผิวของวัตถุ ทำให้ได้ภาพซึ่งมีลักษณะเป็นภาพ 3 มิติโดยทำการศึกษาในแป้งสาคู ผงทัลคัม และตำรับแป้งที่ถูกเลือก

5.3 ทดสอบคุณสมบัติการไหล (Flowability) ของตำรับจากค่า Angle of repose (15)

โดยวัดได้จากมุมกอง (Angle of repose) นำผงแป้งมาประเมินการไหลของอนุภาค ด้วยวิธี funnel method โดยชั่งผงแป้ง จำนวน 10 กรัม เทสารผ่านกรวยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เมื่อสารไหลผ่านกรวยหมด วัดความสูงของสาร คำนวณหา angle of repose (θ) จากสูตร $\tan \theta = h/r$

เมื่อ θ = angle of repose

h = ความสูงของกองผงแป้ง

r = รัศมีของกองผงแป้ง

ทำการวัด 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการประเมินความสามารถในการไหล

ตารางที่ 4 : ตารางประเมินประสิทธิภาพของการไหล (Flowability)

Angle of repose (θ)	Flowability
<25	Excellent
25-30	Good
30-40	Poor or Passable
>40	Extremely poor or not flow

5.4 การทดสอบหาความหนาแน่นของตำรับ (density) โดยวิธี Gradulated cylinder

บรรจุแป้งสาคูในกระบอกตวงขนาด 100 ml โดยชั่งน้ำหนักของกระบอกตวงเปล่าก่อนแล้วนำกระบอกตวงมาบรรจุแป้งให้มีปริมาตร 50 ml นำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง นำเข้าเครื่อง tapping device แล้วบันทึกค่า bulk volume, tapped density และ % compressibility จากนั้นคำนวณค่า % porosity จากสูตร

$$\% \text{ porosity} = \left(1 - \frac{\text{true volume}}{\text{Bulk volume}}\right) \times 100$$

โดย true volume คือค่าที่อ่านจากปริมาตรน้ำกลั่นที่เหลือในกระบอกตวง 100 ml หลังจากที่เทน้ำกลั่น ลงในกระบอกตวงที่มีผงแป้งอยู่จนระดับน้ำกลั่นถึงขีดปริมาตร 100 ml

5.5 การทดสอบความชื้นของผลิตภัณฑ์ (Moisture content) (8)

ชั่งผงแป้ง 1 กรัมทุกตำรับ แล้วนำมาหาความชื้นด้วยเครื่อง moisture balance นำผงแป้งใส่ลงใน aluminum pan แล้วนำไปเข้าเครื่อง moisture balance ซึ่งเครื่องจะทำการให้ความร้อนเพื่อไล่น้ำออกจากผงแป้ง พร้อมกับการชั่งสารไปด้วย ทำการทดลอง 3 ครั้ง แล้วนำไปหาค่าเฉลี่ยเพื่อนำมาวิเคราะห์ความชื้น

5.6 การทดสอบการควบคุมความมัน (Oil control)

นำแป้งแต่ละตำรับทาลงบนกระดาษกรอง ทาทับจนให้แป้งมีความหนาเท่ากัน แล้วใช้ micropipets หยด oil ลง 1 หยด สังเกตดูการกระจายตัวของ oil ว่าแป้งสามารถดูดซับความมันได้ดีหรือไม่ โดยวัดค่าเป็นรัศมี (cm) แล้วทำการวัดมุมสัมผัสการเปียก (Contact angle) ซึ่งจะเป็นมุมระหว่างหยดของของเหลววัดเปรียบเทียบกับผิววัสดุ ณ จุดที่ผิวทั้ง 2 เกาะติดกัน โดยใช้มุมนี้เป็นเกณฑ์แบ่งการเปียกของของเหลวบนวัสดุว่าเปียกได้ดีหรือไม่ มีเกณฑ์ดังนี้

ตารางที่ 5 : ตารางประเมินการเปียกของเหลวบนวัสดุว่าเปียกได้ดีหรือไม่

มุมสัมผัส	ความสามารถในการเปียก
0°	ผิวเปียกอย่างสมบูรณ์
0°- 90°	ผิวเปียกได้ดี
>90° แต่ไม่ถึง 180°	ผิวเปียกยาก
180°	ผิวไม่เปียก

5.7 ทดสอบฤทธิ์ในการปกป้องรังสี UV ในหลอดทดลอง (In *vitro* UV protection test) (16)

นำตำรับแป้งฝุ่นมาทาลงบน 24–well filter plate หลังจากนั้นนำไปครอบสารละลาย ascorbic acid แล้วนำไปสัมผัสแสง UV เมื่อครบเวลา นำสารละลาย ascorbic acid แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid ที่เหลืออยู่ ทำการศึกษาที่เวลา 0 30 60 90 และ 120 นาที เปรียบเทียบกับ ตำรับมาตราฐานที่มีส่วนประกอบของ talcum และ ascorbic acid ที่ไม่มีการปกป้องด้วยแป้งใด ๆ

5.8 ทดสอบความคงตัว

5.8.1 ทดสอบความคงตัวโดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometry หาปริมาณ total curcuminoids

เตรียมสารมาตรฐาน curcuminoids ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปวัดค่า Absorbance และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph) และนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างไปเทียบกับ กราฟมาตรฐาน (calibration graph) เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยตรง เตรียมสารตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์โดยชั่งแป้งฝุ่นที่มีสารสกัดของว่านนางคำ 0.5 g ละลายใน methanol แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 mL ใน volumetric flask จากนั้นนำไป centrifuge 15 นาที แล้วกรองผ่านหัวกรอง syringe filter ขนาด 0.22 μm และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

5.8.2 ทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง (Accelerated Stability test) (11)

เก็บตัวอย่างตามสภาวะอุณหภูมิ 40 °C ซึ่งจะทำการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง ควบคู่ไปกับการทำ moisture balance ณ วันที่ 0, 15, 30

Example of conditions for accelerated stability testing of products containing relatively stable active ingredients

Storage temperature (°C)	Relative humidity (%)	Duration of studies (months)
	Zone IV- For hot climatic zones or global market:	
40±2	75±5	6
	Zone II - For temperate and subtropical climatic zones:	
40±2	75±5	3

รูปที่ 5 : การทดสอบ Stability test

อ้างอิงรูปภาพจาก : Guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms

5.9 ทดสอบตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (Total aerobic microbial count : TAMC) (22)

นำตัวอย่าง 10 กรัม มาเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ Soybean Casein digest broth อัตราส่วน 1:10 แล้วนำไปเจือจางต่อครั้งละ 10 เท่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน นำตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นไปเพาะเลี้ยงด้วยวิธี plate method ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ Soybean Casein digest broth โดยเพาะเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 – 3 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

5.10 ทดสอบตรวจหาจำนวนราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด (Total combined yeasts and molds count : TYMC) (22)

นำตัวอย่าง 10 กรัม มาเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose broth และ agar อัตราส่วน 1:10 แล้วนำไปเจือจางต่อครั้งละ 10 เท่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน นำตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นไปเพาะเลี้ยงด้วยวิธี plate method ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ Sabouraud dextrose broth และ agar โดยเพาะเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 20 - 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 – 7 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

บทที่4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเทียบกับแป้ง Talcum

1.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติการไหล (Flowability) จากค่า Angle of repose

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบการไหลของแป้งสาคู

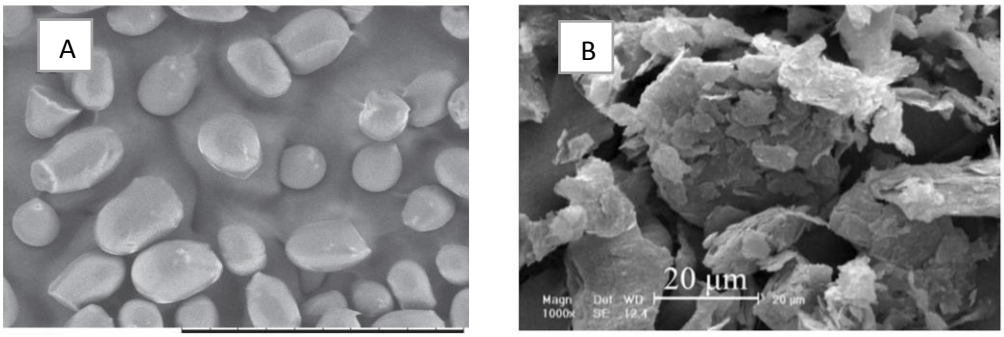
ครั้งที่	h (cm)	r (cm)	tan θ	θ	flowability
1	1	6.20	0.161	9.085	excellent
2	1	6.25	0.160	9.018	excellent
3	1.1	6.25	0.176	9.882	excellent
ผลการทดสอบการไหลของแป้งสาคูเฉลี่ย				9.88±0.481	

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบการไหลของทัลคัม

ครั้งที่	h (cm)	r (cm)	tan θ	θ	flowability
1	2.5	3.5	0.714	35.527	Poor or Passable
2	2.6	3.4	0.765	37.416	Poor or Passable
3	2.5	3.6	0.694	34.761	Poor or Passable
ผลการทดสอบการไหลของแป้งสาคูเฉลี่ย				35.901±1.367	

อภิปรายผลการทดสอบ

การประเมินการไหลของผงแป้งมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาสูตรตำรับในรูปแบบของแข็ง โดยการประเมินด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งนั้นไม่เพียงพอที่จะประเมินลักษณะการไหลของผงยาได้อย่างสมบูรณ์ จึงจะต้องใช้หลายวิธีพิจารณาร่วมกัน ในงานวิจัยนี้ได้ทำการประเมิน 2 วิธี ได้แก่ (1) Angle of repose และ (2) compressibility index ในการทดสอบโดยวิธี Angle of repose จะบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการไหลของผงแป้ง ยิ่งมุมการไหลของผงแป้งมีค่าน้อยจะยิ่งบ่งชี้ว่าแป้งมีคุณสมบัติไหลได้ดี สามารถแผ่กระจายตัวได้ดี โดยในการศึกษาการไหลของแป้งสาคูเทียบกับแป้งทัลคัมพบว่าแป้งสาคูมีการไหลที่ดีกว่าแป้งทัลคัม ดังที่แสดงผลในตารางที่ 6 และ 7 พบว่าค่า angle of repose ของแป้งสาคูมีค่าเท่ากับ 9.085 9.018 และ 9.882 ตามลำดับ ส่วนค่า angle of repose ของแป้งทัลคัมอยู่ที่ 35.527, 37.416, 34.761 ตามลำดับ ซึ่งบ่งบอกได้ว่าแป้งสาคูมีประสิทธิภาพในการไหลที่ดีกว่า หนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่อการไหลคือลักษณะทางกายภาพที่มีความแตกต่างกัน โดยอ้างอิงจากงานวิจัย (24) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแป้งสาคูด้วยเครื่อง Scanning electron and light microscope พบว่าลักษณะแป้งสาคูมีรูปร่างกลมรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-60 μm มีพื้นผิวที่เรียบเนียน ไม่มีรูพรุนและไม่พบรอยขรุขระเลยจึงทำให้แป้งสาคูมีการไหลที่ดี ส่วนในแป้งทัลคัมจากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแป้งทัลคัมด้วย Scanning electron and light microscopy (25) พบว่าทัลคัมมีรูปร่างเป็นแผ่น ไม่ใช่ทรงกลมรี และยังมีพื้นผิวที่ขรุขระ โดยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 20 μm ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แป้งทัลคัมมีการไหลที่ไม่ดีเทียบเท่าแป้งสาคู



รูปที่ 5 อ้างอิงภาพจากงานวิจัย (24), (25) ในการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแป้งสาคู(A) และแป้งทัลคัม (B) ตามลำดับด้วยวิธี Scanning electron and light microscopy

ผลการทดสอบวัดขนาดอนุภาคโดยการแร่ง (Sieve method)

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบครั้งที่ 1 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยแป้งสาคู (d_{av}) = 29.73 µm

No.	ขนาดช่องเปิด (µm)	ขนาดเฉลี่ย (µm)	น้ำหนักก่อนร่อน (g)	น้ำหนักหลังร่อน (g)	น้ำหนักอนุภาค (g)	น้ำหนักอนุภาค (%)	Weight size distribution
230	63	63	259.9	643.81	383.91	38.541	2428.078
170	90	76.5	233.12	238.07	4.95	0.497	38.015
120	125	107.5	270.71	274.68	3.97	0.399	42.844
80	180	152.5	274	276.32	2.32	0.233	35.518
60	250	215	278.31	282	3.69	0.370	79.645
45	355	302.5	290.07	295.04	4.97	0.499	150.93
40	425	390	294.41	298.3	3.89	0.391	152.302
35	500	462.5	264.45	265.44	0.99	0.099	45.966
ถาด	0	>462.5	356.47	947.86	591.39	59.37	-
รวม					996.11	100.399	2973.299

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบครั้งที่ 2 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยแป้งสาคู (d_{av}) = 31.08 µm

No.	ขนาดช่องเปิด (µm)	ขนาดเฉลี่ย (µm)	น้ำหนักก่อนร่อน (g)	น้ำหนักหลังร่อน (g)	น้ำหนักอนุภาค (g)	น้ำหนักอนุภาค (%)	Weight size distribution
230	63	63	259.8	640.32	380.52	38.437	2421.54
170	90	76.5	233.09	243.55	10.46	1.057	80.829
120	125	107.5	271.08	275.87	4.79	0.484	52.014
80	180	152.5	273.97	278.33	4.36	0.440	67.163
60	250	215	279.6	282.74	3.14	0.317	68.193
45	355	302.5	291.22	294.42	3.2	0.323	97.78
40	425	390	295.69	302.35	6.66	0.673	262.369
35	500	462.5	265.71	266.95	1.24	0.125	57.930
ถาด	0	>462.5	357.41	937.81	580.4	58.627	-
รวม					989.98	100.484	3107.818

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบครั้งที่ 3 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยแป้งสาคู (d_{av}) = 30.68 µm

No.	ขนาดช่องเปิด (µm)	ขนาดเฉลี่ย (µm)	น้ำหนักก่อนร่อน (g)	น้ำหนักหลังร่อน (g)	น้ำหนักอนุภาค (g)	น้ำหนักอนุภาค (%)	Weight size distribution
230	63	63	259.77	639.28	379.51	38.308	2413.406
170	90	76.5	232.25	242.36	10.11	1.021	78.069
120	125	107.5	270.68	274.85	4.17	0.421	45.249
80	180	152.5	273.87	277.23	3.36	0.339	51.722
60	250	215	278.6	281.74	3.14	0.317	68.145
45	355	302.5	290.22	293.53	3.31	0.334	101.069
40	425	390	294.69	301.16	6.47	0.653	254.704
35	500	462.5	264.71	265.92	1.21	0.122	56.489
ถาด	0	>462.5	357.41	936.81	579.4	58.485	-
รวม					990.68	100	3068.854

อภิปรายผลการทดสอบ

การหาขนาดอนุภาคเฉลี่ยของแป้งสาคูโดยวิธีการแร่ง (sieve method) นี้เป็นวิธีการทดสอบหาการกระจายของขนาดแป้งสาคู โดยให้ผ่านตะแกรงจากขนาดใหญ่ที่อยู่ด้านบนสุดลงไปจนถึงขนาดอนุภาคเล็กที่มีขนาดช่องผ่าน 0.075 มม. (เบอร์ 230) แล้วเปรียบเทียบน้ำหนักของแป้งที่ตกค้างบนตะแกรงขนาดต่างๆ โดยจากการทดสอบตัวอย่างแป้งสาคูซ้ำทั้ง 3 ครั้งพบว่าพบว่าแป้งสาคูมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 29.73 31.08 และ 30.68 µm ซึ่งบ่งบอกว่าขนาดเฉลี่ยของผงแป้งสาคูมีความละเอียดมาก และมีขนาดที่สม่ำเสมอกัน ซึ่งความละเอียดของอนุภาคของผงแป้งที่มากก็จะทำให้เนื้อสัมผัสของแป้งมีความลื่นเบาไหลได้ดี มีการแผ่กระจายตัวได้ดี แป้งอนุภาคขนาดเล็กและมีความละเอียดสูงจะมีประสิทธิภาพในการยึดเกาะผิวหน้าได้ดี โดยมาตรฐานในการผลิตแป้งฝุ่นตามข้อกำหนดของ USP ได้มีข้อกำหนดว่าแป้งที่นำมาใช้ในการผลิตจะต้องมีความละเอียดผ่านแร่งเบอร์ 200 ได้ โดยจากการทดสอบหาขนาดอนุภาคเฉลี่ยของแป้งสาคูโดยวิธีการแร่งนี้พบว่าอนุภาคของแป้งสาคูมีความละเอียดผ่านแร่งเบอร์ 230 ได้ ซึ่งผ่านตามเกณฑ์ที่มาตราฐานกำหนด

1.3 ผลการการทดสอบหาความหนาแน่น (density)

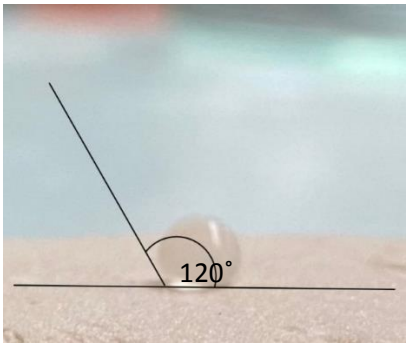
ตารางที่ 11 ผลการศึกษาความหนาแน่นของแป้งสาคู

ครั้งที่	น้ำหนักผงแป้ง 50 ml (g)	Bulk volume (ml)	Tapped volume (ml)	True volume (ml)	Bulk density (g/ml)	Tapped density (g/ml)	True density (g/ml)	% compress	% porosity
1	41.76	48	45	39	0.87	0.93	1.07	6.452	18.75
2	37.96	46	42	34	0.83	0.90	1.12	7.778	26.10
3	38.7448	47	42	34	0.82	0.92	1.12	10.870	27.66

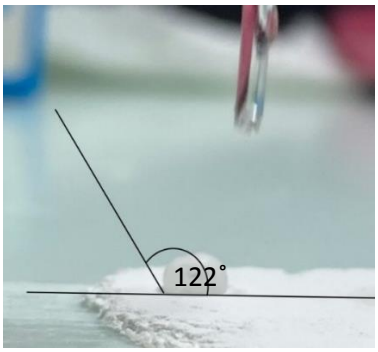
อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบหาความหนาแน่นเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการประเมินลักษณะการไหลของผงแป้ง เพราะอย่างที่เคยกล่าวไว้ในส่วนของการทดสอบโดยวิธี Angle of repose ว่าในการประเมินการไหลของสารเพียงวิธีใดวิธีหนึ่งนั้นไม่เพียงพอที่จะประเมินลักษณะการไหลของผงยาได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งความหนาแน่นของสาร เป็นสมบัติหนึ่งทางกายภาพที่สำคัญของตัวกลางที่ส่งผลต่อการไหลของสาร โดยในการทดสอบความหนาแน่นของแป้งสาคูซ้ำทั้ง 3 ครั้งพบว่ามีค่า True density เท่ากับ 1.07 1.12 และ 1.12 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดสอบดังข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าแป้งสาคูมีการไหลที่ดีเยี่ยม ซึ่งมีผลการทดสอบที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันกับการทดสอบโดยวิธี Angle of repose

