



รายงานผลการดำเนินงานโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม
โครงการการพัฒนาผลิตภัณฑ์บัวบกเพื่อส่งเสริมอุตสาหกรรมบัวบก
จังหวัดอุบลราชธานี

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วริष्ฎา ศิลาอ่อน
คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ
อ.ดร. ชลลัตตา พิษญาจิตติพงษ์

ได้รับจัดสรรงบประมาณดำเนินโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรมจาก
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประจำปีงบประมาณ 2558

คำนำ

บัวบกเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมายหลายประการ ปัจจุบันบัวบกเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่กระทรวงสาธารณสุขได้ให้การสนับสนุนเพื่อใช้ในโรงพยาบาลและการแพทย์แผนไทย ในจังหวัดอุบลราชธานี เขตหมู่บ้านโนนสว่าง อำเภอวารินชำราบ มีการปลูกบัวบกเป็นอาชีพหลัก ส่วนใหญ่จำหน่ายเพื่อการบริโภค การนำบัวบกที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าวมาใช้ทางยาและเครื่องสำอางนับเป็นการเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม เรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์บัวบกเพื่อส่งเสริมอุตสาหกรรมบัวบก จังหวัดอุบลราชธานี” จึงเป็นการบูรณาการความรู้ด้านพืชสมุนไพรที่เป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นกับงานวิจัยโดยใช้เทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์เพื่อการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร การพัฒนาสูตรตำรับ การวิเคราะห์สารสำคัญในวัตถุดิบสมุนไพรและในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป เพื่อสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคและบุคลากรทางการแพทย์ว่าได้รับยาสมุนไพรที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัยเมื่อใช้

โครงการดังกล่าว ประสบความสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และคณะเภสัชศาสตร์ ที่สนับสนุนงบประมาณจากโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ประจำปีงบประมาณ 2558 ทำให้โครงการสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณบุคลากรห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้ความกรุณาช่วยเหลือในการปฏิบัติงานในทุก ๆ ห้องปฏิบัติการและห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องวัด Tensile ของแผ่นฟิล์ม

คณะผู้วิจัย

ตุลาคม 2558

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	2
หลักการและเหตุผล	4
วัตถุประสงค์	4
กลุ่มเป้าหมาย	4
คุณสมบัติของผู้ร่วมโครงการ	4
จำนวนผู้ร่วมโครงการ	4
พื้นที่ / กลุ่มเป้าหมายที่ศึกษา	4
ผลผลิตของงานที่จะส่งมอบ	4
แผนการดำเนินงาน	5
ตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ	6
ตัวชี้วัดตามเกณฑ์ประกันคุณภาพ	7
งบประมาณที่ได้รับจัดสรร	7
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	8
ผลการดำเนินงาน	9
1. บทนำ	9
2. การทบทวนวรรณกรรม	10
3. ระเบียบวิธีวิจัย	21
4. ผลการทดลอง	39
5. สรุปผลและอภิปรายผลการทดลอง	65
6. เอกสารอ้างอิง	69
ผลสำเร็จของการดำเนินงานตามตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ	71
ผลสำเร็จของการดำเนินงานตามตัวชี้วัดตามเกณฑ์ประกันคุณภาพ	72
ความรู้ที่ได้รับจากการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม	73
ปัญหาและอุปสรรค	73
แนวทางในการแก้ไข	73
ภาคผนวก ก	74
ภาคผนวก จ	83

❖ หลักการและเหตุผล

บวบกเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมายหลายประการ อาทิ ฤทธิ์ในการรักษาแผล ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์แก้อาการคันและแพ้ ฤทธิ์ต้านไวรัส Herpes Simplex ช่วยในการรักษาแผล ในกระเพาะอาหารและช่องปาก และช่วยเพิ่มความจำ เป็นต้น ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขสนับสนุน การใช้สมุนไพรในระบบสาธารณสุข ซึ่งบวบกเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่กระทรวงได้ให้การสนับสนุนให้ใช้ใน โรงพยาบาลและการแพทย์แผนไทย ในเขตหมู่บ้านโนนสว่าง อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี มีการปลูกบวบกเป็นอาชีพหลัก ส่วนใหญ่จำหน่ายเพื่อการบริโภค การนำบวบกที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าวมา ใช้ทางยาและเครื่องสำอางนับเป็นการเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ โรงพยาบาลในเขตจังหวัดอุบลราชธานี และจังหวัดใกล้เคียงมีการผลิตยาสมุนไพรเพื่อใช้ในโรงพยาบาล และจำหน่ายทั่วไป ซึ่งการผลิตยาสมุนไพรในโรงพยาบาลมีข้อจำกัดในเรื่องการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ สมุนไพร การพัฒนาสูตรตำรับ การควบคุมคุณภาพระหว่างการผลิต การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ สำเร็จรูป และการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการวิเคราะห์สารสำคัญใน วัตถุดิบสมุนไพรและในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป การวิเคราะห์ดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ ทันสมัยตลอดจนเทคนิคการวิเคราะห์ที่ให้ความถูกต้องแม่นยำ บุคลากรที่รับผิดชอบงานด้านการผลิตยา ต้องมีความรู้และทักษะด้านการผลิตและการควบคุมคุณภาพตลอดกระบวนการผลิต เพื่อสร้างความ มั่นใจให้กับผู้บริโภคและบุคลากรทางการแพทย์ว่าได้รับยาสมุนไพรที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัยเมื่อใช้ ดังนั้นสร้างองค์ความรู้และถ่ายทอดทักษะด้านการผลิตและการควบคุมคุณภาพให้กับบุคลากรจึงเป็นสิ่ง สำคัญ เป็นการสร้างเครือข่ายความรู้ระหว่างสถาบันการศึกษาและหน่วยงานภายนอกให้มีความร่วมมือ อย่างกว้างขวางมากขึ้น