1.4 ผลการทดสอบการเปียกน้ำ



รูปที่ 6 ผลทดสอบการเปียกของแป้งสาคู



รูปที่ 7 ผลทดสอบการเปียกของแป้งทัลคัม

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบผลการศึกษาความสามารถในการเปียกของแป้งสาคูและแป้งทัลคัม

สารตัวอย่าง	มุมสัมผัส	ความสามารถในการเปียก
แป้งสาคู	120˚	ผิวเปียกยาก
ทัลคัม	122˚	ผิวเปียกยาก

อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบความสามารถในการเปียกน้ำของแป้งสาคูเปรียบเทียบกับแป้งทัลคัมสามารถนำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของแป้งเมื่อสัมผัสกับน้ำโดยตรงว่าจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนหรือไม่ แป้งผัดหน้าหากเปียกน้ำได้ง่าย แสดงว่าแป้งมีความสามารถในการดูดซับความชื้นและน้ำได้ดี เมื่อนำมาทาลงบนผิวหน้าจะทำให้แป้งจับตัวกันเป็นก้อนได้เมื่อสัมผัสกับเหงื่อหรือความชื้นในอากาศ โดยผลการทดสอบความสามารถในการเปียกน้ำพบว่าแป้งสาคูมีมุมสัมผัสเท่ากับ 120˚ และ Talcum มีมุมสัมผัสเท่ากับ 122˚ ซึ่งสารทั้งสองมีมุมสัมผัสที่ใกล้เคียงกัน และจัดอยู่ในสารที่มีผิวเปียกน้ำยากเหมือนกัน สามารถนำมาสรุปผลได้ว่าแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้มีคุณสมบัติเปียกน้ำได้ยาก ซึ่งแป้งจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้ยากเมื่อนำมาทาลงบนผิว ดังนั้นแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้จึงมีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นแป้งผัดหน้า ไม่ทำให้แป้งลบเลือนเมื่อมีเหงื่อออกในระหว่างวัน

1.5 ทดสอบการควบคุมความมัน (oil control)

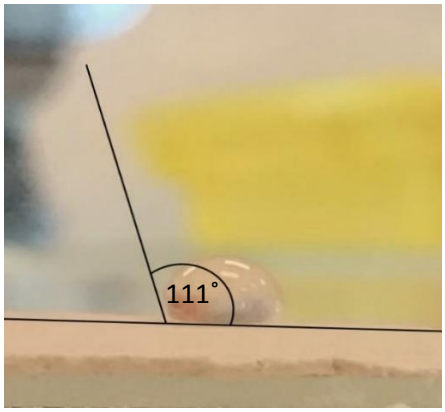
ตารางที่ 13 ผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคู

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.5	44.97
2	1	0.6	46.04
3	1	0.6	47.81

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคูหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	1.40	1.55	0.03
2	1.40	1.60	0.03
3	1.40	1.60	0.03



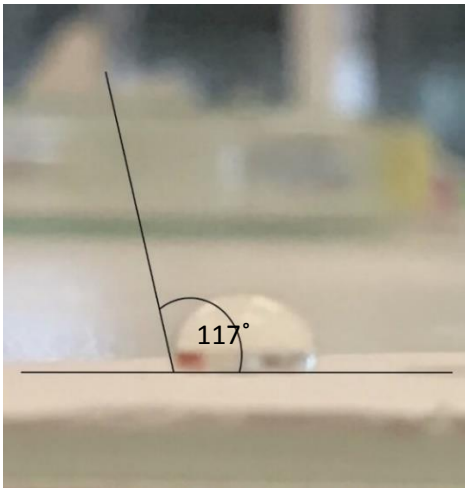
รูปที่ 8 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูพบว่าเปียกน้ำมันยาก

ตารางที่ 15 ผลการทดสอบควบคุมมันของ Talcum

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.6	60.06
2	1	0.5	59.64
3	1	0.5	60.02

ตารางที่ 16 ผลการทดสอบควบคุมมันของแป้งสาคูหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	0.8	0.95	0.02
2	0.8	0.90	0.02
3	0.8	0.90	0.02

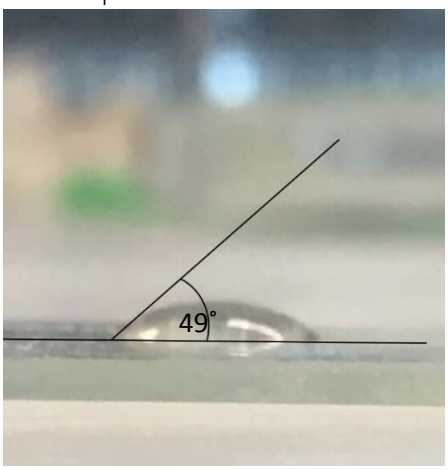


รูปที่ 9 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมพบว่าเปียกน้ำมันยาก

ตารางที่ 17 ผลการทดสอบควบคุมมันของ control (พื้นกระดาษเปล่า)

ครั้งที่	**ปริมาณ oil (หยด)**	**เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)**	**เวลา (วินาที)**
1	1	0.8	0.65
2	1	0.8	0.65
3	1	0.8	0.62

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl



รูปที่ 10 จากค่ามุมสัมผัสของกระดาษเปล่า (control) พบว่าผิวเปียกได้ดี

อภิปรายผลการทดสอบ

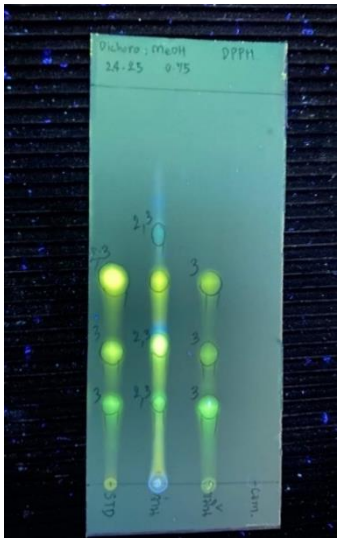
การทดสอบการควบคุมมันของแป้งแสดงถึงประสิทธิภาพในการดูดซับความมันของแป้งบนผิวหน้าได้ ซึ่งจะทำให้ช่วยลดความมันส่วนเกินบนใบหน้าได้ โดยผลการทดสอบการควบคุมมันพบว่าแป้งสาคูมีมุมสัมผัสเท่ากับ 111˚ และแป้งทัลคัมมีมุมสัมผัสเท่ากับ 117˚ แสดงให้เห็นว่าแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้เปียกน้ำมันได้ยาก และสามารถดูดซับน้ำมันได้ดังที่แสดงในตารางที่ 14 และ 16 โดยจากผลการทดสอบจะพบว่าแป้งสาคูมีการดูดซับน้ำมันได้ดีเทียบเท่ากับแป้งทัลคัม เพราะแป้งสาคูมีอนุภาคขนาดเล็กและละเอียดพอๆกับแป้งทัลคัม จึงมี

ประสิทธิภาพในการยึดเกาะผิวหน้าและดูดซับความมันบนผิวหน้าได้ดีคล้ายๆกัน ดังนั้นแป้งสาคูจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาพัฒนาต่อเป็นตำรับแป้งผัดหน้าเพราะมีประสิทธิภาพในการควบคุมมันไม่แตกต่างจากแป้งทัลคัม

2. ศึกษาปริมาณ Curcuminiods และพิสูจน์เอกลักษณ์ของว่านนางคำ

2.1 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีในว่านนางคำ

2.1.1 ผลการวิเคราะห์แยกสารด้วยวิธี Thin layer chromatography



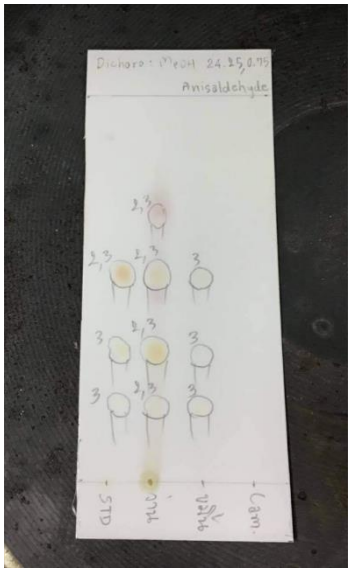
Sample	จุดที่	R_f
Standard (Curcuminiods)	1	0.513
	2	0.3
	3	0.175
ว่านนางคำ	1	0.65
	2	0.513
	3	0.325
	4	0.175
ขมิ้นชัน	1	0.5
	2	0.313
	3	0.175

อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบ TLC เป็นการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีในว่านนางคำว่าว่านนางคำที่นำมาใส่ในตำรับแป้งไม่มีการปนเปื้อนของสารอื่น และเป็นว่านนางคำจริง โดยได้ทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน curcuminoid และขมิ้นที่มี curcuminiods เป็นสารสำคัญเช่นเดียวกัน จากผลการทดสอบพบว่าในตัวอย่างว่านางคำมีค่า R_f 4 จุดคือ 0.65, 0.513, 0.325 และ 0.175 โดยจะสังเกตได้ว่าพีคที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.65, 0.513 และ 0.325 นั้นตรงกับค่า R_f 3 จุดในสารมาตรฐาน curcuminoids และขมิ้นชัน ที่ใช้เป็นตัวเทียบ control ซึ่งสามารถใช้ยืนยันได้ว่าสารทั้ง 3 ตัวที่แยกออกมาได้ในพีคที่ 1-3 ในว่านางคำนั้นคือ Bisdemethoxycurcumin Demethoxycurcumin และ Curcumin โดยจุดที่ 4 คาดว่าน่าจะเป็น Bisdemethoxycurcumin จุดที่ 3 เป็น Demethoxycurcumin และจุดที่ 2 เป็น Curcumin ตามความมีขั้วของสาร ซึ่งสารที่มีขั้วต่ำสุดจะออกจากก่อนจากการที่ถูก mobile phase พาสารเคลื่อนที่จาก stationary phase ออกมาก่อน ซึ่งจากในภาพที่แสดงผลการทดสอบจะพบได้ว่าว่านนางคำมี Demethoxycurcumin มากกว่าขมิ้นชันโดยเมื่อดูด้วยตาเปล่าใต้แสง UV ตรงสาร Demethoxycurcumin ในว่างนางคำมีการเรือนแสงเข้มชัดกว่าในขมิ้นชัน ซึ่งพบว่า Bisdemethoxycurcumin มี potency Antioxidant มากที่สุด รองลงมาเป็น Demethoxycurcumin ส่วนตัวที่มี potency น้อยที่สุดคือ Curcumin

แต่ในว่านางคำยังพบอีกสารที่ R_f 0.175 ซึ่งไม่พบทั้งในสารมาตรฐาน curcuminoids และขมิ้นชัน จึงได้ทำการทดสอบ Anisaldehyde spray reagent, $FeCl_3$ spray reagent และ NP/PEG spray reagent เพิ่มเติมเพื่อพิสูจน์สารที่พบในจุดที่ 4 ของว่านนางคำต่อไป

2.1.2 ผลการทดสอบ Anisaldehyde spray reagent

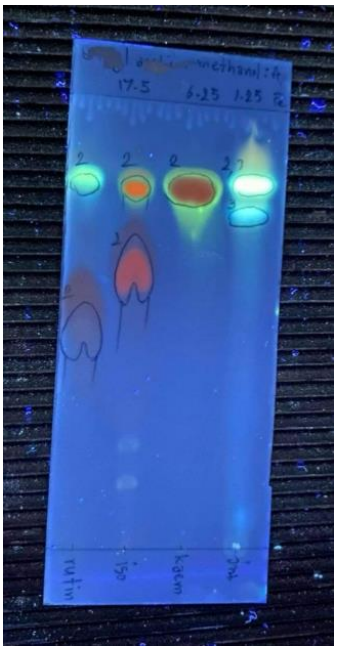


Sample	จุดที่	R_f
Standard (Curcuminiods)	1	0.519
	2	0..316
	3	0.165
ว่านนางคำ	1	0.658
	2	0.519
	3	0.316
	4	0.165
ขมิ้นชัน	1	0.506
	2	0.304
	3	0.165

อภิปรายผลการทดสอบ

ในการทำการทดสอบ Anisaldehyde spray reagent เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าสารจุดที่ 4 ในว่านนางคำคือ terpeniods หรือไม่ โดยนำตัวอย่างว่านนางคำมาทดสอบกับสารเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน curcuminoid และขมิ้น โดยหลังจากพ่นด้วย Anisaldehyde spray reagent พบว่าจุดที่ 4 ในว่านนางคำขึ้นเป็นสีม่วงหลังจากการทดสอบ จึงมีความเป็นไปได้ว่าสารจุดที่ 4 (R_f 0.175) ในว่านนางคำนั้นเป็นสารกลุ่ม terpeniods

2.1.3 ผลการทดสอบ $FeCl_3$ spray reagent

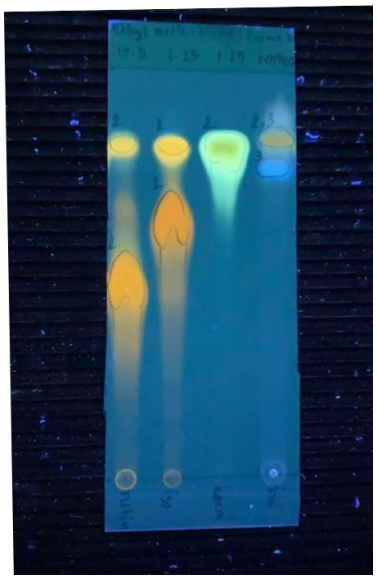


Sample	จุดที่	R_f
ว่านนางคำ	1	0.85
	2	0.77
rutin	1	0.82
	2	0..48
isoquercitin	1	0.82
	2	0.605
	3	0.162
Kaempferol	1	0.82

อภิปรายผลการทดสอบ

การทำการทดสอบ $FeCl_3$ spray reagent เพื่อตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับสารมาตราฐาน flavonoids 3 ตัวคือ rutin isoquercitin และ kaemferol เป็นตัว control เทียบเพื่อพิสูจน์ว่าสารจุดที่ 4 ในตัวอย่างมีสารประกอบฟีนอลิกหรือไม่ ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่าในจุดที่ 4 (R_f 0.175) ในว่านนางคำนั้นมีสารสารประกอบฟีนอลิก

2.1.4 ผลการทดสอบ NP/PEG spray reagent



Sample	จุดที่	R_f
ว่านนางคำ	1	0.844
	2	0..75
rutin	1	0.813
	2	0..475
isoquercitin	1	0.813
	2	0.638
	3	0.165
Kaempferol	1	0.813

อภิปรายผลการทดสอบ

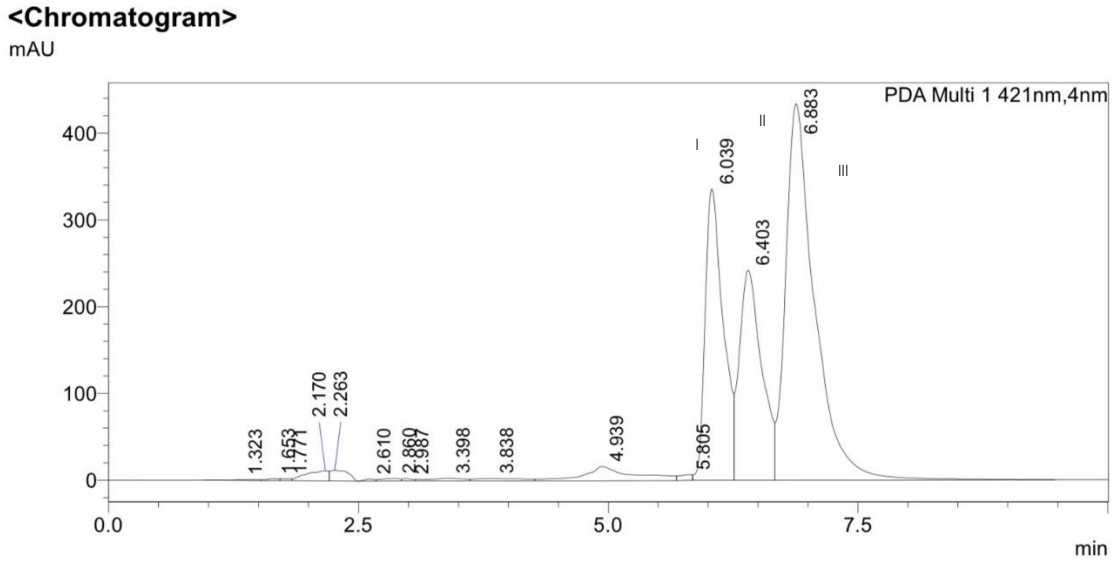
การทำการทดสอบ NP/PEG spray reagent เพื่อตรวจสอบว่าสารจุดที่ 4 ในว่านนางคำใช่สารกลุ่ม flavonoids หรือไม่ โดยนำมาทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน flavonoids 3 ตัว คือ rutin isoquercitin และ kaemferol เป็นตัว control ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่าในจุดที่ 4 (R_f 0.175) ในว่านนางคำนั้นไม่ใช่สารกลุ่ม flavonoids เพราะมีค่า R_f แตกต่างกับสารมาตราฐานกลุ่ม flavonoids

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจุดที่ 4 (R_f 0.175) ในว่านนางคำนั้นไม่ใช่ทั้งสารกลุ่ม flavonoids และฟีนอลิก แต่พบว่าเป็นสารกลุ่ม terpeniods จึงคาดการณ์ว่าจุดที่ 4 (R_f 0.175) ในว่านนางคำนั้นเป็นน้ำมันหอมระเหยกลุ่ม terpene

2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ curcuminoids ด้วยเครื่อง HPLC

ตารางที่ 18 ตารางบันทึกน้ำนักของสารมาตรฐานCurcuminoid

	Weight (g)
Standard Curcuminoid	0.0102

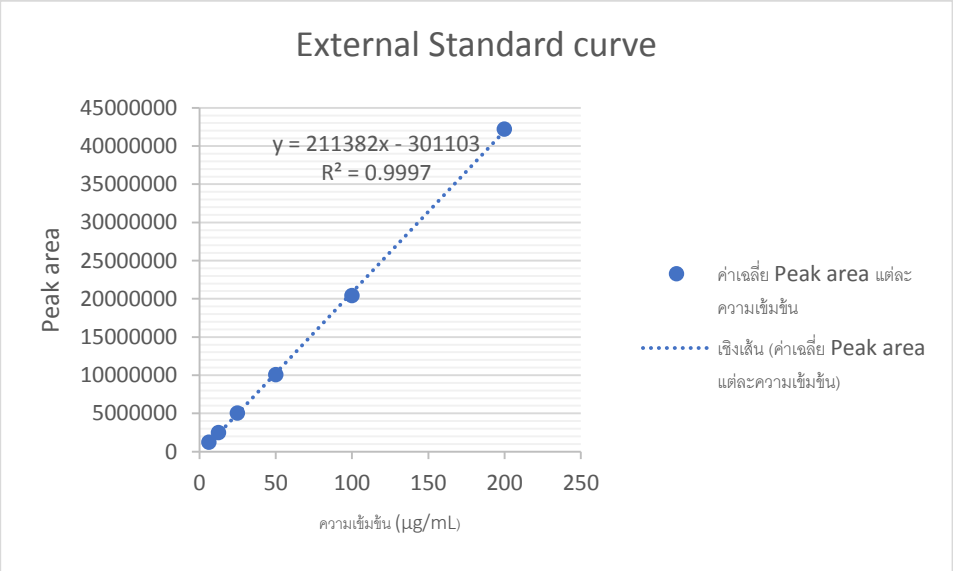


รูปที่ 11 โครมาโทแกรมของ Bisdemethoxycurcumin (I) Demethoxycurcumin (II) และ Curcumin (III) ใน สารมาตรฐาน Curcuminoid