❖ วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางบวบกจากแหล่งเพาะปลูกจังหวัดอุบลราชธานี
2. เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านการผลิตและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางจาก สมุนไพรแก่เภสัชกร/บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับด้านการผลิตยาในโรงพยาบาล/สถาบันการศึกษา ระดับอุดมศึกษา

❖ กลุ่มเป้าหมาย : เภสัชกร นักศึกษาเภสัชศาสตร์ ผู้สนใจทั่วไป

❖ คุณสมบัติของผู้ร่วมโครงการ

เภสัชกร/บุคลากรด้านการผลิตยาสมุนไพรในโรงพยาบาล/สถาบันการศึกษาระดับอุดมศึกษา เขตจังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ และอำนาจเจริญ

❖ จำนวนผู้ร่วมโครงการ 30 คน

❖ พื้นที่ / กลุ่มเป้าหมายที่ศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

❖ ผลผลิตของงานที่จะส่งมอบ : ผลงานวิจัยเพื่อเผยแพร่ในงานประชุมระดับชาติ

❖ แผนการดำเนินงาน (ขั้นตอนหรือวิธีการดำเนินโครงการฯ)

1. สสำรวจแหล่งเพาะปลูกและจำหน่ายบวบก ในเขตหมู่บ้านโนนสว่าง อำเภอวารินชำราบ จังหวัด อุบลราชธานี โดยการสัมภาษณ์เกษตรกรที่ปลูกบวบกในหัวข้อ วิธีการปลูก ระยะเก็บเกี่ยว ราคา เป็นต้น

2. เตรียมตัวอย่างบัวบกสดที่รับซื้อจากเกษตรกรหมู่บ้านโนนสว่างให้อยู่ในรูปผงแห้งและสารสกัดหยาบ โดยล้างทำความสะอาดต้นสดบัวบก ตัดส่วนรากออกใช้เฉพาะส่วนที่อยู่เหนือดิน ผึ่งแดดให้สะเด็ดน้ำ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C โดยใช้ตู้อบบดและลดขนาดบัวบกแห้ง โดยใช้เครื่องลดขนาด คัดขนาดเพื่อให้ผงบัวบกแห้งมีขนาดสม่ำเสมอ โดยใช้ร่อนขนาด 60 mesh จากนั้นสกัดสารสำคัญโดยใช้ ethanol 80% และทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นโดยใช้ rotary evaporator
3. ทดสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ asiaticoside โดยวิธี HPLC เช่น accuracy, precision เป็นต้น
4. ทดสอบการเตรียมผลิตภัณฑ์บัวบกรูปแบบต่าง ๆ เช่นแคปซูลบัวบกและมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก ซึ่งมีวิธีการผลิตและควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์แต่ละประเภทดังนี้

การผลิตและควบคุมคุณภาพแคปซูลบัวบก

ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบโดยตรวจสอบ

 1. ความชื้นของผงแห้งบัวบกไม่เกิน 10% โดยใช้เครื่องวัดปริมาณความชื้น
 2. ความหนาแน่นของผงบัวบก โดยใช้เครื่องวัดความหนาแน่น
 3. ความสามารถในการไหลของผงบัวบก
 4. ปริมาณเชื้อในผงแห้ง โดยวิธีทางจุลชีววิทยา
 5. วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญได้แก่ asiaticoside ในผงแห้งบัวบก โดยวิธี HPLC

การทดสอบการผลิต: นำผงแห้งบัวบกที่ผ่านการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบแล้วบรรจุในแคปซูลเบอร์ 0 โดยใช้เครื่องบรรจุแคปซูลกึ่งอัตโนมัติ

การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปของแคปซูลบัวบกโดยตรวจสอบ

 1. ความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูล
 2. ความสามารถในการแตกตัว

การผลิตและควบคุมคุณภาพเจลบัวบก

ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบโดย: วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญได้แก่ asiaticoside ในสารสกัดหยาบบัวบก โดยวิธี HPLC

การทดสอบการผลิต: เตรียมเจลชนิดน้ำโดยใช้สารสกัดหยาบบัวบก โดยใช้ polymer ชนิดที่ชอบน้ำเป็นสารก่อเจล มีสารเพิ่มความชุ่มชื้น สารกันเสียและสารเพิ่มความคงตัวเป็นองค์ประกอบในตำรับ

การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเจลบัวบกโดยการทดสอบ

 1. ความเป็นกรดต่าง
 2. ความหนืด
 3. ปริมาณสารสำคัญในเจลบัวบก

การผลิตและควบคุมคุณภาพมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบโดย: วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญได้แก่ asiaticoside ในสารสกัดหยาบบัวบก โดยวิธี HPLC