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ย peak area ในแต่ละความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (µg/mL)	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 421 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area แต่ละความเข้มข้น
200	6.069	42214435	42210143.33±43353
	6.06	42164804	
	6.081	42251191	
100	6.069	20517442	20428173.33±77547
	6.079	20377467	
	6.104	20389611	
50	6.084	10057206	10061905.67±6070
	6.102	10059751	
	5.971	10068760	
25	6.09	5038224	5034790.667±8629
	6.105	5041175	
	6.114	5024973	
	6.123	2481541	

12.5	6.114	2487388	2484926±3030
	6.13	2485849	
6.25	5.998	1201366	1205179.333±3923
	6.132	1204968	
	6.141	1209204	



รูปที่ 12 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเทคนิค External Standard Method

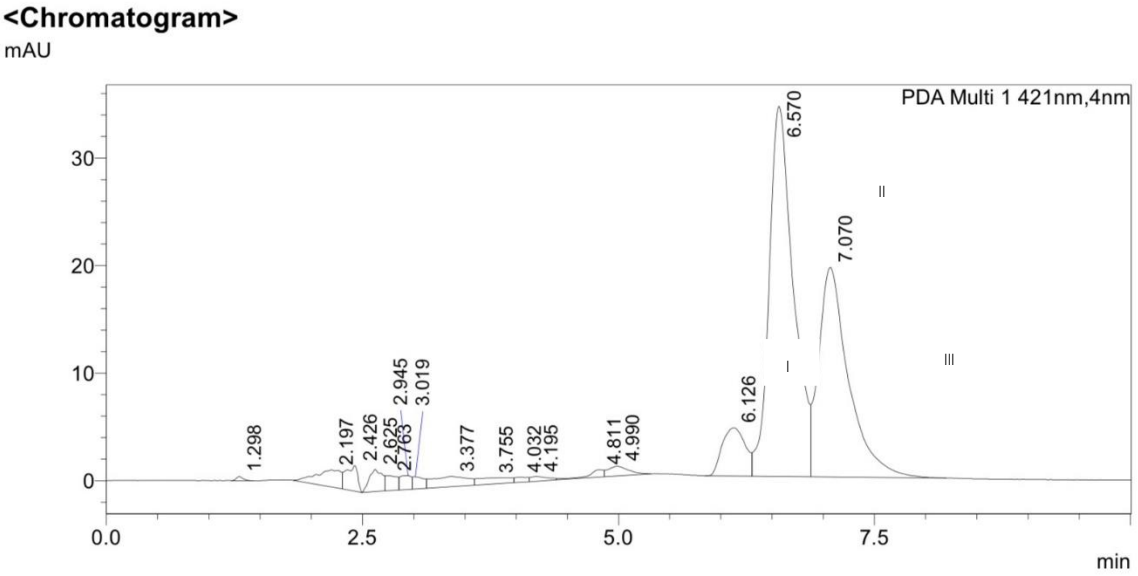
ข้อมูลทั่วไปของว่านนางคำ

ชื่อสาร ว่านนางคำ ชนิดผง (powder) **บริษัท** สมุนไพรท่าพระจันทร์

วันที่ผลิต - **Lot.NO.** -

ตารางที่ 20 ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่างว่านนางคำ

Weight (g)		
ตัวอย่างที่ 1	**ตัวอย่างที่ 2**	**ตัวอย่างที่ 3**
20.0mg	20.0 mg	20.0 mg



รูปที่ 13 โครมาโทแกรมของ Bisdemethoxycurcumin (I) Demethoxycurcumin (II) และ Curcumin (III) ในตัวอย่างว่านนางคำ

ตารางที่ 21 ผลการฉีดตัวอย่างละ ซ้ำ 3 (n=3) ที่ความเข้มข้น 2000 μg/ml

ตัวอย่างที่	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 421 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area
1	6.125	2120196	2122639.333±3035
	5.998	2121685	
	6.115	2126037	
2	6.124	1759748	1759627.667±495
	6.145	1760052	
	6.122	1759083	
3	6.135	1611531	1608880±2308
	6.004	1607310	
	6.012	1607799	

อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในว่านนางคำที่นำมาใส่ในตำรับแป้งสาคู ซึ่งประกอบด้วยสารสำคัญได้แก่ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin โดยทำการทดสอบเทียบกับสารมาตรฐาน Curcuminiod เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาระสำคัญที่พบในสารมาตรฐาน Curcuminiods พบว่ามี peak ของ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin ปรากฏขึ้นในนาทีที่ 6.059 6.403 และ 6.883 ตามลำดับ เมื่อนำเทียบกับว่านนางคำจะพบว่ามี peak ของ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin ปรากฏขึ้นในนาทีที่ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน curcumniods โดยปรากฏขึ้นในนาทีที่ 6.126 6.570 และ 7.070 ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถพิสูจน์ได้ว่า peak ในนาทีที่ 6.126 6.570 และ 7.070 ตามลำดับเป็น curcumin, demethoxycurcumin

และ bisdemethoxycurcumin จริง โดยจะพบว่าได้ว่าลักษณะ peak ของว่านนางคำมีสาร bisdemethoxycurcumin ที่สูงกว่าสารมาตรฐาน curcuminiods ซึ่งจากการศึกษาของ S Yodkeeree (25) พบว่า bisdemethoxycurcumin มี potency มากที่สุด รองลงมาเป็น demethoxycurcumin และตัวที่มี potency น้อยสุดคือ Curcumin

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 1

  ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 2122639.333

  จากสมการ y = 211382x - 301103

  ถ้า y = ดังนั้น 2122639.333X มีค่าเท่ากับ 11.47μg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างว่านนางคำ เท่ากับ 11.47μg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มีcurcuminoid 11.47 μg

  สารละลาย 10ml มีcurcuminoid 114.7μg

  ดังนั้น ว่านนางคำ 0.02g มี curcuminoid 114.7μg = 0.0001147 g

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่ % มี 1content = (0.0001147/0.02) x 100 = 0.5735

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่2

  ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 1759627.667

  จากสมการ y = 211382x - 301103

  ถ้า y = 1759627.667 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 9.75 μg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างว่านนางคำ เท่ากับ 9.75 μg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1 ml มีcurcuminoid 9.75 μg

  สารละลาย 10 ml มีcurcuminoid 97.5 μg

  ดังนั้น ว่านนางคำ 0.02 g มี curcuminoid 97.5 μg = 0.0000975 g

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่2 มี % content = (0.0000975/0.02) x 100 = 0.4875

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่3

  ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 1608880

  จากสมการ y = 211382x - 301103

  ถ้า y = 1608880 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 9.04 μg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างว่านนางคำ เท่ากับ 9.04 μg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1 ml มีcurcuminoid 9.04 μg

  สารละลาย 10 ml มีcurcuminoid 90.4 μg

  ดังนั้น ว่านนางคำ 0.02 g มี curcuminoid 90.4 μg = 0.0000904 g

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่3 มี % content = (0.0000904/0.02) x 100 = 0.452

ตารางที่ 22 ตาราง % content ของสารตัวอย่างขมิ้นชัน

ตัวอย่างที่	% content	ค่าเฉลี่ย % content±SD	RSD	%RSD
1	0.5735	0.5043 ± 0.0625	0.1239	12.3876
2	0.4875			
3	0.4520			

ตารางที่ 23 ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่างขมิ้นชัน

Weight (g)		
ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
20.0mg	20.0 mg	20.0 mg

ตารางที่ 24 ผลการฉีดตัวอย่างละ ซ้ำ 3 (n=3) ที่ความเข้มข้น 200µg/ml

ตัวอย่างที่	Retention time	Peak area ที่ความยาวคลื่น 421 nm	ค่าเฉลี่ย Peak area
1	6.159	32866076	32877034±9500
	6.167	32882959	
	6.167	32882067	
2	6.167	31103988	31170293±61791
	6.168	31180622	
	6.174	31226269	
3	6.166	31082323	31133900±93280
	6.166	31077798	
	6.039	31241579	

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่1
  ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 32877034
  จากสมการ y = 211382x - 301103
  ถ้า y = 32877034 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 156.96 µg/ml
  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างขมิ้นชัน เท่ากับ 156.96 µg/ml
  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มีcurcuminoid 156.96 µg
  สารละลาย 10ml มีcurcuminoid 1569.6 µg
  ดังนั้น ขมิ้นชัน 0.02g มี curcuminoid 1569.6 µg = 0.0015696 g
  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100
  ดังนั้น สารตัวอย่างที่ % มี 1content = (0.0015696/0.02) x 100 = 7.848
- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่2
  ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 31170293

จากสมการ y = 211382x - 301103

ถ้า y = 31170293 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 148.88 µg/ml

ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างขมิ้นชัน เท่ากับ 148.88 µg/ml

จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มีcurcuminoid 148.88 µg

สารละลาย 10ml มีcurcuminoid 1488.8 µg

ดังนั้น ขมิ้นชัน 0.02g มี curcuminoid 1488.8 µg = 0.0014888 g

จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

ดังนั้น สารตัวอย่างที่2 มี % content = (0.0014888/0.02) x 100 = 7.444

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่3

ค่าเฉลี่ย Peak area ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 31133900

จากสมการ y = 211382x - 301103

ถ้า y = 31133900 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 148.71 µg/ml

ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่างขมิ้นชัน เท่ากับ 148.71 µg/ml

จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มีcurcuminoid 148.71 µg

สารละลาย 10ml มีcurcuminoid 1487.1 µg

ดังนั้น ขมิ้นชัน 0.02g มี curcuminoid 1487.1 µg = 0.0014871 g

จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

ดังนั้น สารตัวอย่างที่3 มี % content = (0.0014871/0.02) x 100 = 7.4355

ตารางที่ 25 ตาราง % content ของสารตัวอย่าง curcuminoid

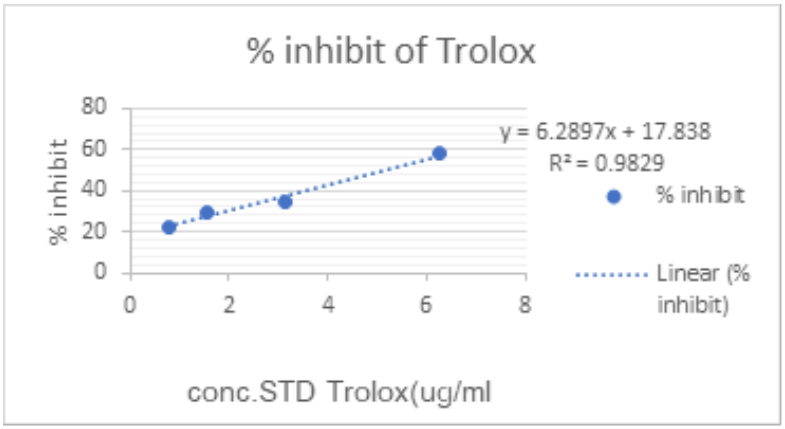
ตัวอย่างที่	**% content**	**ค่าเฉลี่ย % content±SD**	**RSD**	**% RSD**
1	7.848	7.5758 ± 0.2357	0.0311	3.1118
2	7.444			
3	7.4355			

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของว่านนางคำ

2.3.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Trolox โดยทดสอบด้วยวิธี DPPH

ตารางที่ 26 ค่า % inhibition ของ Trolox ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

conc.STD Trolox (ug/ml)	% inhibit
50	100
25	100
12.5	100
6.25	57.95886
3.125	34.89115
1.5625	29.79828
0.781	22.40863
0.39	11.22429
0.195	12.32275
0.0975	11.72359
0.04875	10.62512



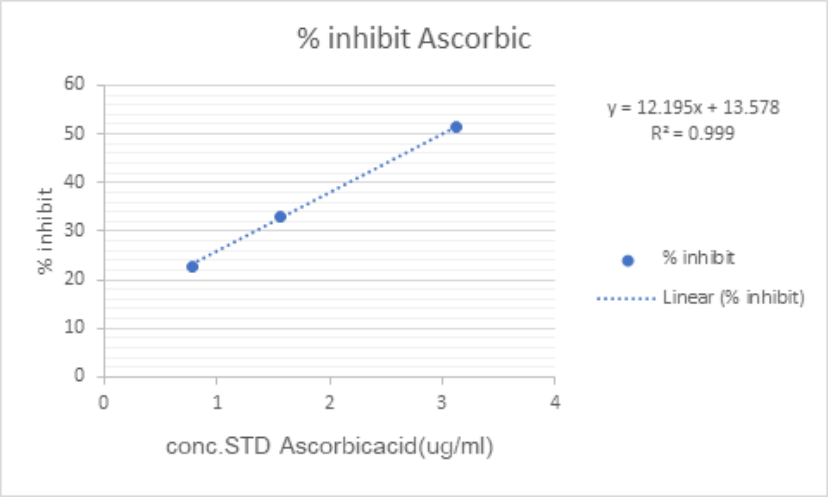
ภาพที่ 14 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Trolox ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ DPPH แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง จากการทดลองพบว่า trolox มีค่า IC_{50} = 5.11 µg/mL

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Vitamin C โดยวิธี DPPH

ตารางที่ 27 ค่า % inhibition ของ Vitamin C ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

Conc.STD Ascorbicacid(ug/ml)	% inhibit
50	100
25	100
12.5	100
6.25	100
3.125	51.51158
1.5625	33.15665
0.781	22.75226
0.39	21.08363
0.195	24.02827
0.0975	19.02238
0.04875	19.90577



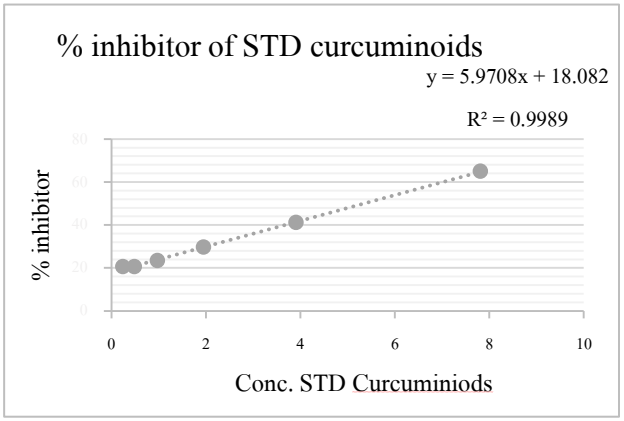
ภาพที่ 15 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้น Vitamin C ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ DPPH แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง จากการทดลองพบว่า Ascorbic acid มีค่า IC_{50} = 2.98 µg/mL

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Curcuminoids โดยวิธี DPPH scavenging assay

ตารางที่ 28 ค่า % inhibition ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี DPPH scavenging assay

Concentration (µg/mL)	%inhibition
2000	95.36731
1750	98.34547
1500	96.02912
1250	93.38187
1000	93.05096
900	96.36003
800	95.0364
700	95.0364
600	94.70549
500	94.70549
250	96.02912
125	95.36731
62.5	94.70549
31.25	94.70549
15.625	82.79285
7.8125	64.92389
3.9062	41.14994
1.9531	29.70688
0.9765	23.39346
0.4882	20.57497
0.2441	20.57497
0.12207	17.47463
0.061	16.62909
0.0305	16.17813
0.0152	39.00789
0.0076	35.51297
0.0038	35.68207
0.0019	39.45885



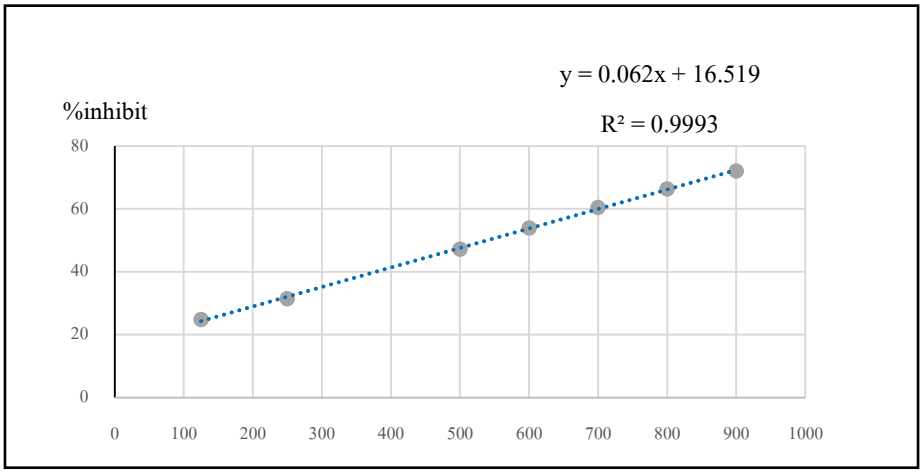
ภาพที่ 16 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของสารมาตราฐานด้วยวิธี DPPH scavenging assay

จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับ % inhibit ได้ค่า IC_{50} = 5.3457

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงว่านนางคำโดยวิธี DPPH

ตารางที่ 29 ค่า % inhibition ของผงว่านนางคำด้วยวิธี DPPH scavenging assay

conc	%inhibit
2000	91.58086
1750	89.21866
1500	85.22108
1250	80.73895
1000	72.44094
900	71.95639
800	66.26287
700	60.38764
600	53.90672
500	47.12296
250	31.37492
125	24.77286
62.5	17.92853
31.25	18.41308
15.625	10.17565
7.8125	8.661417



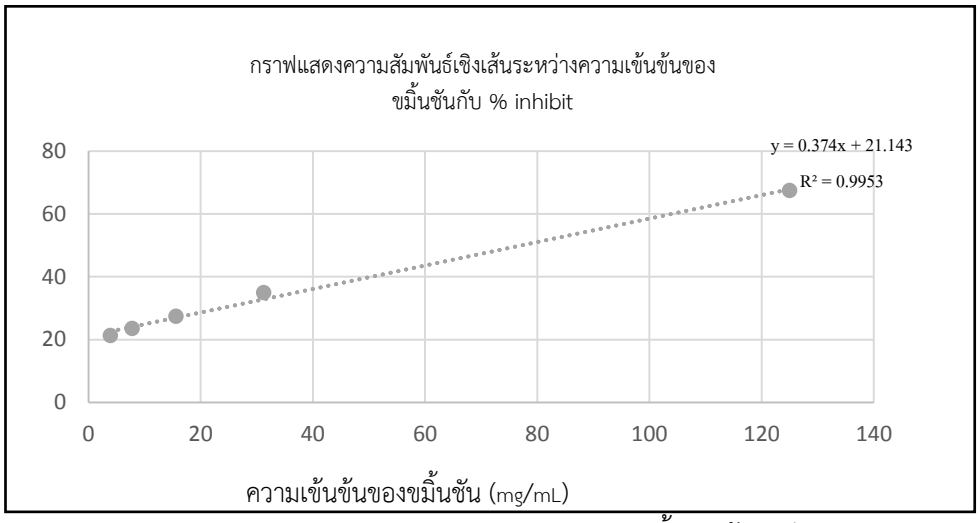
ภาพที่ 17 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำด้วยวิธี DPPH scavenging assay

จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของผงว่านนางคำกับ % inhibit ได้ค่า IC 50 = 540.016 และมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ IC_{50} ของสารอ้างอิง Trolox, vitamin C และสารมาตรฐาน Curcuminoids ได้เท่ากับ 5.11 µg/mL, 2.98 µg/mL และ 5.3457 µg/mL ตามลำดับ หาปริมาณว่านนางคำที่ต้องใส่ในตำรับ จากงานวิจัยของ Purnima Amin ในการพัฒนาตำรับ solid – lipid nanoparticle based 0.1% Soy Isoflavone dermal gels มีการเติมสาร Antioxidants มีค่า IC_{50} = 125 µg/ml ใส่ไป 0.1% ของตำรับ[24] ดังนั้นจากการวิเคราะห์ว่านนางคำมีค่า IC_{50} = 540.016 µg/ml ต้องใช้ปริมาณ 0.432% ของตำรับ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงขมิ้นชันโดยวิธี DPPH

ตารางที่ 30 ค่า % inhibition ของผงขมิ้นชันด้วยวิธี DPPH scavenging assay

Concentration	%inhibition
2000	95.04
1750	94.66667
1500	94.34667
1250	93.54667
1000	94.72
900	94.88
800	94.98667
700	94.45333
600	95.78667
500	95.52
250	87.94667
125	67.41333
62.5	47.94667
31.25	34.88
15.625	27.36
7.8125	23.46667



ภาพที่ 18 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของขมิ้นชันด้วยวิธี DPPH scavenging assay

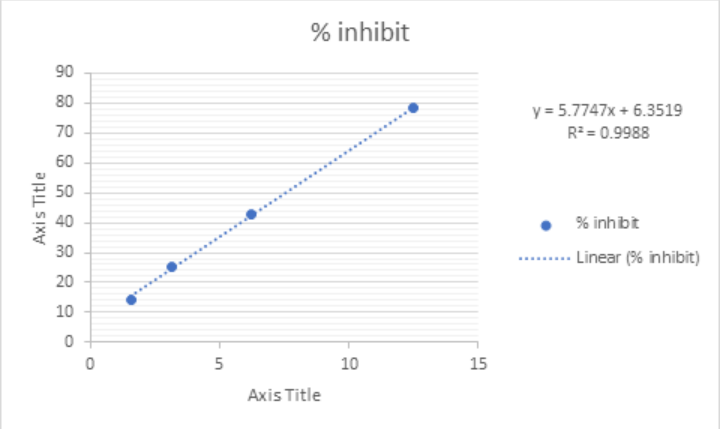
จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของผงขมิ้นชันกับ % inhibit ได้ค่า IC $_{50}$ = 77.1578 และมีค่าน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ IC_{50} ของสารอ้างอิง Trolox, vitamin C และสารมาตรฐาน Curcuminoids ได้เท่ากับ 5.11 µg/mL, 2.98 µg/mL และ 5.3457 µg/mL ตามลำดับ

2.3.2 การทดสอบด้วยวิธี ABTS

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Trolox โดยวิธี ABTS

ตารางที่ 31 ค่า % inhibition ของ Trolox ด้วยวิธี ABTS

Concentration Trolox (ug/ml)	% inhibition
50	100
25	100
12.5	78.20017
6.25	42.86942
3.125	25.47251
1.56	14.19674
0.781	4.96134
0.3905	6.142612
0.19525	2.222938
0.0976	4.585481
0.0488	5.874141



ภาพที่ 19 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Trolox ด้วยวิธี ABTS

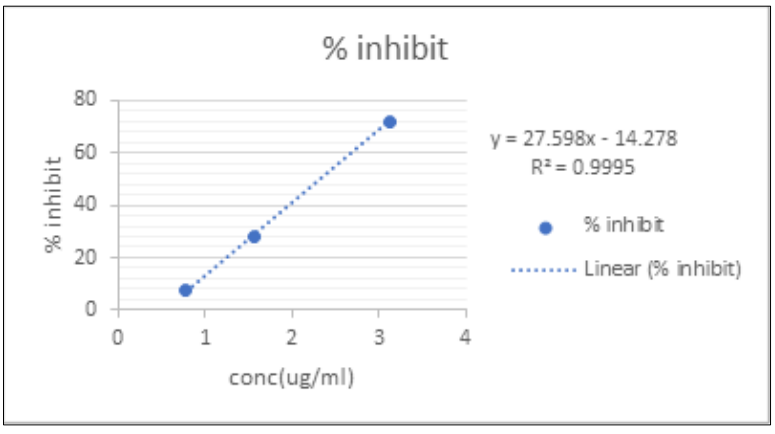
จากกราฟข้างต้นได้แสดง % inhibit โดยมีค่าสมการเส้นตรงคือ y = 5.7747x + 6.3519

ค่า R^2 = 0.9988 ทำการคำนวณหาค่า IC_{50} ได้เท่ากับ 7.55 ug/ml

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Ascorbic acid โดยวิธี ABTS

ตารางที่ 32 ค่า % inhibition ของ Ascorbic acid ด้วยวิธี ABTS

Conc.Ascorbic acid (ug/ml)	% inhibit
50	100
25	100
12.5	100
6.25	100
3.125	72.23276
1.56	27.9728
0.781	7.811512
0.3905	-5.31309
0.19525	-9.0291
0.0976	-5.86654
0.0488	-9.74067



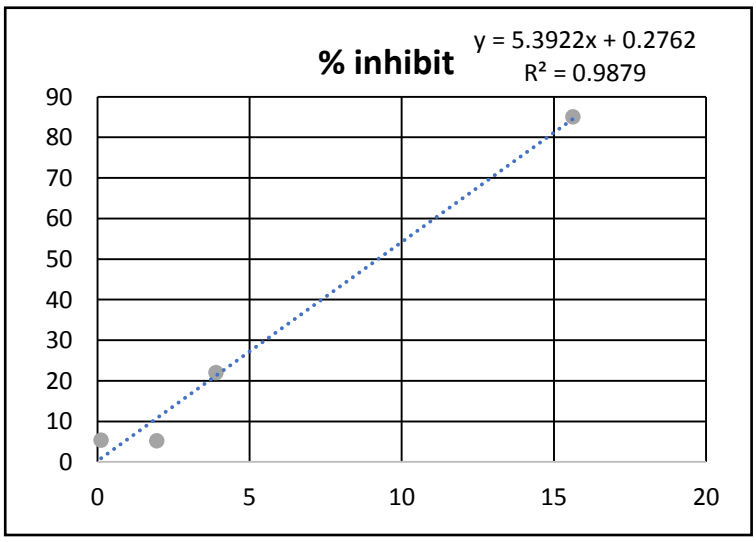
ภาพที่ 20 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของ Ascorbic acid ด้วยวิธี ABTS

จากกราฟข้างต้นได้แสดง% inhibit โดยมีค่าสมการเส้นตรงคือ y = 27.598x - 14.278 ค่าR^2 = 0.9995 ทำการคำนวณหาค่าIC_{50}ได้เท่ากับ 2.32 ug/ml

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Curcuminoids โดยวิธี ABTS

ตารางที่ 33 ค่า % inhibition ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี ABTS

conc	%inhibit
125	99.74811
62.5	99.85606
31.25	99.82008
15.625	85.03059
7.8125	54.80389
3.9062	22.01034
1.9531	5.171299
0.4882	0.969619
0.12207	5.397544
0.061	11.15061
0.0305	14.05947
0.0152	28.0543
0.0076	21.07304
0.0038	22.20427
0.0019	26.0181



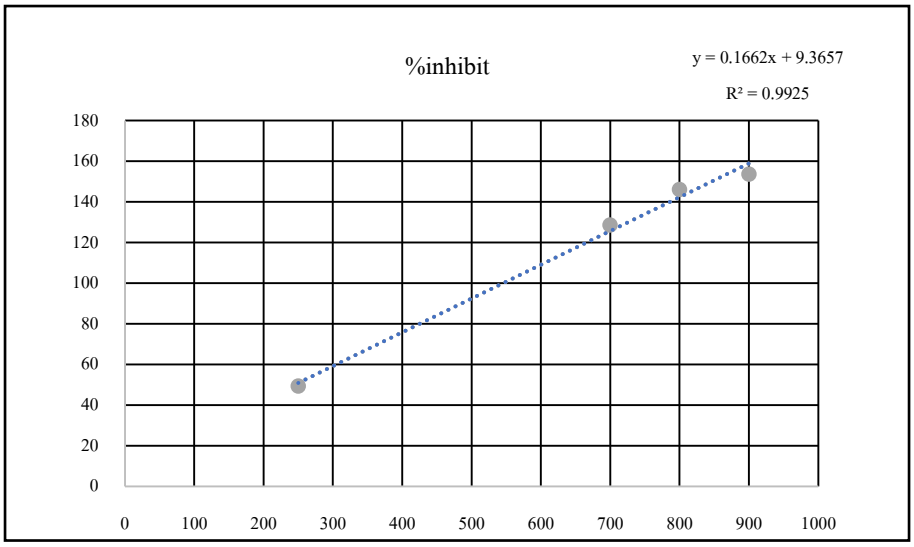
ภาพที่ 21 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Curcuminoids ด้วยวิธี ABTS

จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับ % inhibit ได้ค่า IC_{50} = 9.2214

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงว่านนางคำโดยวิธี ABTS

ตารางที่ 34 ค่า % inhibition ของผงว่านนางคำด้วยวิธี ABTS

conc.	%inhibit
2000	156.2665
1750	156.7425
1500	154.4157
1000	148.9159
900	153.7282
800	146.1132
700	128.5563
600	79.74617
500	73.03014
250	49.44474
125	54.25701
62.5	49.97356
31.25	43.41618
15.625	41.45955
7.8125	37.70492



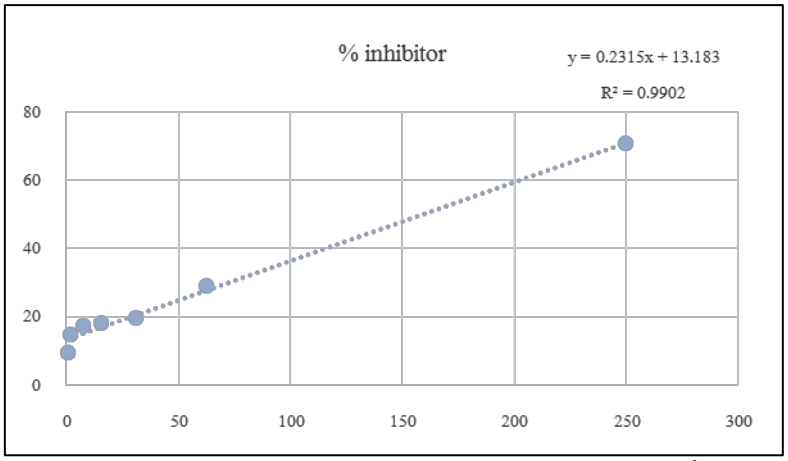
ภาพที่ 22 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของว่านนางคำด้วยวิธี ABTS

จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของผงว่านนางคำกับ % inhibit ได้ค่า IC $_{50}$ = 244.4904 และมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ IC_{50} ของสารอ้างอิง Trolox, vitamin C และสารมาตรฐาน Curcuminoids ได้เท่ากับ 7.55 µg/mL, 2.32 µg/mL และ 9.22 µg/mL ตามลำดับ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงขมิ้นชันโดยวิธี ABTS

ตารางที่ 35 ค่า % inhibition ของผงขมิ้นชันด้วยวิธี ABTS

conc	%inhibit
900	100.6424
800	99.85724
700	99.91078
600	99.57173
500	92.89793
250	70.77088
125	46.48465
62.5	28.71163
31.25	19.4147
15.625	18.005
7.8125	17.202
3.90625	8.88816
1.9531	14.46376
0.9765	9.380125



ภาพที่ 23 กราฟแสดงค่าระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นของผงขมิ้นชันด้วยวิธี ABTS

จากสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของผงขมิ้นชันกับ % inhibit ได้ค่า IC $_{50}$ = 159.0367

4. Validation Method

4.1 ความจำเพาะ (Specificity)

ตารางที่ 36 ผลการทดสอบ Specificity ของสารมาตรฐาน Curcuminoids

ความเข้มข้น Curcuminoids (ug/mL)	Abs	Average
2.5	0.344	0.344±0.0000
	0.344	
	0.344	
4	0.597	0.598±0.0006
	0.598	
	0.598	
5	0.686	0.681±0.0050
	0.676	
	0.680	

ตารางที่ 37 ผลการทดสอบ Specificity ของแป้งสาคู

ความเข้มข้นแป้งสาคู (ug/mL)	Abs	Average
50	-0.001	-0.001±0.0013
	-0.002	
	-0.001	
100	-0.004	-0.004±0.0037
	-0.004	
	-0.003	
200	-0.003	-0.003±0.0000
	-0.003	
	-0.003	

ตารางที่ 38 ผลการทดสอบ Specificity ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ผสมแป้งสาคู

ความเข้มข้น Curcuminoids (ug/mL)	Abs	Average	% Recovery
2.5	0.364	0.366±0.0015	93.9
	0.366		
	0.367		
4	0.711	0.712±0.0051	84
	0.708		
	0.718		
5	0.824	0.827±0.003	82.3
	0.827		
	0.830		

อภิปรายผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบ Specificity ดังข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารที่นำมาใช้ในการทดลองผ่านตามเกณฑ์ที่ยอมรับร้อยละการคืนกลับตาม AOAC (2002) ใช้ในการยืนยันว่าในการทดสอบนี้ไม่มีการปนเปื้อนของสารมาตราฐาน Curcuminiods และแป้งสาคู แสดงให้เห็นว่าไม่มีการปนเปื้อนหรือมีสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในการวิเคราะห์ในครั้งนี้

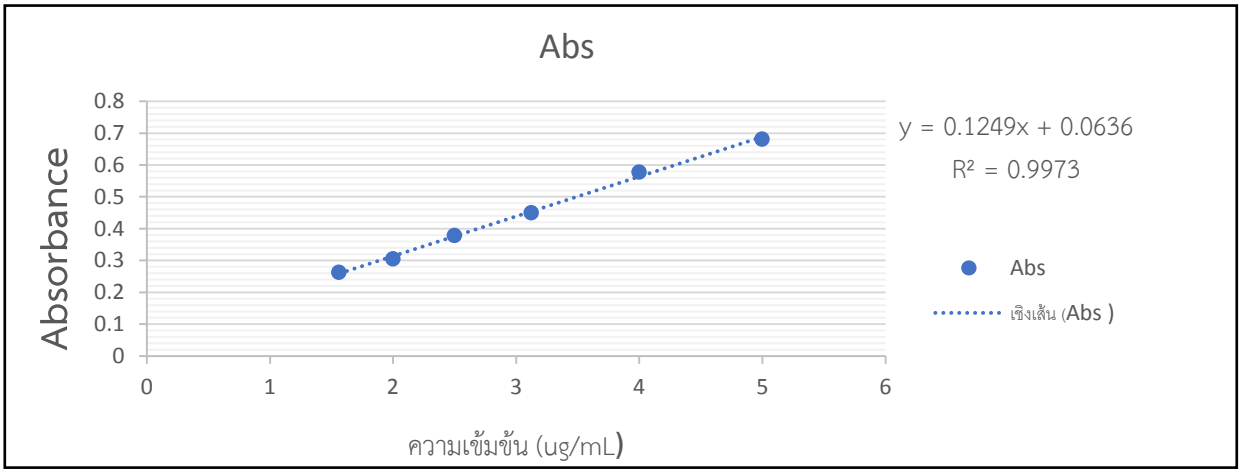
โดยวิธีการทดสอบจะทำการเตรียม Spiked sample ด้วยการเติมสารมาตรฐาน curcuminoids ลงใน Sample blank ความเข้มข้น 2.5, 4, 5 µg/mL นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer เปรียบเทียบ Absorbance ของ Sample blank และ Spiked sample สรุปผลการทดสอบ Specificity ผ่านตามเกณฑ์ที่ยอมรับร้อยละการคืนกลับตาม AOAC (2002)

4.2 ความเป็นเส้นตรง (Leanerity)

ตารางที่ 39 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง (Leanerity)

ความเข้มข้น (ug/mL)	Abs	Average
1.5625	0.265	0.263±0.0015
	0.262	
	0.263	
2	0.305	0.305±0.001
	0.304	
	0.306	
2.5	0.378	0.378±0.001
	0.377	
	0.379	
3.125	0.450	0.450±0.0006
	0.450	

	0.449	
4	0.597	0.597±0.0006
	0.598	
	0.597	
5	0.680	0.681±0.0032
	0.679	
	0.685	



อภิปรายผลการทดสอบ

จากการหาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ของสารัวอย่าง curcuminoids โดยใช้เครื่อง UV-visible spectrophotometer พบว่าความเข้มข้นในช่วง 1.5 – 5 จะมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับค่าการดูดกลืนแสงโดยพิจารณาจากค่า R^2 พบว่าได้สมการความสัมพันธ์ คือ y=0.1249x+0.0636 และมีค่า R=0.9973 สรุปผลการทดสอบ Leanerity ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมาตราฐานกำหนดว่าจะต้องมี Correlation coefficient ≥0.995 บ่งชี้ว่าวิธีวิเคราะห์มีความมแม่นยำ ผลที่ออกมาสามารถเชื่อถือได้

4.3 ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation)

Curcuminoids ความเข้มข้น 1.5 ug/mL

ตารางที่ 40 ผลการศึกษาขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation)

ครั้งที่	ค่า Absorbance
1	0.231
2	0.231
3	0.232
4	0.232
5	0.233
6	0.233
7	0.233

8	0.234
9	0.233
10	0.234

Limit of Quantitation = 10 σ / S

= 10 (0.001075) / 0.001

= 10.75

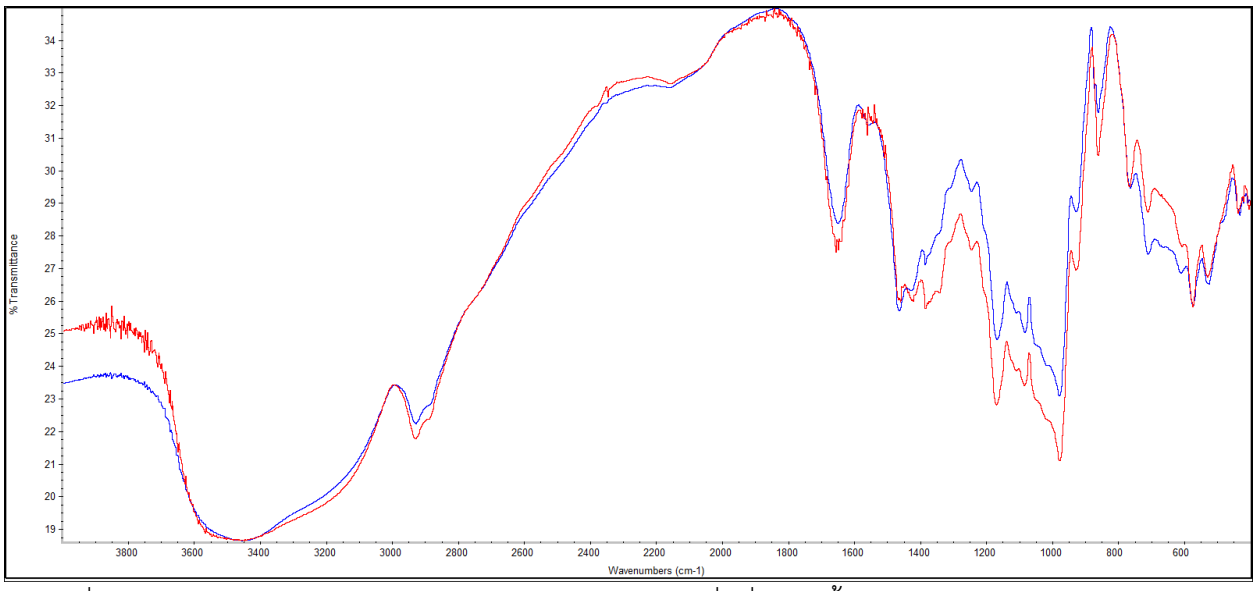
อภิปรายผลการทดสอบ

จากการทดสอบขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation) ของสารมาตรฐาน Curcuminoids ความเข้มข้น 1.5 ug/mL ซ้ำ 10 ครั้งได้ผลแสดงออกมาสม่ำเสมออยู่ในช่วง 0.231 ถึง 0.234 จากนั้นจึงนำผลที่ได้มาคำนวณ Limit of Quantitation ตามสมการได้เท่ากับ 10.75 mg/ml