การทดสอบการผลิต: เตรียมมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก ใช้ Polyvinyl alcohol เป็นองค์ประกอบหลัก ผลิตโดยวิธี Film casting และมีสารเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์ม สารกันเสีย สารเพิ่มความคงตัวเป็นองค์ประกอบในตำรับ การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกโดยการทดสอบ

1. ความเป็นกรดต่าง
 2. ความหนาของแผ่นฟิล์ม
 3. ความยืดหยุ่นและความแข็งแรงของฟิล์ม
 4. อัตราเร็วในการแห้ง
 5. ปริมาณสารสำคัญในแผ่นมาสก์
5. ถ่ายทอดเทคนิคการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางบัวบก แก่ เกษีษกร/บุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตยาในโรงพยาบาล ณ คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี

❖ กำหนดการจัดอบรม/สัมมนา (ถ้ามี)

1. นำนักศึกษาเภสัชศาสตร์ ชั้นปีที่ 5 ที่ทำสารนิพนธ์เรื่องการผลิตและควบคุมคุณภาพแคปซูลบัวบก และเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าแบบลอกออกที่ผสมสารสกัดบัวบก นำเสนอผลงานวิจัยแบบปากเปล่าและแบบโปสเตอร์ ในงานประชุมวิชาการ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในระหว่างวันที่ 7-8 มีนาคม 2558
2. จัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการผลิตแคปซูลจากผงบัวบกและเจลจากสารสกัดบัวบก ในวันที่ 5 กันยายน 2558 ณ โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนบ้านหนองใหญ่ จังหวัดศรีสะเกษ โดยมีผู้สนใจเข้าร่วมอบรมการเตรียมผลิตภัณฑ์จำนวน 45 คน ผลความสำเร็จของการจัดอบรมแสดงดังตารางตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ

❖ ตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ

ตัวชี้วัด	หน่วย	ค่าเป้าหมาย	ค่าที่ได้
จำนวนผู้ร่วมโครงการ	คน	30	45
ความพึงพอใจของผู้ร่วมโครงการ	ร้อยละ	90	95
ผู้ร่วมโครงการที่นำความรู้ไปใช้ประโยชน์	ร้อยละ	80	90
ระยะเวลาในการดำเนินงาน	เดือน	12	12

❖ ตัวชี้วัดตามเกณฑ์ประกันคุณภาพ

แผนการบูรณาการกับการเรียนการสอน	ลักษณะการบูรณาการ	ตัวชี้วัดความสำเร็จ
วิชา สารนิพนธ์ หลักสูตร เกษตรศาสตรบัณฑิต นักศึกษาชั้นปีที่ 5	การมอบหมายงานให้นักศึกษา ทำโครงการจากปัญหาของการ ให้บริการวิชาการ	จำนวนโครงการสารนิพนธ์ของ นักศึกษาที่ได้จากการบริการ วิชาการจำนวน 2 โครงการ
แผนการบูรณาการกับการวิจัย	ลักษณะการบูรณาการ	ตัวชี้วัดความสำเร็จ
โครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนา มาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มี ส่วนผสมของสารสกัดบัวบก ดำเนินการวิจัยเมื่อปี 2556- 2557 แหล่งงบประมาณจากทุนวิจัย เพื่อส่งเสริมสมรรถนะหลักและ การพัฒนาคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี	การนำองค์ความรู้จากการวิจัย ถ่ายทอดสู่กลุ่มเป้าหมายที่เข้า ร่วมโครงการ	ร้อยละของผู้ร่วมโครงการ สามารถนำความรู้ไปใช้ ประโยชน์

❖ งบประมาณที่ได้รับจัดสรร

- 1.1 หมวดค่าตอบแทน รวม 10,000 บาท (วงเงินรวมไม่เกินร้อยละ 30 ของงบประมาณที่เสนอ)
- ค่าตอบแทนวิทยากร สำหรับข้าราชการ อัตรา 600 บาท/ชั่วโมง/คน วันละ 5 ชม. จำนวน 3 คน
 - ค่าอาหารทำการนอกเวลาราชการ วันราชการ อัตรา 50 บาท/ชม. วันละ 4 ชม. จน. 5 วัน
- 1.2 ค่าใช้สอย รวม 40,000 บาท
- ค่าใช้จ่ายในการเดินทางไปราชการ = 6,100 บาท
 - ค่ายานพาหนะเบิกจ่ายตามจริง ตามสิทธิ์ = 5,060 บาท
 - ค่าที่พักเหมาจ่าย 800 บาท หรือเบิกจ่ายตามจริง ตามสิทธิ์ = 800 บาท
 - ค่าเบี้ยเลี้ยง 240 บาท/คน/วัน (ต้องมากกว่า 12 ชม.) = 240 บาท
 - ค่าอาหารว่างและเครื่องดื่ม 25 บาท/คน/มื้อ (2 มื้อ) จำนวน 30 คน = 1,500 บาท
 - ค่าอาหารกลางวัน 80 บาท/คน/มื้อ จำนวน 30 คน = 2,400 บาท
 - ค่าน้ำมันเชื้อเพลิง = 3,000 บาท
 - ค่าจ้างเหมาบริการ = 27,000 บาท
 - ค่าจ้างเหมาใช้เครื่อง PXRD อัตรา 500 บาท/ตัวอย่าง จำนวน 15 ตัวอย่าง = 7,500 บาท
 - ค่าจ้างเหมาใช้เครื่อง SEM อัตรา 500 บาท/ตัวอย่าง จำนวน 15 ตัวอย่าง = 7,500 บาท
 - ค่าจ้างเหมาตรวจหาเชื้อก่อโรคในบัวบกอัตรา 3,000 บาท/เชื้อ จน. 4 เชื้อ = 12,000 บาท
- 1.3 ค่าวัสดุ รวม 50,000 บาท