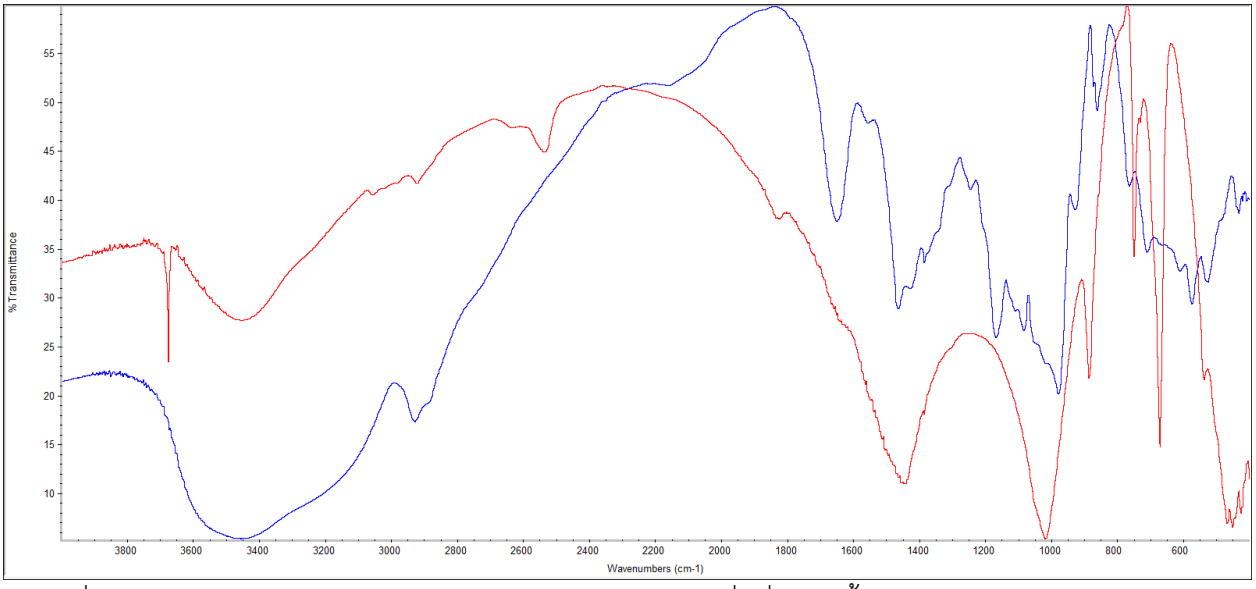
5. ประเมินตำรับ

5.1 ทดสอบความเข้ากันของตำรับด้วย Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FTIR

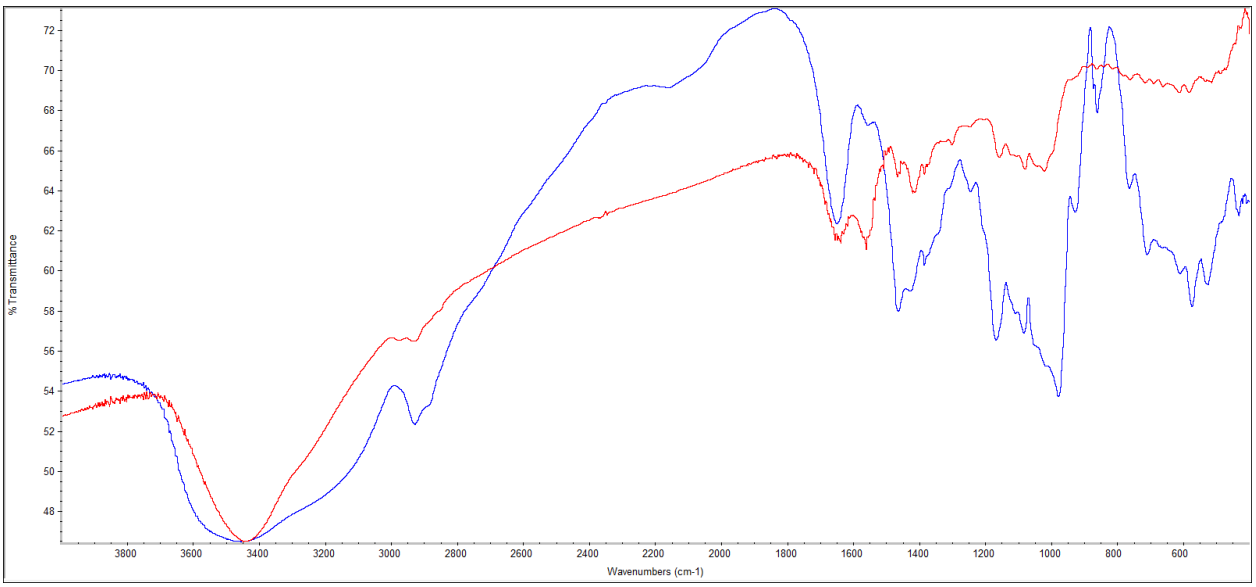
จากการศึกษาอินฟราเรดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (FT-IR) ของตำรับที่ดีที่สุดเทียบกับส่วนประกอบในตำรับ ได้แก่ ว่านนางคำ แป้งสาคู talcum ตามลำดับที่ความถี่ (wave number) ตั้งแต่ 4000 – 400 cm^{-1} ได้แสดง IR spectrum ดังรูปที่ 24-27



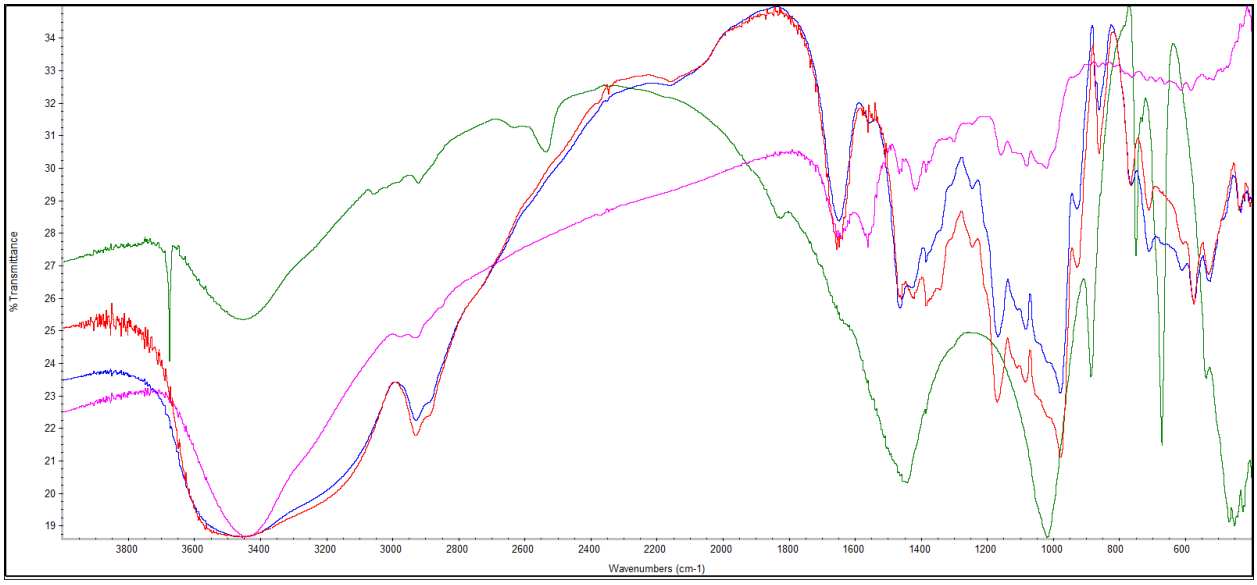
รูปที่ 24 IR spectrum ของแป้งสาคู (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน)



รูปที่ 25 IR spectrum ของแป้งทัลคัม (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน)



รูปที่ 26 IR spectrum ของว่านนางคำ (สีแดง) เทียบกับตำรับที่ดีที่สุด (สีน้ำเงิน)



รูปที่ 27 IR spectrum รวมพีคของสารตัวอย่างตำรับแป้งสาคูที่ดีที่สุด(สีน้ำเงิน) เทียบกับทัลคัม(สีเขียว) ว่านนางคำ(สีชมพู) และแป้งสาคู(สีแดง)

อภิปรายผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบ Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FTIR สามารถนำพีคมาวิเคราะห์หมู่ฟังชั่นของสารได้เป็นดังตารางด้านล่างนี้

ตารางที่ 41 ตารางแสดงหมู่ฟังค์ชั่นของสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบ FTIR

	Functional groups	Wave number literature	Talcum	แป้งสาคู	ตำรับที่ดีที่สุด	ว่านนางคำ
1	O - H stretchin	3600-3300	-	3540	3540	3540
2	C - H stretching	2931	-	2900	2900	-
3	Carboxylic acid	1680	-	1680	1680	-
4	CH_2 symmetric deformation	1458	1450	1450	1450	1450
5	CH_2 symmetric bending	1415	-	1415	1415	1415
6	C – O – C asymmetric stretching	1149	-	1149	1149	1149
7	C – O stretching	1200 - 800	-	1082	1082	1082
8	C – O – C ring vibration of carbohydrate	920, 856, 758	-	920, 856, 758	920, 856, 758	-

จากการทดสอบพบว่าสารทั้ง 3 ตัวในตำรับคือตำรับที่ดีที่สุด แป้งสาคู ว่านนางคำ ได้ปรากฏการดูดกลืนของ O - H stretching, c – o bending associated with OH group, CH_2 symmetric deformation, CH_2 symmetric bending, C – H symmetric bending, Carboxylic acid และ C - O stretching ที่ตำแหน่งเลขคลื่นในช่วง 3540 cm^{-1}, 1680 cm^{-1}, 1450 cm^{-1}, 1350 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1082 และIR spectrum ของแป้งสาคูเทียบกับตำรับที่ดีที่สุดได้ปรากฏการดูดกลืนตรงกัน และพบว่าตำแหน่งของ spectrum ของตำรับที่ประกอบด้วยแป้งสาคูและว่านนางคำไม่ได้มีความแตกต่างการ spectrum ของสารเดี่ยวรวมถึงไม่เกิดตำแหน่งของ peak ใหม่ และตำแหน่งของ peak ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จึงคาดคะเนได้ว่า สูตรตำรับมีความเข้ากันไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารจนเกิด functional group ใหม่ โดย functional group พบในแป้งสาคูสอดคล้องกับการศึกษาของ Mohd Cairul Iqbal Mohd Amin และคณะเรื่อง Optimization of Reaction Conditions for Carboxymethylated Sago Starch[25] หมู่ฟังก์ชันที่พบได้แก่ CH_2 symmetrical band, C - O stretching in C - O - C and C - O - H in the glycosidic ring O - H stretching ไม่เห็น peak ว่านนางคำใน peak รวมดังรูปที่ 27 เนื่องจากในตำรับใส่ว่านนางคำในอัตราส่วนที่น้อยมาก มีการใส่ลงไปแค่ 0.432% w/w

4.2 ทดสอบคุณสมบัติการไหล (Flowability) ของตำรับจากค่า Angle of repose

สูตรตำรับที่ 1

ครั้งที่	h (cm)	r (cm)	tan θ	θ	flowability
1	1.5	4.75	0.316	17.537	good
2	1.5	4.75	0.316	17.537	good
3	1.5	4.76	0.315	17.484	good

จากการศึกษาสมบัติการไหลของตำรับ ที่แสดงในตารางสูตรตำรับที่ 1 พบว่าค่า angle of repose ของตำรับอยู่ที่ 17.537, 17.537, 17.484 ตามลำดับ พบว่ามีคุณสมบัติการไหลที่ดี บ่งชี้ว่าตำรับที่ 1 มีการกระจายตัวของผงแป้งได้ดีเมื่อทาลงบนผิว และสามารถเกลี่ยกระจายตัวได้ง่าย

สูตรตำรับที่ 2

ครั้งที่	h (cm)	r (cm)	tan θ	θ	flowability
1	1.7	4.35	0.391	21.355	Fair to possible
2	1.7	4.35	0.391	21.355	Fair to possible
3	1.7	4.33	0.393	21.455	Fair to possible

การศึกษาสมบัติการไหลของตำรับ ที่แสดงในตารางสูตรตำรับที่ 2 พบว่าค่า angle of repose ของตำรับอยู่ที่ 21.355, 21.355, 21.455 ตามลำดับ พบว่ามีคุณสมบัติการไหลที่พอจะสามารถไหลได้ บ่งชี้ว่าตำรับที่ 2 มีการกระจายตัวของผงแป้งไม่ดีเท่าตำรับที่ 1 เมื่อปรับสัดส่วนของแป้งสาคูให้ลดลงจากในตำรับที่ 1

สูตรตำรับที่ 3

ครั้งที่	h (cm)	r (cm)	tan θ	θ	flowability
1	2	4.15	0.482	25.734	poor
2	2	4.13	0.485	25.734	poor
3	2	4.15	0.482	25.734	poor

จากการศึกษาสมบัติการไหลของตำรับ ที่แสดงในตารางสูตรตำรับที่ 3 พบว่าค่า angle of repose ของตำรับอยู่ที่ 25.734, 25.734, 25.734 ตามลำดับ พบว่ามีคุณสมบัติการไหลที่ไม่ดี บ่งชี้ว่าแป้งไม่แผ่กระจายตัวเมื่อทาลงบนผิว หากจะเกลี่ยให้มีความสม่ำเสมอลงบนผิวหน้าจะทาได้ยากกว่าตำรับที่ 1 ที่มีการแผ่กระจายตัวดีที่สุดจากทั้งหมด 3 ตำรับ

4.4 การทดสอบหาความหนาแน่นของตำรับ (density) โดยวิธี Gradulated cylinder

ตำรับที่ 1

ครั้งที่	น้ำหนักผงแป้ง 50 ml (g)	Bulk volume (ml)	Tapped volume (ml)	True volume (ml)	Bulk density (g/ml)	Tapped density (g/ml)	True density (g/ml)	% compress	% porosity
1	39.57	46	42	32	0.860	0.94	1.237	8.511	30.3
2	39.68	46	42	32	0.863	0.94	1.24	8.191	30.3
3	40.67	45	41	33	0.904	0.99	1.232	8.687	26.7

ตำรับที่ 2

ครั้งที่	น้ำหนักผงแป้ง 50 ml (g)	Bulk volume (ml)	Tapped volume (ml)	True volume (ml)	Bulk density (g/ml)	Tapped density (g/ml)	True density (g/ml)	% compress	% porosity
1	39.02	45	43	31	0.867	0.907	1.259	4.410	31.1
2	39.82	45	43	31	0.885	0.926	1.285	4.428	31.1
3	39.44	45	43	32	0.876	0.917	1.233	4.471	28.9

ตำรับที่ 3

ครั้งที่	น้ำหนักผงแป้ง 50 ml (g)	Bulk volume (ml)	Tapped volume (ml)	True volume (ml)	Bulk density (g/ml)	Tapped density (g/ml)	True density (g/ml)	% compress	% porosity
1	41.76	46	41	32	0.908	1.019	1.305	10.893	30.4
2	37.96	46	43	33	0.825	0.883	1.150	6.569	28.3
3	38.745	46	42	33	0.842	0.923	1.174	8.776	28.3

อภิปรายผลการทดสอบ

สมบัติการไหลของผงยามีความสำคัญต่อกระบวนการผลิตเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความสม่ำเสมอของตำรับในการเตรียมผลิตภัณฑ์ในแต่ละหน่วย โดยจากผลการทดสอบได้ทำการประเมิน 2 วิธีคือ (1) Angle of repose และ (2) compressibility index เพื่อประสิทธิภาพการไหลพบว่าตำรับที่ 1 ที่ประกอบด้วยสูตรตำรับที่ประกอบด้วยแป้งสาคู 80% w/w calcium carbonate 1.0% w/w Titanium dioxide 2.2% w/w ว่านนางคำ 0.432% w/w มีการไหลดีที่สุด ส่วนในตำรับที่ 2 และ 3 มีประสิทธิภาพในการไหลลดลงโดยแตกต่างกันอย่างชัดเจน เพราะได้ลดลงสัดส่วนของแป้งสาคูลงเป็นเท่าตัว ทำให้ถูกแทนที่โดยสารอื่น จึงเกิดการไหลที่ลดลงตามมา

5.5 การทดสอบความชื้นของผลิตภัณฑ์ (Moisture content)

ตารางที่ 42 ตารางแสดงผลการทดสอบความชื้นของตำรับแป้งสาคูสูตรตำรับที่ 1 เปรียบเทียบกับตำรับที่ 2 และตำรับที่ 3

ตำรับแป้งสาคูที่ 1	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	9.0
	2	8.49
	3	8.97
ตำรับแป้งสาคูที่ 2	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	10.96
	2	10.85
	3	11.09
ตำรับแป้งสาคูที่ 3	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	10.09
	2	9.86
	3	10.06

ตารางที่ 43 ตารางแสดงผลการทดสอบความชื้นของตำรับแป้งทัลคัมสูตรตำรับที่ 1 เปรียบเทียบกับตำรับที่ 2 และตำรับที่ 3

ตำรับแป้งทัลคัมที่ 1	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	10.40
	2	10.30
	3	10.40
ตำรับแป้งทัลคัมที่ 2	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	11.40
	2	11.0
	3	12.06
ตำรับแป้งทัลคัมที่ 3	**ครั้งที่**	**Moisture (% L)**
	1	13.0
	2	13.86
	3	13.19

อภิปรายผลการทดสอบ

ปริมาณความชื้นในแป้งมีผลโดยตรงต่อน้ำหนัก คุณภาพของผลิตภัณฑ์ และการเก็บรักษา เพราะยิ่งแป้งดูดความชื้นสูงก็อาจจะทำให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และเชื้อราตามมาได้ ทั้งยังมีผลต่อความคงของ curcuminoid ที่มีฤทธิ์ antioxidant จึงต้องทำการตรวจวัดความชื้นในแต่ละตำรับเพื่อหาตำรับแป้งที่มีการดูดความชื้นได้ต่ำสุด โดยจะทำการทดสอบตำรับแป้งสาคูที่1-3 มาเปรียบเทียบกับตำรับแป้งทัลคัมที่1-3 ผลการทดสอบพบว่าสูตรตำรับแป้งสาคูตำรับที่ 1 มีความชื้นในตำรับต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรตำรับแป้งสาคูที่ 2-3 และตำรับแป้งทัลคัม แสดงให้เห็นว่าแป้งทัลคัมสามารถดูดความชื้นในอากาศได้มากกว่าแป้งสาคู ส่วนสาเหตุที่สูตรตำรับที่ 2-3 ของทั้งตำรับแป้งสาคูและแป้งทัลคัมมีปริมาณความชื้นสูงกว่าตำรับที่ 1 นั้นเกิดได้จากปริมาณของ calcium carbonate ในสัดส่วนที่สูงกว่า เพราะ calcium carbonate มีคุณสมบัติดูดความชื้นได้ดี เมื่อดูดความชื้นในอากาศเข้าไปจึงเกิดทำให้ตำรับแป้งมีปริมาณความชื้นสูงตามมา

5.6 การทดสอบการควบคุมความมัน (Oil control)

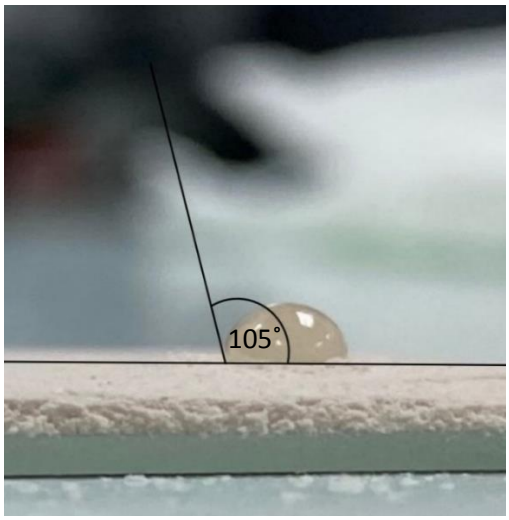
ตารางที่ 44 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 1

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.6	16.42
2	1	0.6	16.44
3	1	0.6	16.46

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	0.9	1.15	0.079
2	0.9	1.1	0.077
3	0.9	1.1	0.078



รูปที่ 28 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 1 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

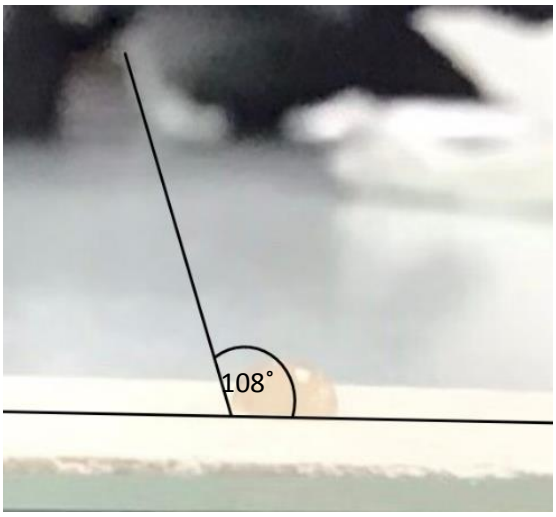
ตารางที่ 45 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 2

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.6	13.38
2	1	0.6	13.22
3	1	0.6	13.40

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	0.9	1.2	0.064
2	0.9	1.2	0.061
3	0.9	1.2	0.063



รูปที่ 29 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 2 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

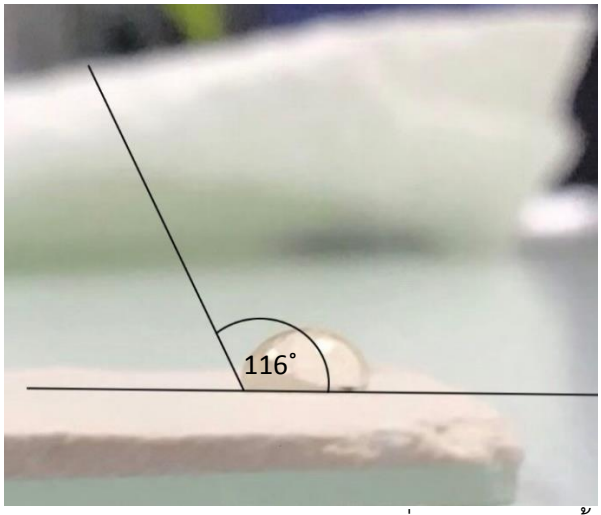
ตารางที่ 46 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งสาคูที่ 3

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.75	19.96
2	1	0.75	20.27
3	1	0.75	20.32

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	1	1.15	0.078
2	1	1.15	0.076
3	1	1.15	0.076



รูปที่ 30 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งสาคูตำรับที่ 3 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

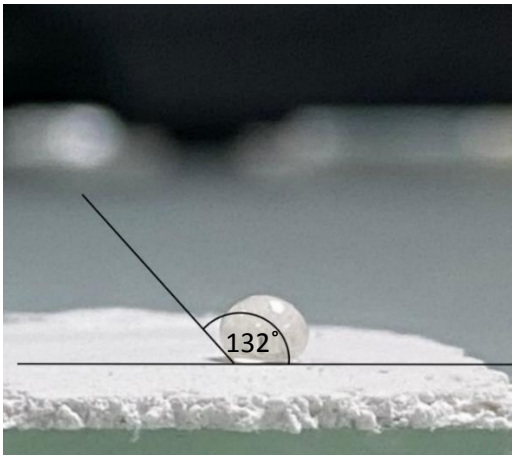
ตารางที่ 47 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 1

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.5	60.00
2	1	0.5	60.02
3	1	0.5	60.00

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	0.8	1.0	0.03
2	0.7	1.0	0.05
3	0.75	1.0	0.03



รูปที่ 31 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 1 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

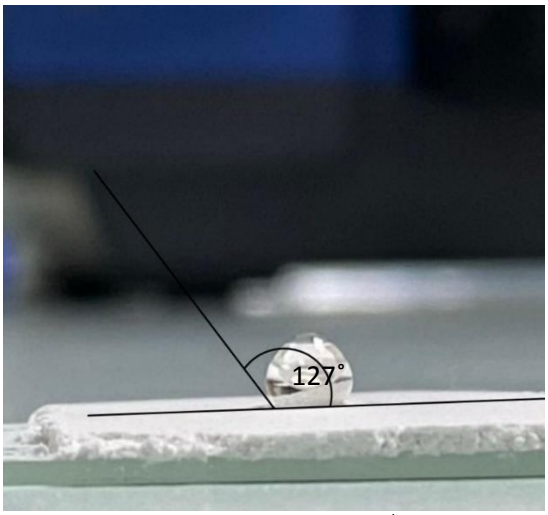
ตารางที่ 48 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 2

ครั้งที่	**ปริมาณ oil (หยด)**	**เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)**	**เวลา (วินาที)**
1	1	0.5	18
2	1	0.5	18
3	1	0.5	19.5

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	**เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที**	**เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที**	**น้ำหนักหยดน้ำมัน**
1	0.85	0.9	0.04
2	0.8	1	0.05
3	0.8	1	0.04



รูปที่ 32 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 2 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

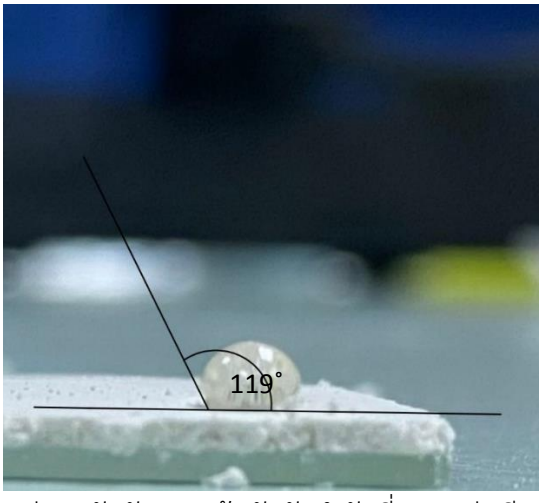
ตารางที่ 49 ผลการทดสอบการควบคุมความมันในตำรับแป้งทัลคัมที่ 3

ครั้งที่	ปริมาณ oil (หยด)	เส้นผ่านศูนย์กลางทันทีที่ซึม (cm)	เวลา (วินาที)
1	1	0.4	9.5
2	1	0.4	10.1
3	1	0.4	10

หมายเหตุ : 1 หยด = 13 µl

ผลหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่เวลา 10 นาที และ 30 นาที

ครั้งที่	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 10 นาที	เส้นผ่านศูนย์กลางที่ 30 นาที	น้ำหนักหยดน้ำมัน
1	0.7	0.9	0.04
2	0.7	1	0.05
3	0.7	1	0.05



รูปที่ 33 จากค่ามุมสัมผัสของแป้งทัลคัมตำรับที่ 3 พบว่าเปียกน้ำมันยาก

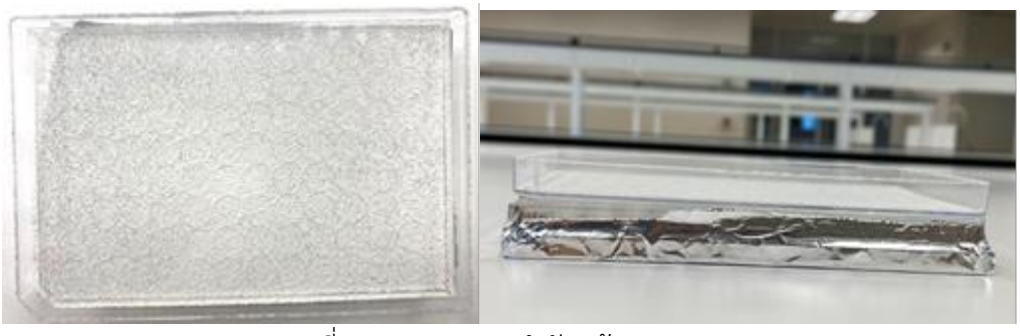
อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมมันของแป้งแสดงถึงความสามารถในการดูดซับความมันของแป้งเมื่อนำมาทาลงบนผิวหน้า ซึ่งจะทำให้ช่วยลดความมันส่วนเกินบนใบหน้าได้ โดยจะทำการทดสอบตำรับแป้งสาคูเปรียบเทียบกับตำรับแป้งทัลคัม ผลการทดสอบพบว่าตำรับแป้งไม่ 2 ชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมความมันได้ดีไม่แตกต่างกัน เพราะมีขนาดอนุภาคที่เล็กเหมือนกันทั้งคู่จึงทำให้เกาะติดผิวได้ดี และสามารถดูดซับความมันได้ดี และเปียกน้ำมันยาก ทำให้แป้งไม่หลุดลอกระหว่างวันจากคราบเหงื่อและความมันส่วนเกินบนใบหน้า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าตำรับแป้งสาคูมีประสิทธิภาพในการควบคุมความมันได้ไม่แตกต่างไปจากตำรับแป้งทัลคัม

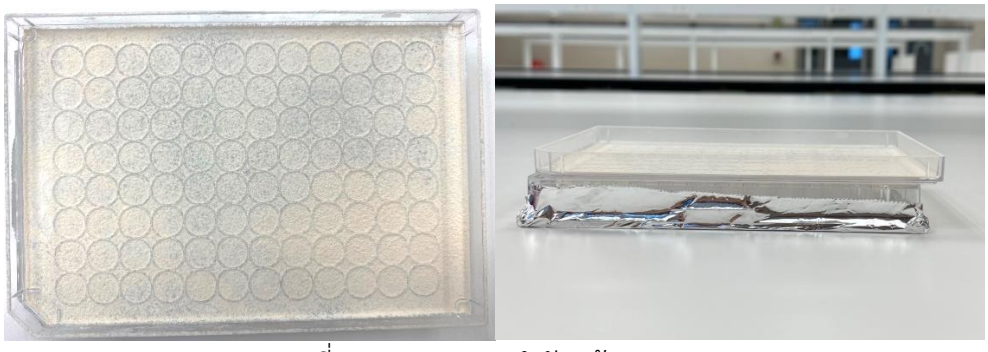
5.7 ทดสอบฤทธิ์ในการปกป้องรังสี UV ในหลอดทดลอง (In *vitro* UV protection test)

ตารางที่ 50 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการปกป้องรังสี UV ในหลอดทดลอง

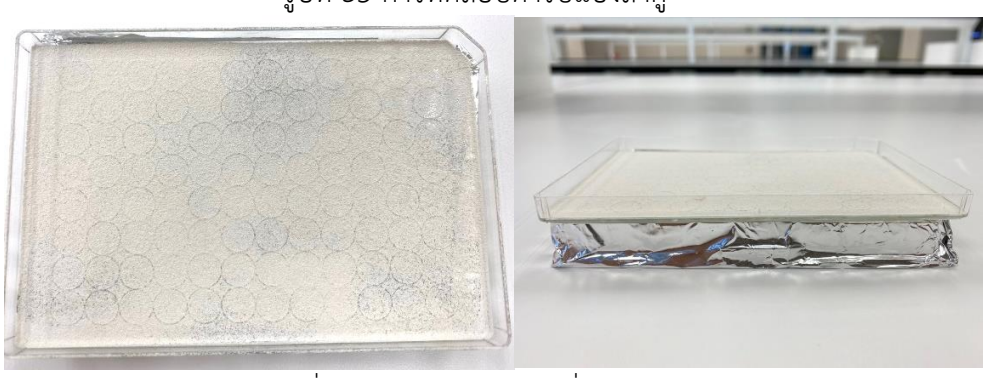
เวลาที่	ทดสอบครั้งที่	ตำรับมาตรฐาน (Talcum)	ตำรับแป้งสาคู	ไม่ใส่แป้ง
0	1	0.797	0.797	0.798
	2	0.796	0.796	0.796
	3	0.796	0.796	0.796
30	1	0.783	0.777	0.744
	2	0.783	0.777	0.744
	3	0.782	0.778	0.743
60	1	0.777	0.776	0.677
	2	0.776	0.776	0.675
	3	0.776	0.775	0.675
90	1	0.751	0.751	0.582
	2	0.751	0.748	0.581
	3	0.750	0.745	0.581
120	1	0.744	0.719	0.462
	2	0.745	0.719	0.461
	3	0.744	0.718	0.461



รูปที่ 34 การทดสอบตำรับแป้งมาตรฐาน



รูปที่ 35 การทดสอบตำรับแป้งสาคู



รูปที่ 36 การทดสอบตำรับที่ไม่ใส่แป้ง

อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบความสามารถในการป้องกันแสงแดดของตำรับแป้งสาคูนั้น ทดสอบเพื่อยืนยันผลว่าตำรับแป้งสาคู สามารถปกป้องผิวหนังหรือส่วนของร่างกายจากรังสีอัลตร้าไวโอเลต (UV) ได้หรือไม่ โดยในการทดสอบนี้มี negative control จากการไม่ครอบแป้งในการทดสอบ แล้วทำการสังเกตการณ์สลายตัวของ ascorbic acid ที่อยู่ในเพลตในเวลาที่ 0, 30, 60, 90, 120 นาที สารละลาย ascorbic acid นั้นมีความไวต่อแสงและมีความคงตัวต่ำจึงได้นำสารละลาย ascorbic acid มาใช้ในการทดสอบในครั้งนี้ ซึ่งเปรียบเสมือนเซลล์ที่อยู่ใต้เซลล์ผิว ส่วนตัวเพลทคือชั้นผิวที่แสงสามารถส่องผ่านไปถึงเซลล์ผิวได้ จากผลการทดสอบพบว่าตำรับแป้งสาคูและตำรับทัลคัมมีการสลายตัวของ ascorbic acid ช้าลงเมื่อเทียบกับ control ที่ไม่ใส่แป้งครอบบนเพลทที่มีสารละลาย ascorbic acid อยู่ ดังนั้นจึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถป้องกันแสงแดดได้ในระดับนึง เนื่องจากในตำรับมีการใส่สาร Titanium dioxide 2.2% w/w ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารกันแดด

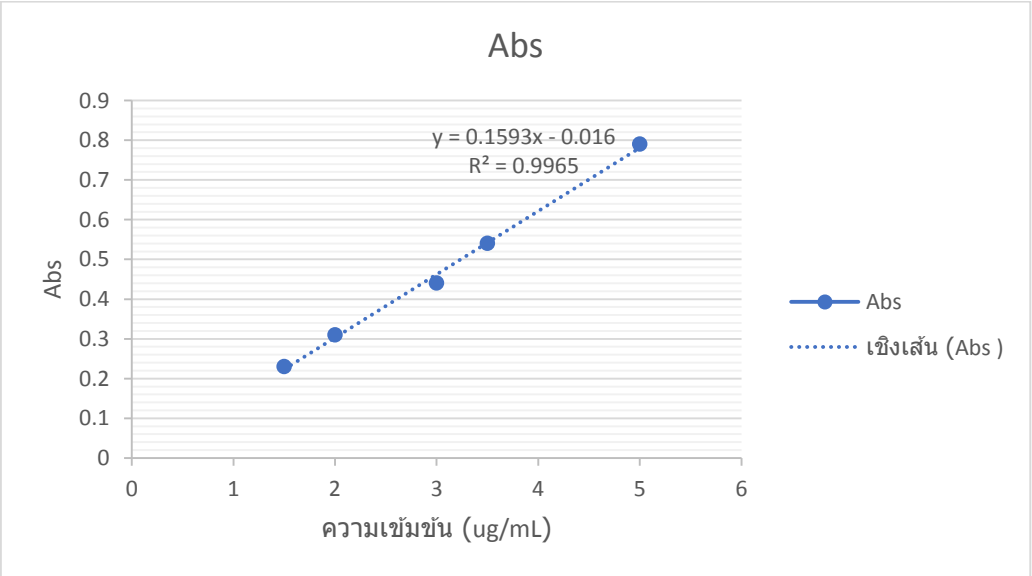
5.8 ทดสอบความคงตัว

5.8.1 ทดสอบความคงตัวโดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometry หาปริมาณ total curcuminoids

5.8.2 ทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง (Accelerated Stability test)

ตารางของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเครื่อง UV spectrophotometry วันที่ 0

ความเข้มข้น	Abs	Average
1.5	0.231	0.231±0.0006
	0.231	
	0.232	
2	0.313	0.313±0.0006
	0.313	
	0.314	
3	0.444	0.444±0.0015
	0.442	
	0.445	
3.5	0.543	0.543±0.0006
	0.542	
	0.543	
4	0.6	0.598±0.0017
	0.597	
	0.597	
5	0.789	0.789±0.002
	0.787	
	0.791	



กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเทคนิค External Standard Method วัดด้วยเครื่อง UV spectrophotometry

ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่าง (ตำรับ)

Weight (g)		
ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
600.0 mg	600.3 mg	600.2 mg

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 1

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.403

  จากสมการ y = 0.1593x - 0.016

  ถ้า y = 0.403 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 2.630 µg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 2.630 µg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 2.630 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 26.30 µg

  ดังนั้น ตำรับ 0.6g มี curcuminoid 26.30 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.0000263/0.6) x 100 = 0.0044

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 2**

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.401

  จากสมการ y = 0.1593x - 0.016

  ถ้า y = 0.401 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 2.618 µg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 2.618 µg /ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 2.618 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 26.18 µg

  ดังนั้น ตำรับ 0.6g มี curcuminoid 26.18 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.00002618/0.6) x 100 = 0.0044

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 3**

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.403

  จากสมการ y = 0.1593x - 0.016

  ถ้า y = 0.403 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 2.630 µg /ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 2.630 µg /ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 2.630 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 26.30 µg