- ค่าวัสดุสำนักงาน 5,000 บาท
 - ค่าวัสดุโฆษณาประชาสัมพันธ์ 3,000 บาท
 - ค่าวัสดุฝึก ให้เบิกจ่ายตามจริง ทั้งนี้ต้องแจกแจงรายละเอียดต่อหน่วย
 - บัวบกสด 50 บาท/กิโลกรัม จำนวน 100 กิโลกรัม
 - แอลกอฮอล์ 95% 3,000 บาท/แกลลอน
 - สารมาตรฐาน asiaticoside 10,000 บาท
 - ตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับวิเคราะห์สารสำคัญในบัวบก 15,000 บาท
 - พอลิเมอร์ที่ใช้เตรียมเจลและมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก 9,000 บาท
- รวมงบประมาณ 100,000 บาท (หนึ่งแสนบาทถ้วน) ทุกรายการถ้วนเฉลี่ยได้

❖ ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจแก่พืชสมุนไพร จากการนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์
2. เกษีกรหรือบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิตยาในโรงพยาบาล/สถาบันการศึกษามีความรู้ด้านเทคโนโลยีเภสัชกรรม การผลิตและการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ยาเครื่องสำอางจากสมุนไพร สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานประจำได้
3. เป็นการประชาสัมพันธ์หน่วยผลิตยาสมุนไพรของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผลการดำเนินงาน

การดำเนินงานเป็นลักษณะโครงการวิจัยที่มีการบูรณาการกับการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ดังนั้นผลการดำเนินงานจึงเป็นลักษณะของงานวิจัย จึงขอรายงานในหัวข้อตามลำดับต่อไปนี้

1 บทนำ

ปัจจุบันกระแสความนิยมใช้สมุนไพรเพื่อการดูแลสุขภาพและความงามมีมากขึ้น ซึ่งบัวบกเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่กระทรวงสาธารณสุขสนับสนุนให้ใช้ในโรงพยาบาลและการแพทย์แผนไทย นอกจากนี้บัวบกเป็นสมุนไพรที่บรรจุอยู่ใน WHO monograph และเภสัชตำรับของหลายประเทศ บัวบกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae เป็นพืชล้มลุก ลำต้นเลื้อยคลานไปตามพื้นดิน ใบและรากงอกตามข้อของลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยว คล้ายรูปไต ขอบใบหยัก ก้านใบยาวสามารถพับตัวไปในเขตร้อนและอบอุ่น ขึ้นได้ดีในที่ชุ่มชื้น ทั้งที่โล่งแจ้ง มีแสงรำไรและในที่ร่ม บัวบกเป็นทั้งพืชสมุนไพรและผักพื้นบ้านที่มีการใช้มาตั้งแต่อดีต ซึ่งมีสารสำคัญเป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpenoids) หลายชนิด เช่น กรดเอเชียติก (Asiatic acid) สารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และสารแมดิแคสโซไซด์ (Madecassoside) ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการ เช่น ฤทธิ์ในการสมานแผล ฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์แก้อาการคันและแพ้ ฤทธิ์ต้านไวรัส Herpes Simplex ช่วยในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารและช่องปาก และช่วยเพิ่มความจำ ใบบัวบกมีสารสำคัญหลายชนิดที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งลดการเสื่อมของเซลล์ร่างกายได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสำคัญที่ได้จากบัวบกเร่งการสร้างคอลลาเจนที่เป็นโครงสร้างของผิว โดยเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังและลดริ้วรอยบนใบหน้าได้

จากข้อมูลดังกล่าวจะพบว่าบัวบกเป็นสมุนไพรที่มีประโยชน์ในด้านการแพทย์มากมาย จึงทำให้ในปัจจุบันมีการพัฒนาตำรับบัวบกออกจำหน่ายเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร นั่นคือการนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบแคปซูลบัวบกแห้ง อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์แคปซูลบัวบกแห้งนั้นยังมีข้อจำกัดในเรื่องการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในการออกฤทธิ์ การควบคุมคุณภาพและการทดสอบความคงตัว นอกจากนี้บัวบกยังเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เวชสำอางและเครื่องสำอาง เช่น มาส์กพอกหน้า การมาส์กหน้ามีมาตั้งแต่สมัยโบราณกาล (Wilkinson & Moore, 1982) และกำลังได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากการมาส์กหน้านั้นสามารถเห็นผลได้อย่างรวดเร็วและชัดเจน อีกทั้งบัวบกที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidation) ซึ่งช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์, มีฤทธิ์ช่วยเร่งการสร้างคอลลาเจน (Collagen) ที่เป็นโครงสร้างของผิวทำให้ผิวหนังกระชับลดเลือนริ้วรอย (จันทร์พร ทองเอกแก้ว, 2556) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial) ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสิวได้อีกด้วย (นุศวัต พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553)