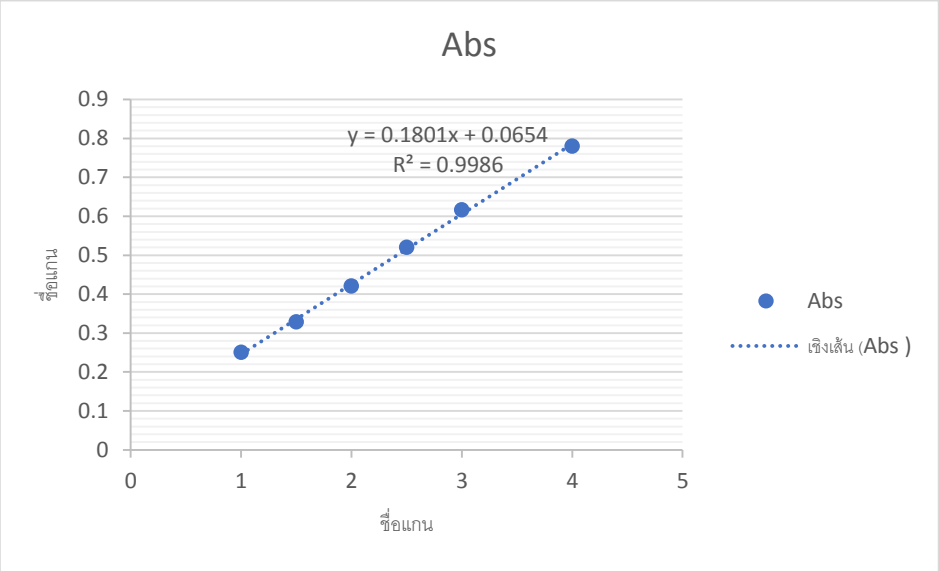
  ดังนั้น ตำรับ 0.6 gมี curcuminoid 26.30 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.0000263/0.6) x 100 = 0.0044

วันที่ 30

ความเข้มข้น	Abs	Average
1	0.249	0.250±0.0023
	0.249	
	0.253	
1.5	0.328	0.328±0.001
	0.329	
	0.327	
2	0.420	0.420±0.0006
	0.419	
	0.420	
2.5	0.519	0.520±0.001
	0.520	
	0.521	
3	0.616	0.616±0.003
	0.619	
	0.613	
4	0.789	0.780±0.002
	0.787	
	0.791	



กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเทคนิค External Standard Method วัดด้วยเครื่อง UV spectrophotometry

ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่าง (ตำรับ)

Weight (g)		
ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
600.2 mg	600.0 mg	600.2 mg

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 1

ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.254

จากสมการ y = 0.1801 - 0.0654

ถ้า y = 0.254 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.773 μg/ml

ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.773 μg/ml

จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.773 μg

สารละลาย 10ml มี curcuminoid 17.73 μg

ดังนั้น ตำรับ 0.6g มี curcuminoid 17.73 μg

จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.00001773/0.6) x 100 = 0.0030

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 2**

ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.250

จากสมการ y = 0.1801 - 0.0654

ถ้า y = 0.254 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.7512 μg/ml

ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.7512 μg/ml

จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.7512 μg

สารละลาย 10ml มี curcuminoid 17.512 μg

ดังนั้น ตำรับ 0.6g มี curcuminoid 17.512 μg

จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.000017512/0.6) x 100 = 0.0029

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 3**

ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.258

จากสมการ y = 0.1801 - 0.0654

ถ้า y = 0.258 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.7957 μg/ml

ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.7957 μg/ml

จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.7957 μg

สารละลาย 10ml มี curcuminoid 17.957 μg

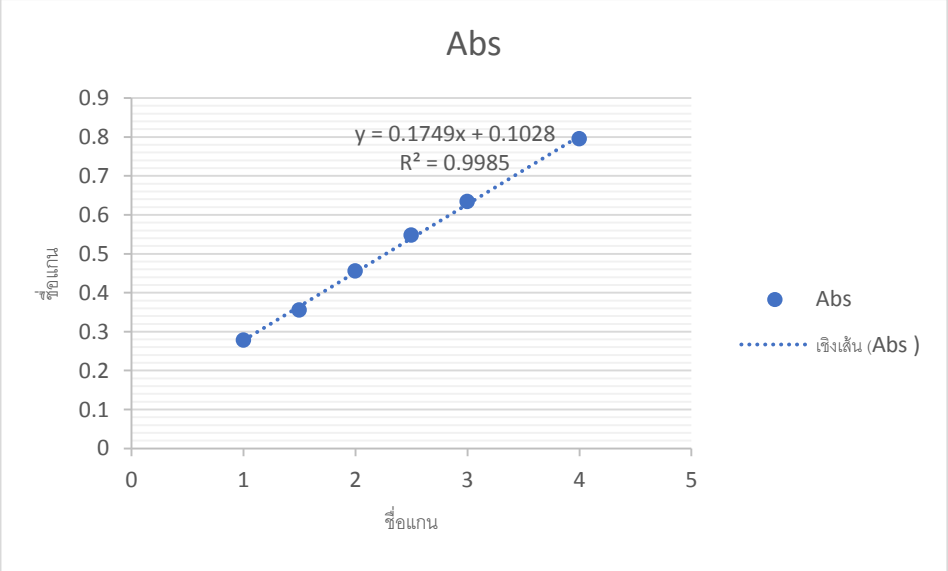
ดังนั้น ตำรับ g0.6 มี curcuminoid 17.957 μg

จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.000017957/0.6) x 100 = 0.0030

วันที่ 60

ความเข้มข้น	Abs	Average
1	0.276	0.278±0.0017
	0.279	
	0.279	
1.5	0.356	0.355±0.0012
	0.354	
	0.354	
2	0.456	0.456±0.0595
	0.454	
	0.558	
2.5	0.548	0.548±0.001
	0.547	
	0.549	
3	0.632	0.634±0.002
	0.636	
	0.634	
4	0.794	0.795±0.0012
	0.796	
	0.794	



กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน curcuminoid ด้วยเทคนิค External Standard Method วัดด้วยเครื่อง UV spectrophotometry

ตารางบันทึกน้ำหนักของสารตัวอย่าง (ตำรับ)

Weight (g)		
ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
2000.3 mg	2000.0 mg	2000.1 mg

- คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 1

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.320

  จากสมการ y = 0.1749 + 0.1028

  ถ้า y = 0.320 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.773 µg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.2419µg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.2419 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 12.419 µg

  ดังนั้น ตำรับ g2.0มี curcuminoid 12.419 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.000012419/2.0) x 100 = 0.00062

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 2**

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.325

  จากสมการ y = 0.1749 + 0.1028

  ถ้า y = 0.325 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.270 µg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.2704 µg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.2704 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 12.704 µg

  ดังนั้น ตำรับ g2.0มี curcuminoid 12.704 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

  ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.000012704/2.0) x 100 = 0.000635

- **คำนวณหาปริมาณ curcuminoid ของสารตัวอย่างที่ 3**

  ค่าเฉลี่ย Absorbance ของสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.324

  จากสมการ y = 0.1749 + 0.1028

  ถ้า y = 0.324 ดังนั้น X มีค่าเท่ากับ 1.2647 µg/ml

  ดังนั้น ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ curcuminoid 1.2647 µg/ml

  จาก Stock solution : สารละลาย 1ml มี curcuminoid 1.2647 µg

  สารละลาย 10ml มี curcuminoid 12.647 µg

  ดังนั้น ตำรับ g2.0 มี curcuminoid 12.647 µg

  จาก % content = (ปริมาณที่วิเคราะห์ได้/ปริมาณสารที่ชั่ง) x 100

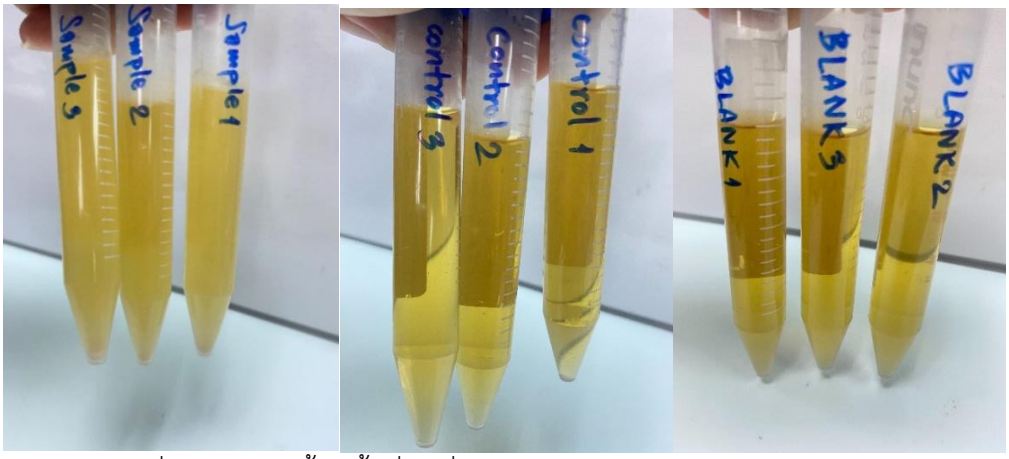
ดังนั้น สารตัวอย่างที่1 มี % content = (0.000012647/2.0) x 100 = 0.000632

ผล moisture balance ณ วันที่ 0	
ครั้งที่	Moisture (% L)
1	10.53
2	10.55
3	10.56
ค่าเฉลี่ย	10.55±0.001
ผล moisture balance ณ วันที่ 30	
ครั้งที่	Moisture (% L)
1	7.01
2	6.55
3	6.20
ค่าเฉลี่ย	6.59±0.4062
ผล moisture balance ณ วันที่ 60	
ครั้งที่	Moisture (% L)
1	5.03
2	4.54
3	4.62
ค่าเฉลี่ย	4.73±0.2629

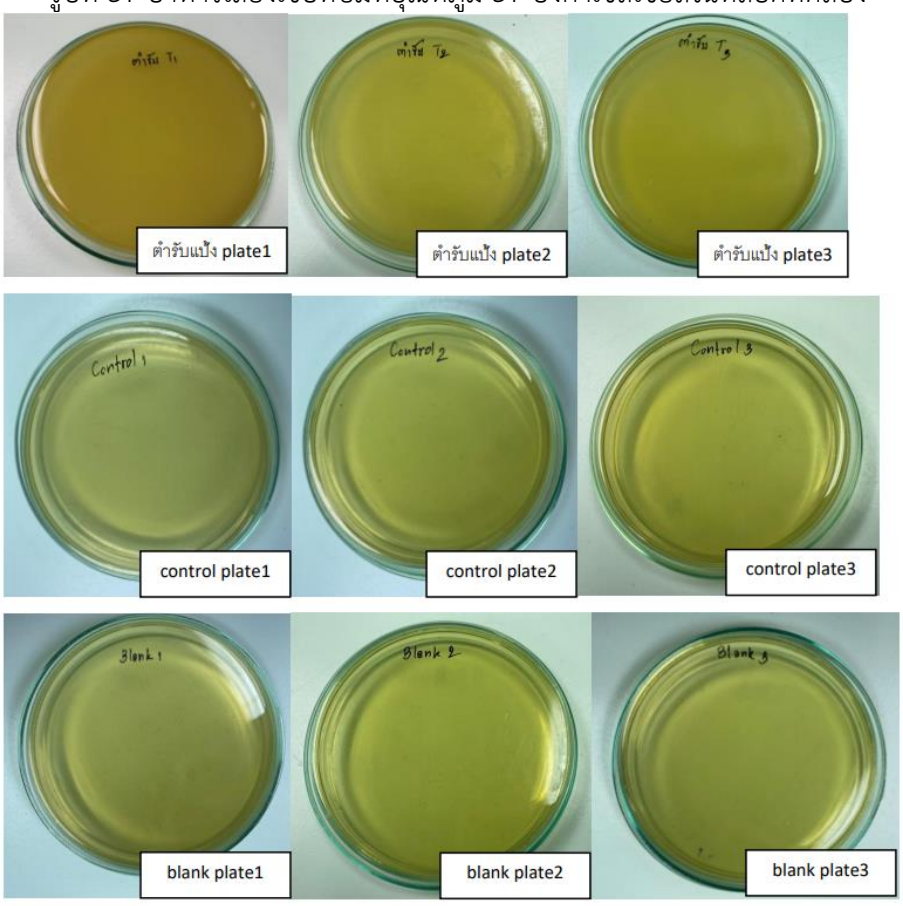
อภิปรายผลการทดสอบ

การทดสอบความคงตัวเป็นกระบวนการพัฒนาและทดสอบคุณสมบัติของตัวผลิตภัณฑ์นั้นๆ ให้คงคุณภาพตลอดอายุการใช้งาน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี ตลอดจนถึงการปนเปื้อนต่างๆ เช่น สี กลิ่น เป็นต้น โดยทำการทดสอบทุกวันที่ 0 30 60 หลังจากเก็บตำรับแป้งเอาไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 45°Cผลการทดสอบพบว่าตำรับแป้งสาคูมีความคงตัวของฤทธิ์ Antioxidant ไม่ถึง 30 วัน โดยในวันที่ 30 พบว่ามี curcuminiods content เหลืออยู่ 68% ส่วนในวันที่ 60 พบว่ามี curcuminiods content เหลืออยู่ 14.4% ส่วนลักษณะทางกายภาพของแป้งยังคงปกติดี ไม่มีกลิ่น หรือสีผิดปกติแปลกไปจากวันแรกที่ทำการทดสอบ ณ วันที่ 0 และมีความชื้นในตำรับแป้งลดลง แสดงว่าตำรับที่เตรียมเสร็จในวันแรกนั้นมีความชื้นอยู่ ถึงจะเป็นความชื้นในระดับที่ยังไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน (ไม่เกินสภาวะความชื้นไมเกินร้อยละ 60 ของความชื้นสัมพัทธ์) แต่ความชื้นก็ส่งผลต่อความคงตัวของตำรับ ทำให้สารสำคัญในว่านางคำลดลงจากการสลายตัวด้วยปฏิกิริยา hydrolysis

5.9 ทดสอบตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (Total aerobic microbial count : TAMC)



รูปที่ 37 อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในหลอดทดลอง



รูปที่ 38 อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วันในเพลท

รายการ	plate	จำนวนโคโลนี (Colony)	ผล
ตำรับแป้งสาคู	1	0	ผ่านเกณฑ์
	2	0	
	3	0	
Control	1	0	ผ่านเกณฑ์
	2	0	
	3	0	
Blank	1	0	ผ่านเกณฑ์
	2	0	
	3	0	

อภิปรายผลการทดสอบ

การวิเคราะห์ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดที่เจริญในตำรับแป้งสาคู เพราะถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผิวกายอย่างแป้งผัดหน้าไม่จำเป็นต้องมีความสะอาดถึงขั้นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ หรือกล่าวได้ว่าตำรับแป้งที่ดีอาจมีจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคปนเปื้อนได้บ้างตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด แต่ก็ควรจะมีในปริมาณที่ต่ำ เพราะการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตำรับอาจก่อให้เกิดผลเสียโดยตรงต่อผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น และสีที่เปลี่ยนแปลงไปของตำรับ ทั้งยังสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ในบางสภาวะ เช่นผู้ใช้อาจมีผิวหนังถลอก เกิดบาดแผล ทำให้เกิดโรคทางผิวหนังตามมาได้ โดยในการทดสอบได้ทำ Negative control เป็นตัวควบคุมผลการทดสอบเพื่อยืนยันว่าอาหารเลี้ยง และสารละลายที่นำมาใช้ในการทดสอบ รวมทั้งอุปกรณ์เพลทต่างๆที่นำมาใช้ในการทดสอบครั้งนี้ปราศจากเชื้อ Negative control ใช้เป็นตัวยืนยันว่าไม่มีปัจจัยที่รบกวนผลที่ได้จากการทดสอบ ซึ่งการทดสอบจะนำเอาอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกับที่ทดสอบตำรับแป้งสาคูมาเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาเดียวกันในหลอดทดลอง หลังจากการทดสอบบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองมีลักษณะสีเหลืองใส ไม่พบความขุ่นใดๆ หลังจากนั้นจึงนำสารที่อยู่ในหลอดทดลองมาเทเพลทเพื่อทำการทดสอบ ทดสอบ spread plate method ต่อ 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C เพื่อดูจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ หลังจากการสิ้นสุดการทดสอบ Negative control (ทั้ง blank และ control) ไม่พบการเติบโตของจุลินทรีย์บนเพลท แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายที่นำมาใช้ในการทดสอบ ดังนั้นหากเกิดการเจริญเติบโตของเชื้อในการทดสอบตำรับแป้งสาคูหลังจากนี้ ตัวเชื้อที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลมาจากตำรับแป้งสาคูอย่างแน่นอน เพราะได้ทำการตัดปัจจัยกวนจากการทำ Negative control แล้ว

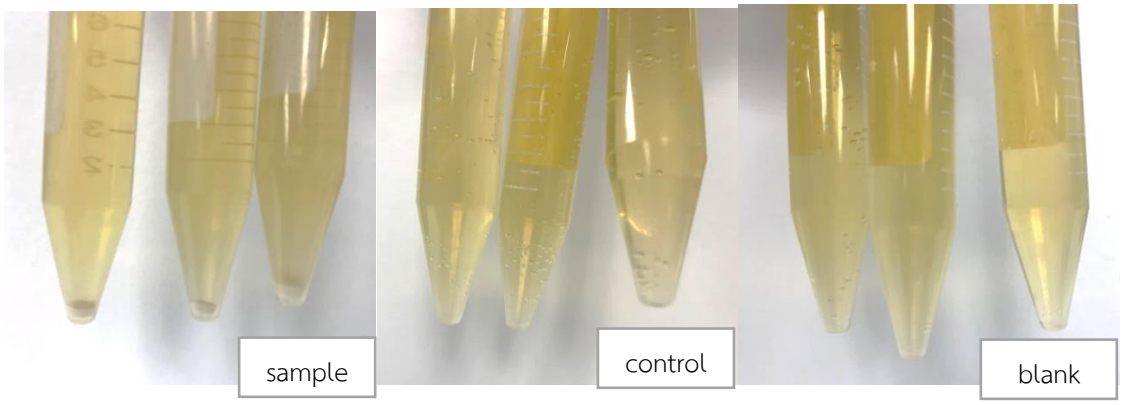
ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในตำรับแป้งสาคูหลังจากบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อภายในหลอดทดลองที่มีลักษณะสีเหลืองใสคงเดิม และซึ่งพบการตกตะกอนของตัวอย่างแป้งสาคูอยู่ก้นหลอดทดลองด้วย จึงต้องทำการทดสอบ spread plate method ต่อเพื่อหาจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ ทำการบ่มในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอีก 7 วัน พบว่าในเพลทตำรับแป้งสาคูจากการทดสอบครั้งที่1 การทดสอบครั้งที่2 และการทดสอบครั้งที่3 ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ จึงผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่ USP กำหนด โดยเกณฑ์ได้ระบุว่าจะต้องมี

Total combined yeast & mold count (TCYMC) ต้องไม่เกิน 10^5 cfu ต่อตัวอย่าง 1 กรัมหรือ 1 cm^3 และต้องไม่พบเชื้อ E. coli และ salmonella spp. ในตัวอย่าง 10 กรัม