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เสริมอาหารแคปซูลบัวบก จึงทดสอบความคงตัวในสถานะต่างๆ รวมถึงการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในการออกฤทธิ์ของบัวบก คือ asiaticoside, asiatic acid และ madecassoside โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตแคปซูลผงบัวบกแห้งในระดับอุตสาหกรรมต่อไป ทั้งยังเล็งเห็นความสำคัญของมาส์กหน้าแบบลอกออกที่มีส่วนประกอบของสารสกัดบัวบก จึงมีความ

สนใจที่จะพัฒนามาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก (Peel-off facial masks) โดยนำสารสำคัญจากธรรมชาติที่สนใจมาผสมกับโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อฟิล์ม (film-forming polymers) ซึ่งเมื่อแห้งอย่างสมบูรณ์จะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า Cohesive Plastic Layer และสามารถลอกออกได้โดยไม่ทิ้งสารตกค้างไว้บนผิวหนัง ทำให้รู้สึกถึงผิวหน้าที่สะอาด สดชื่น (DeNaverre, 1975) ใช้งานง่าย และสะดวกมากยิ่งขึ้น เพื่อให้เป็นตัวเลือกหนึ่งของการเลือกผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าในปัจจุบัน

2 การทบทวนวรรณกรรม

1. บัวบก

- 1.1. ชื่อวิทยาศาสตร์ : Centella asiatica (Linn.) Urban
- 1.2. ชื่อภาษาอังกฤษ : Indian pennywort, Indian water navelwort, Asiatic pennywort,
Gotu kala
- 1.3. ชื่ออื่นๆ : จำปาเครือ กะบังหอก (ลำปาง) มั่นชุกะบรรณิ (สันสกฤต)
เตี้ยกำเช่า ฮมคัก (จีน) ผักหนอก (เหนือ) ปะหนะ ผักแว่น (ใต้) เอ
ชาเด๊ะ (แม่ฮ่องสอน)
- 1.4. วงศ์ : Umbelliferae

1.5. ลักษณะของพืช

เป็นพืชล้มลุกสูง 6 – 10 เซนติเมตร ลำต้นทอดเลื้อยไปตามพื้นดิน มีรากและใบงอกตามข้อของลำต้นใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่ถึงรูปแก้มกลม กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ยาว 1.3- 3 เซนติเมตร ปลายใบกว้าง ฐานใบเว้ารูปหัวใจก้านใบยาว 1- 4.5 เซนติเมตรออกดอกสีม่วงเป็นช่อกระจุกกลมตามซอกใบหรือตรงข้ามกับใบ ก้านช่อดอกยาว 4-8 มิลลิเมตร ดอกย่อยขนาดผ่านศูนย์กลาง 3- 4 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมกัน ปลายแยก 5 แฉก กลีบดอก 5 กลีบ รูปรี กว้าง เกสรผู้ 5 อัน ติดอยู่ระหว่างกลีบดอก ก้านชูเกสรเพศเมีย 2 อัน ลักษณะผลกลมแบน แยกเป็นสองซีก สีเขียว ขนาด 3-3.5 มิลลิเมตร แต่ละซีกมีหนึ่งเมล็ด

1.6. การปลูกและขยายพันธุ์

บัวบกเป็นพืชที่ขึ้นง่าย ปลูกได้ทั่วไป โตได้ดีในดินที่มีความชุ่มชื้นสูงมาก สามารถปลูกได้ตลอดปี ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดและไหล แต่นิยมการปักชำไหล โดยตัดแยกไหลที่มีต้นอ่อนและมีรากอกนำไปปลูกในที่ชื้นแฉะ ซึ่งจะขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว สามารถปลูกได้ในกระถางและภาชนะอื่นๆ หลังจากปลูก 60-90 วัน สามารถทำการเก็บเกี่ยวได้โดยใช้เสียมขุดเขาบริเวณใต้รากแล้วดึงเอาต้นบัวบกออกมาล้างน้ำ ทำความสะอาดเก็บใบเหลือทิ้งออก

1.7. สารสำคัญ

สารกลุ่ม Triterpene saponin และ Triterpene acids sugar ester สารที่มีการศึกษากันมากได้แก่ asiatic acid, madecassic acid และ asiaticosides

1.8. สรรพคุณยาไทย

ตำราการแพทย์แผนไทย ใช้บัวบกรักษาอาการไข้ใน บำรุงหัวใจ บำรุงกำลัง รักษาบาดแผล รักษาพิษเนื่องจากงูกัด รักษาอาการเริ่มเป็นบิด ท้องร่วง ใช้ผสมร่วมกับสมุนไพรอื่นๆ เป็นยา รักษาอาการร้อนใน กระหายน้ำ รักษาเด็กที่เป็นซาง ตัวร้อนและผอมแห้ง รักษาโรคปากเปื่อย ปากเหม็น เจ็บคอ น้ำลายไหล

1.9. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

- 1.9.1. ฤทธิ์ในการรักษาแผล สารในบัวบกสามารถช่วยสมานแผลให้หายเร็วขึ้นโดยกระตุ้นการสร้าง collagen, DNA และโปรตีน เร่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ลดการเกิด fibrosis ของแผลเพิ่ม antioxidants ของแผลเพิ่ม expression ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ นอกจากนี้บัวบกยังรักษาแผลเป็น และ keloid ได้
- 1.9.2. ฤทธิ์ต้านอักเสบ Chatterjee et al. (1992) พบว่าเมื่อนำสารสกัดบัวบกจากแอลกอฮอล์ทดสอบกับหนูทดลอง มีผลต่อการช่วยเร่งการสมานแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้
- 1.9.3. ฤทธิ์รักษาแผลในกระเพาะอาหาร Chuen Lung Cheng และคณะ (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์สมานแผลในกระเพาะอาหารระหว่างสารสกัดจากบัวบกและสาร asiaticoside ในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยกรดอะซิติกพบว่าสารทั้งสองสามารถลดขนาดของแผลได้ภายในเวลา 3 วันและ 7 วันขึ้นอยู่กับขนาดที่ให้ เพิ่มจำนวนของหลอดเลือดขนาดเล็กในเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังเพิ่มการแสดงออกของ basic fibroblast growth factor และลดการทำงานของเอนไซม์ myeloperoxidase
- 1.9.4. ฤทธิ์เพิ่มความจำ Xing Linc และคณะ (2013) ทำการศึกษาฤทธิ์เพิ่มความจำของสาร asiaticoside ในหนูทดลอง ผลการทดลองพบว่าสารดังกล่าวเพิ่มความสามารถในการจดจำและการเรียนรู้ในหนูทดลองได้ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์เพิ่มระดับสารสื่อประสาท acetylcholine และลดการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase อีกทั้ง ธนียา หาวิเศษ (2549) ได้ทำการทดลองให้สารสกัดน้ำบัวบกแก่หนูตั้งแต่ 100, 300, 600 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดบัวบกขนาด 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) มีฤทธิ์คลายความกังวล นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดขนาด 600 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) มีผลเพิ่มการเรียนรู้และความจำของหนูที่ใช้ทดลอง
- 1.9.5. ฤทธิ์รักษาความผิดปกติของหลอดเลือดดำ Montecchio และคณะ ศึกษาผลของ triterpenic fraction ของบัวบก (CATTF) ในผู้ป่วยที่มี post-phlebotic syndrome โดยนับจำนวน circulating endothelial cells ภายใต้ phase-contrast microscope ก่อนและหลังจากรับประทาน CATTF ขนาด 30 มก./ครั้ง วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ก่อนได้รับสารสกัด ผู้ป่วยจะมีจำนวน circulating

endothelial cells เพิ่มขึ้นกว่าปกติ บำบัดช่วยลดปริมาณ endothelial cells ในเลือดลงมาให้ใกล้เคียงกับคนปกติ

- 1.9.6. **ฤทธิ์ในการสมานแผล (Wound healing effect)** สารสกัดบัวบกมีรายงานการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลอง (in vitro) และในหลอดทดลองว่า (in vivo) ช่วยเร่งการสมานแผล ทำให้แผลหายเร็วขึ้น โดยมีผลเพิ่มการสังเคราะห์ collagen เพิ่มปริมาณ fibronectin ภายในเซลล์ เพิ่ม mitotic activity ของ germ layer และเพิ่มขนาดของ kerato hyaline granules ของเนื้อเยื่อบริเวณที่เกิดแผล และผลที่ได้ขึ้นกับปริมาณสารที่ได้รับ ปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากบัวบก ทั้งที่ใช้รับประทาน และใช้เป็นยาภายนอก สำหรับใช้ในการรักษาบาดแผล (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2009)
- 1.9.7. **ฤทธิ์ในการรักษาและป้องกันการเกิดแผลเปื่อย (Anti-ulcer and ulcer protective effect)** จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า asiaticoside และสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์ในการป้องกันและรักษาแผลเปื่อยในทางเดินอาหารซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการสมานแผล ลดการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ และการกระตุ้น mucosal defensive factors (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2550)
- 1.9.8. **ฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ประสาท (Neuroprotective effect)** จากรายงานการศึกษาพบว่า สารสกัดบัวบกสามารถช่วยป้องกันเซลล์ประสาทจากการถูกทำลายด้วยสาร glutamate, กระตุ้นให้เกิด regeneration ของเซลล์ประสาทและช่วยเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้และความจำของสัตว์ทดลอง โดยพบว่าฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ประสาท เสริมสร้างการเรียนรู้และความจำจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะนำไปใช้ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งมีสาเหตุของโรคอย่างหนึ่งมาจากภาวะ oxidative stress นอกจากนี้ได้มีการจดสิทธิบัตรของสาร asiatic acid สำหรับรักษาโรคสมองเสื่อม (dementia) และเพิ่มการเรียนรู้ (Lee MK, et al., 2000)
- 1.9.9. **ฤทธิ์ต่อจิตประสาท (Psycho-neurological effect)** จากการศึกษาในหนูขาว พบว่าสารสกัดแอลกอฮอล์ของบัวบกทำให้ระดับ GABA ซึ่งเป็น inhibitory transmitter ใน central nervous system เพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มขึ้นของ GABA จะแปรตามขนาดของสารสกัดที่สัตว์ทดลองได้รับ นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนว่าบัวบกมีฤทธิ์เป็น anxiolytic, sedative, antidepressive, anticonvulsive และ analgesic substance รวมทั้งเสริมฤทธิ์และเพิ่ม safety margin ของยากันชักบางตัวที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2550)