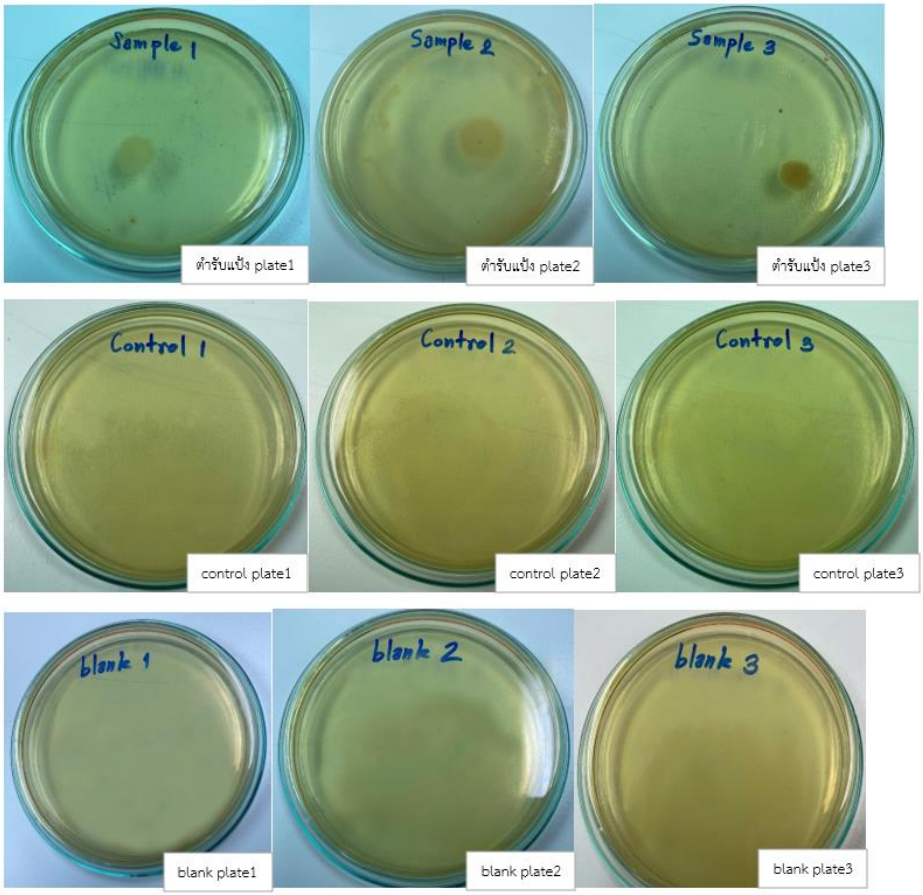
Standard Setting Organization	AHPA	Ph. Eur. Category B	NSF/ANSI	WHO	USP <2023>
Product Category	Herbal supplements (Dried unprocessed herbs)	Herbal medical products for oral use	Products containing non-extracted botanical ingredients	Herbal materials for internal use	Dried or powdered botanicals
Total Aerobic Microbial Count (TAMC)	10^7	10^4	10^7	10^5	10^5
Total Combined Yeast & Mold Count (TCYMC)	10^5	10^2	10^5	10^2	10^3
Bile-tolerant Gram-negative Bacteria	10^4 (total coliforms)	10^2	10^4	10^3 (other than *E. coli*)	10^3
E. coli	Not detected in 1 g	Absence in 1 g	10^2	10 in 1 g	Absence in 10 g
Salmonella spp.	Not detected in 25 g	Absence in 25 g	Not detected in 10 g	Absence in 1 g	Absence in 10 g
S. aureus	NA	NA	Not detected in 10 g	NA	NA
Clostridium spp.	NA	NA	NA	Absence in 1 g	NA
Shigella spp.	NA	NA	NA	Absence in 1 g	NA
Aflatoxin	NA	NA	NA	NA	NA

รูปที่ 39 **Standard setting organization** เกณฑ์มาตรฐานการทดสอบตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดซึ่งเจริญโดยอาศัยออกซิเจน (Total aerobic microbial count : TAMC)

5.10 ทดสอบตรวจหาจำนวนราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด (Total combined yeasts and molds count: TYMC)



ภาพที่ 40 อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในหลอดทดลอง



ภาพที่ 41 อาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันในเพลท

รายการ	plate	จำนวนโคโลนี (Colony)	ผล
ตำรับแป้งสาคู	1	12	ผ่านเกณฑ์
	2	10	
	3	15	
Control	1	0	ผ่านเกณฑ์
	2	0	
	3	0	
Blank	1	0	ผ่านเกณฑ์
	2	0	
	3	0	

อภิปรายผลการทดสอบ

การวิเคราะห์ตรวจหาจำนวนราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบดูการเจริญเติบโตของราในตำรับแป้งสาคู เพราะถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผิวกายอย่างแป้งผัดหน้าไม่จำเป็นต้องมีความสะอาดถึงขั้นปราศจากเชื้อราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด แต่ก็ควรจะมีในปริมาณที่ต่ำตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด เพราะราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมดอาจก่อให้เกิดผลเสียโดยตรงต่อผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น และสีที่เปลี่ยนแปลงไปของตำรับ ทั้งยังสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ในบางสภาวะ เช่นผู้ใช้อาจมีผิวหนังถลอก เกิดบาดแผล เชื้อรากลุ่มนี้ก็สามารถก่อให้เกิดปัญหาตามมาได้ โดยในการศึกษาได้ทำ Negative control เป็นตัวควบคุมผลการทดสอบเพื่อยืนยันว่าอาหารเลี้ยง และสารละลายที่นำมาใช้ในการทดสอบเชื้อปราศจากเชื้อ รวมทั้งอุปกรณ์เพลทต่างๆ ที่นำมาใช้ในการทดสอบครั้งนี้ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ โดยจะนำอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกับที่ใช้ในการทดสอบตำรับแป้งสาคูมาเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาเดียวกันในหลอดทดลอง หลังจากการทดสอบบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองมีลักษณะสีเหลืองใส ไม่พบความขุ่นใดๆ หลังจากนั้นจึงนำสารที่อยู่ในหลอดทดลองมาเทเพลทเพื่อทำการทดสอบ ทดสอบ spread plate method ต่อ 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C เพื่อดูจำนวนโคโลนีของราที่เจริญเติบโต หลังจากการสิ้นสุดการทดสอบ Negative control (ทั้ง blank และ control) ไม่พบการเติบโตของราบนเพลท แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลาย รวมทั้งอุปกรณ์ทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบเลี้ยงเชื้อ

โดยในส่วนของผลการทดสอบตำรับแป้งสาคูหลังจากการทดสอบบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37°C พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อภายในหลอดทดลองที่มีลักษณะสีเหลืองขุ่นเล็กน้อย ซึ่งสังเกตุได้ยากว่าเป็นความขุ่นจากการเจริญเติบโตของเชื้อราหรือเกิดการกระจายตัวของตัวอย่างแป้ง ซึ่งพบการตกตะกอนของตัวอย่างแป้งสาคูอยู่ก้นหลอดทดลองด้วย จึงต้องทำการทดสอบ spread plate method ต่อแล้วทำการบ่มในตู้อบอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอีก 7 วันพบว่าในเพลทตำรับแป้งสาคูจากการทดสอบเพลตครั้งที่1 พบการเจริญเติบโตของรา นับจากตาเปล่าได้ทั้งหมด 12 โคโลนี ส่วนในเพลทตำรับแป้งสาคูจากการทดสอบครั้งที่2 พบการเจริญเติบโตของรา นับจากตาเปล่าได้ทั้งหมด 10 โคโลนี และในเพลทตำรับแป้งสาคูจากการทดสอบครั้งที่3 พบการเจริญเติบโตของรา นับจากตาเปล่าได้ทั้งหมด 15 โคโลนี ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่ USP กำหนดและอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยเกณฑ์ได้ระบุว่าจะต้องมี Total combined yeast & mold count (TCYMC) ต้องไม่เกิน 1000 cfu ต่อตัวอย่าง 1 กรัมหรือ 1 cm^3

สรุปได้ว่าตำรับแป้งสาคูมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ เพราะมีการเจริญเติบโตของเชื้อราขึ้นเพียงเล็กน้อย ยังอยู่ในเกณฑ์ที่เป็นตามข้อกำหนดของ USP จึงมีความเสี่ยงต่ำที่จะเกิดผลเสียต่อผู้บริโภคเมื่อเกิดบาดแผล หรือมีผิวถลอกเกิดขึ้น

Standard Setting Organization	AHPA	Ph. Eur. Category B	NSF/ANSI	WHO	USP <2023>
Product Category	Herbal supplements (Dried unprocessed herbs)	Herbal medical products for oral use	Products containing non-extracted botanical ingredients	Herbal materials for internal use	Dried or powdered botanicals
Total Aerobic Microbial Count (TAMC)	10^7	10^4	10^7	10^5	10^5
Total Combined Yeast & Mold Count (TCYMC)	10^5	10^2	10^3	10^2	10^3
Bile-tolerant Gram-negative Bacteria	10^4 (total coliforms)	10^2	10^4	10^3 (other than *E. coli*)	10^3
E. coli	Not detected in 1 g	Absence in 1 g	10^2	10 in 1 g	Absence in 10 g
Salmonella spp.	Not detected in 25 g	Absence in 25 g	Not detected in 10 g	Absence in 1 g	Absence in 10 g
S. aureus	NA	NA	Not detected in 10 g	NA	NA
Clostridium spp.	NA	NA	NA	Absence in 1 g	NA
Shigella spp.	NA	NA	NA	Absence in 1 g	NA
Aflatoxin	NA	NA	NA	NA	NA

รูปที่ 42 **Standard setting organization** เกณฑ์มาตรฐานการทดสอบตรวจหาจำนวนราเซลล์เดียวและราเส้นใยทั้งหมด (Total combined yeasts and molds count: TYMC)

บทที่ 5
สรุปผลวิจัย

จากการพัฒนาสูตรตำรับแป้งฝุ่นทาหน้าจากแป้งสาคูผสมว่านนางคำ สมบัติทางกายภาพของแป้งสาคู ผลการทดสอบคุณสมบัติแป้งสาคูเปรียบเทียบกับแป้งทัลคัมในด้านต่างๆ พบว่าแป้งสาคูมีประสิทธิภาพการไหลได้ดีกว่าทัลคัม จากการประเมินวิธี Angle of repose และ compressibility index และจากหาขนาดอนุภาคของแป้งสาคูด้วย Sieve method พบว่าแป้งสาคูมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 30.50±0.6934 μm ซึ่งบ่งบอกว่าขนาดเฉลี่ยของผงแป้งสาคูมีความละเอียดมาก และมีขนาดที่สม่ำเสมอกัน ซึ่งความละเอียดของอนุภาคของผงแป้งที่มากก็จะทำให้เนื้อสัมผัสของแป้งมีความลื่นเบา ไหลได้ดี มีการแผ่กระจายตัวได้ดี แป้งอนุภาคขนาดเล็กและมีความละเอียดสูงจะมีประสิทธิภาพในการยึดเกาะผิวหน้าได้ดี ซึ่งความละเอียดนี้ผ่านตามมาตรฐานกำหนด จากการประเมินการเปียกน้ำพบว่าแป้งสาคูและทัลคัมมีคุณสมบัติเปียกน้ำได้ยากเหมือนกัน ซึ่งแป้งจะเกิดการจับตัวเป็นก้อนได้ยากเมื่อนำมาทาลงบนผิว แป้งทั้ง 2 ชนิดนี้จึงมีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นแป้งผัดหน้า ไม่ทำให้แป้งลบเลือนเมื่อมีเหงื่อออกในระหว่างวัน ส่วนในการทดสอบการควบคุมมันพบว่าแป้งทั้ง 2 ชนิดนี้เปียกน้ำมันได้ยากเหมือนกัน และสามารถดูดซับความมันบนผิวหน้าได้ดีคล้ายๆกัน ดังนั้นแป้งสาคูมีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นแป้งผัดหน้าแทนการใช้ทัลคัมได้

จากการศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ของต้านอนุมูลอิสระของว่านนางคำในตำรับแป้งสาคูได้ทำการใส่ว่านนางคำที่มีสารสำคัญคือ Curcuminoids ซึ่งมีฤทธิ์ Antioxidant และจากการทดสอบด้วยเครื่อง HPLC ในว่านนางคำพบว่ามี % content เท่ากับ 0.5043±0.0625 ได้ทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC และ HTLC เปรียบเทียบกับสารมาตราฐาน Curcuminoids และขมิ้นชันพบว่าสารที่ตรวจพบในว่านนางคำนั้นคือ curcumin, desmethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin โดยอ้างอิงจากการศึกษาของ S Yodkeeree พบว่า BDMC มีฤทธิ์ antioxidation มากที่สุด รองลงมาเป็น DMC น้อยสุดคือ Curcumin ซึ่ง BDMC พบในว่านนางคำมากกว่าสารที่นำมาเปรียบเทียบฤทธิ์อย่างขมิ้นชัน จึงได้นำว่านนางคำมาเป็นส่วนประกอบในตำรับ ทำหน้าที่เป็น Antioxidant

ผลการทดลองพบว่าสูตรตำรับที่ประกอบด้วยแป้งสาคู 80% w/w calcium carbonate 1.0% w/w Titanium dioxide 2.2% w/w ว่านนางคำ 0.432% w/w เป็นตำรับแป้งที่ดีที่สุดจากการศึกษาคุณสมบัติการไหล ความชื้น การควบคุมความมัน โดยจากการศึกษา IR spectrum พบว่าสูตรตำรับแป้งสาคูมีความเข้ากันได้ดี มีฤทธิ์ป้องกันแสงแดดได้ในระดับนึงจากการทดสอบการป้องกันแสง UV และเมื่อทำการทดสอบในสภาวะเร่งพบว่าตำรับมีความคงตัวของฤทธิ์ Antioxidant ไม่ถึง 30 วัน โดยในวันที่ 30 พบว่ามี curcuminoids เหลืออยู่ 68% ส่วนในวันที่ 60 พบว่ามี curcuminoids เหลืออยู่ 14.4% ซึ่งในตำรับแป้งสาคูไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในตำรับ แต่พบว่ามีการเจริญเติบโตของราเซลล์เดียวและราเส้นใยอยู่ในตำรับตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่ USP

<u>เอกสารอ้างอิง</u>

1. Orawan Marketeer. ตลาดธุรกิจความงามและเครื่องสำอาง 2019: วิเคราะห์ผลกระทบที่เกิดจาก Digital Disruption และทางรอดของธุรกิจที่สร้างความสุขให้ผู้บริโภค [อินเตอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 23 ต.ค. 2563] เข้าถึงได้จาก: https://marketeeronline.co/archives/118113
2. ประภาพร บุญมี. การผลิตแป้งฝุ่นไล่ยุงที่ใช้แป้งสาคูและน้ำมันเม็ดขาวเป็นวัตถุดิบหลัก. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2553.
3. อัมพวัน ตั๊นสกุล, ศักรินทร์ ภูมิรัตน, ชยานินทร์ หัวพันธุมา. สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเม็ดสาคู. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี; 2545.
4. กันทิมา จารุมา. การผลิตแป้งฝุ่นโรยตัวจากแป้งสาคู. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2556.
5. พีรศักดิ์ วรสุนทโรสถ. ทรัพยากรพืชในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้: พืชให้คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เมล็ด. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย; 2544.
6. อุไรวรรณ พานิช. ฤทธิ์ของสารสกัดจากข่าและว่านนางคำที่มีสาร antioxidant phenolics ต่อการสร้างเม็ดสีผิวเมลานินของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล; 2552.
7. Pubchem. National for biotechnology information: Compound summary Curcumin. [Internet]. [cited 2020 June 21]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Curcumin
8. ดร.นันทิยา สมภาร, รศ.ดร.วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ เส็งกันไพร, ผศ.ดร.เอื้อมเดือน ประวาฬ, รศ.ดร.ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์. การศึกษาฤทธิ์ป้องกันตนเองและฤทธิ์ต้านมะเร็งของสาร cucumin และ tetrahydrocurcumin ในเซลล์ตับและเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของมนุษย์. ปทุมธานี: คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2557.
9. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. extension review of face powders: Functional uses and formulations. [Internet]. [cited 2020 June 21]. Available from: https://www.academia.edu/40979483/An_extensive_review_of_face_powders_Functional_uses_and_formulations
10. เชาวลิต มณฑล, กฤษณา ไกรสินธุ์, จิระพรชัย สุขเสรี, ลักษณา เจริญใจ. การศึกษาสมบัติการไหลของผงยาสมุนไพรเพื่อการเตรียมยาในรูปแบบของแข็ง. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรังสิต; 2557.
11. Emad Shalaby, Sanaa M. Shanab. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis. Cairo: Cairo University; 2021.
12. Shalaby, Emad A., Shanab, Sanaa M. M., Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. NISCAIR-CSIR, India; 2013.

13. วิษณุ ธงไชย, เฉลิมพล วงศ์ขัดนนท์, เฉลิมพร ทองพูน, อนงค์ ศรีโสภา. การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากพืชสกุลเคอร์คูม่า. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม; 2555.
14. Bayan Eshmani, Cosmetics formulation preparation: Light “loose face powder” [dissertation]. Department of pharmaceutics University of King Abdulaziz; 2020.
15. วิจิตรา นาไชยเวศน์. การวิเคราะห์แป้งที่ใช้เป็นเครื่องสำอางด้วยเทคนิค Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-Fid) และเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) (Analysis of cosmetic powder by Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-Fid) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) technique). [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร; 2555.
16. Lucus PJ, Microbiological Examination of Cosmetics. [dissertation]. Umuahia: Michael Okpara University of Agriculture; 2020.
17. Andre’P. Schuch, Maria Carolina S. Moraes, Teiti Yagura, Carlos F.M. Menck. Highly Sensitive Biological Assay for Determining the Photoprotective Efficacy of Sunscreen. Brazil: University of Sao Paulo; 2014.
18. World Health Organization. Accelerated stability studies of widely used pharmaceutical substances under simulated tropical conditions. Switzerland; 1986.
19. Juyun Lim, Alison Wood, Barry G. Green. Derivation and Evaluation of a Labeled Hedonic Scale. [dissertation]. Department of Oxford University; 2009.
20. The United States Pharmacopoeia and The National Formular (USP XXII). MA: Rand McNally; 1995. p. 1479-1484.
21. Thai Herbal Pharmacopoeia volume I. Department of Medical Sciences. Bangkok: Thailand; 1987.
22. The United States Pharmacopoeia and The National Formular (USP 61). Traditional methods USP: Bacterial, Yeast and Mold; 2016.
23. Noura S. Dosoky, Prabodh Satyal, William N. Setzer. Variations in the Volatile Compositions of *Curcuma* Species. [dissertation]. USA: University of Alabama in Huntsville; 2019.
24. Budi Santoso. Effects of Micro Powder Milling on Physicochemical Properties of Sago Starch. University of Papua Manokwari; 2015.
25. Mohd Cairul Iqbal Mohd Amin. Optimization of Reaction Conditions for Carboxymethylated Sago Starch. University Kebangsaan Malaysia; 2011.

ลายเซ็น

ผู้วิจัย

(นสภ.ธันย์ชนก อุนะกุล)

4/04/2564

ผู้วิจัย

(นสภ.กัญจนพร สุขอรรถกิจ)

4/04/2564

ผู้วิจัย

(นสภ.วิภาดา ขุนยัง)

4/04/2564

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ภก.ดร.อ.วัชรพงษ์ แจ่มสว่าง)

4/04/2564

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ภญ.ดร.อ.พุทธิพร คงแก้ว)

4/04/2564