- 1.9.10. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)** จากการศึกษาผลของ asiaticoside ต่อปริมาณสารต้านออกซิเดชันในบาดแผล excision-type cutaneous wounds ของหนูขาว พบว่าการทา asiaticoside 0.2% ที่บริเวณบาดแผล วันละ 2 ครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของทั้ง enzyme และ non-enzymatic antioxidants ในเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นใหม่ ได้แก่ superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, vitamin E และ ascorbic acid และยังทำให้ระดับของ lipid peroxide ลดลง (Shukla A, Rasik AM & Dhawan BN, 1999) อย่างไรก็ตาม การทา asiaticoside ต่อไปอีกจนครบ 14 วันไม่พบความแตกต่างของปริมาณ antioxidant เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งการที่ปริมาณ antioxidant เพิ่มขึ้นในระยะเริ่มต้นของการสมานแผลนี้ อาจเป็นกลไกอันหนึ่งที่เกี่ยวข้องกัฤทธิ์ในการสมานแผลของ asiaticoside (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2550)
- 1.9.11. **ฤทธิ์กระตุ้นหรือเสริมภูมิคุ้มกัน (Immunomodulatory effect)** การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิของสารสกัดน้ำหรือสารสกัดแอลกอฮอล์ของบัวบกใน reticuloendothelial system (RES) ของหนูถีบจักร และใน human complement system พบว่าหลังจากฉีดสารสกัดแอลกอฮอล์เข้าใต้ผิวหนังของหนูถีบจักรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะกระตุ้น RES และมีรายงานการศึกษาในหลอดทดลองว่าสารสกัดน้ำก็สามารถกระตุ้นการทำงานของ human complement system ทั้งในส่วนที่เป็น classical และ alternative pathway (Labadie RP, et al., 1989)
- 1.9.12. **ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Anticancer)** มีรายงานการวิจัยว่าสารสกัดหยาบของบัวบกและสารสกัดหยาบที่ผ่านกระบวนการทาง chromatography เพื่อทำให้บริสุทธิ์ขึ้นเป็น partial purified fraction (AF) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง (Babu TD, Kuttan G & Padikkala J, 1995) โดย AF จะแสดงฤทธิ์ยับยั้ง proliferation ของ transformed cell lines ได้ดีกว่า CE และการออกฤทธิ์จะแปรตามขนาดของสารที่ใช้ จากการทดลองกับ Ehrlich ascites tumor cells (EAC) และ Dalton's lymphoma ascites tumor cells (DLA) พบว่า EC₅₀ ของ AF มีค่า 17 และ 22 µg/ml ตามลำดับ โดยที่ AF ไม่มีพิษต่อ normal human lymphocytes และยังพบว่า AF ที่ขนาด 8 µg/ml มีฤทธิ์กีดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ mouse lung fibroblast (L-929) ใน long term culture (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2550)
- 1.9.13. **ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial)** มีรายงานการวิจัยว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส โดยการทดสอบด้วยวิธี Agar dilution test กับเชื้อ 7 ชนิด พบว่า asiaticoside ขนาด 10 mg/ml สามารถต้านเชื้อ *Pseudomonas pyocyaneus*

และ *Trichoderma mentagrophytes* โดยมีค่า MIC 1,000 µg/ml แต่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Candida albicans* หรือ *Aspergillus niger* (Tschesche W & Wulff G, 1965) จากการศึกษาเรื่องการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิวของสารสกัดจากพืชสมุนไพร พบว่าผลทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดบับกด้วยวิธี Broth dilution technique สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 200 mg/ml (นุศวดี พจนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพนันธงาม, 2553)

2. การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบก่อนการบรรจุแคปซูล

2.1. การหาปริมาณความชื้นในผงสมุนไพรบับก การควบคุมปริมาณความชื้นในผงสมุนไพรเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากปริมาณความชื้นที่มากเกินไป อาจทำให้เกิดการเติบโตของเชื้อรา จุลินทรีย์ และเกิดการสลายตัวของตัวยาได้ง่าย สำหรับ Loss on drying เป็นการทดสอบเพื่อหาปริมาณความชื้นและสารระเหยอื่นๆ ที่ระเหยได้ ณ อุณหภูมิที่ระบุโดยใช้อุณหภูมิที่ระบุโดยอุณหภูมิที่ใช้ส่วนใหญ่เท่ากับ 100-105 องศาเซลเซียส ดังนั้นสมุนไพรที่ทนต่อความร้อนสูงประมาณ 105 องศาเซลเซียส จะทดสอบด้วยวิธีนี้ได้ อย่างไรก็ตามน้ำหนักตัวอย่างสำหรับยาสมุนไพรจะกำหนดไว้สูงกว่าตัวยาเคมีเพราะความสม่ำเสมอของตัวยาน้อยกว่า ตำรายาของประเทศไทยและตำรายาของประเทศไทยและตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย กำหนดจำนวนตัวอย่างสำหรับตัวยาสมุนไพร เท่ากับ 2-5 กรัม ในขณะที่ตัวยาเคมีใช้เพียง 1 กรัม

2.2. Bulk density /Tap density โดยหาได้จาก bulk volume และน้ำหนักของผงยาเมื่ออยู่ในกระบอกตวง (cylinder) bulk volume ของผงยาหาได้โดยใส่ผงยาในกระบอกตวงแล้ววัดปริมาตรของผงยาในกระบอกตวงแล้ววัดปริมาตรของผงยาล้างจากเคาะกระบอกตวงบนโต๊ะ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำกระบอกตวงไปเคาะด้วยเครื่องเคาะมาตรฐาน 100 ครั้ง ปริมาตรที่ได้คือ tap volume, tap density และ bulk density ขึ้นกับการกระจายขนาดของอนุภาค รูปร่างของอนุภาค และการจัดเรียงตัวของอนุภาคของผงยา ถ้าผงยาเรียงตัวแบบ close packing ซึ่งจะเหลือช่องว่างระหว่างผงยามาก ทำให้ bulk volume มีค่าสูง และ bulk density มีค่าต่ำ ผงยาชนิดนี้เรียกว่า light powder แต่ถ้าผงยา มีการจัดเรียงตัวแบบ close packing ซึ่งจะเหลือช่องว่างระหว่างผงยาน้อย ทำให้ bulk volume มีค่าต่ำและ bulk density มีค่าสูง ผงยาจะเรียกว่า heavy powder

2.3 Flowability นำผงยาเทผ่านกรวย จากนั้นวัดรัศมีและความสูงของกองผงยาแล้วนำมาหาค่า angle of repose ผงยาทางเภสัชกรรมส่วนใหญ่มีค่าอยู่ระหว่าง 34-48 องศา ค่าของมุมจะ

ขึ้นกับความเสียดทานซึ่งกันและกันระหว่างอนุภาค ซึ่งถ้ามีค่าสูงแสดงว่าการไหลของผงยาไม่ดี
ทำการทดลอง 3 ครั้งแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

จากสูตร $\theta = \tan^{-1} h/r$

เมื่อ θ = angle of repose

h = ความสูงของกองผงยา

r = รัศมีของกองผงยา

3. การควบคุมคุณภาพมาตรฐานแคปซูลบั่วบก

3.1. Weight variation ใช้ในการทดสอบความสม่ำเสมอของน้ำหนักผงยาในแต่ละหน่วย โดยอ้างอิงจากเภสัชตำรับของอเมริกา (USP25) แคปซูลจะผ่านมาตรฐานเมื่อน้ำหนักผงยาในแคปซูล 20 แคปซูลซึ่งแต่ละแคปซูลอยู่ในช่วง 90-110% ของค่าเฉลี่ย ถ้ามีมากกว่า 2 แคปซูลเบี่ยงเบนเกิน 10% ของค่าเฉลี่ยให้ทำเพิ่มอีก 40 แคปซูล รวมเป็น 60 แคปซูล ต้องมีไม่เกิน 2-6 แคปซูล ที่เบี่ยงเบนเกิน 10% แต่ต้องไม่มีเม็ดใดเลยที่เบี่ยงเบนเกิน 25% จึงจะผ่านมาตรฐาน

3.2. Disintegration time การทดสอบการแตกตัวของยาโดยจะกำหนดระยะเวลาการแตกตัวและสารละลายที่ใช้ทดสอบ ณ อุณหภูมิที่กำหนด ซึ่งขึ้นกับรูปแบบของยาเตรียมและวัตถุประสงค์ในการใช้ว่าต้องการให้ออกฤทธิ์เร็วหรือช้า โดยเริ่มแรกใช้แคปซูล 6 แคปซูล ถ้ามี 1 หรือ 2 แคปซูล ไม่กระจายตัวอย่างสมบูรณ์ให้ทำซ้ำอีก 12 แคปซูล รวมเป็น 18 แคปซูล ต้องมีไม่น้อยกว่า 16-18 แคปซูลกระจายตัวอย่างสมบูรณ์จึงจะผ่านมาตรฐาน

4. หลักการการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณโดยเครื่อง HPLC

HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) หรือคอลัมน์ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน สารผสมที่อยู่ในตัวอย่าง สามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเฟสที่อยู่กับที่ โดยสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม (chromatogram)

5. การวิเคราะห์ HPLC

5.1. สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative Analysis) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds) เทคนิค HPLC นี้ได้ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจากหลากหลายอุตสาหกรรม ทั้งด้านยา สิ่งแวดล้อมรวมถึงใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน สารปนเปื้อนในอาหาร สารพิษที่ผลิตจากเชื้อรา (Mycotoxin)

5.2. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC ประกอบด้วย

- 5.2.1. Mobile phase / Solvent : ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่เฟสที่อยู่กับที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งกระบวนการแยกจะเกิดขึ้นภายในคอลัมน์
- 5.2.2. Pump : ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบ HPLC
- 5.2.3. Injector / Autosampler : ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC
- 5.2.4. Column : ภายในบรรจุด้วยเฟสที่อยู่กับที่ที่มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล ทำให้เกิดกระบวนการแยกองค์ประกอบของสารที่สนใจ โดยกระบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่กับเฟสที่อยู่กับที่
- 5.2.5. Detector : เป็นตัวตรวจวัดสัญญาณทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากการแยก

6. มาส์กพอกหน้าแบบลอก (Peel-off facial masks)

Peel-off mask หรือ มาส์กพอกหน้าชนิดลอกออก มักทำจาก wax, gelling agent, latex หรือ plastic resin มีลักษณะเป็นของเหลว แต่เมื่อทาลงบนผิวหนังจะแห้งกลายเป็นแผ่นแนบติดกับผิวหนังมักปล่อยให้อยู่บนผิวหนังสักระยะหนึ่งเพื่อให้สารสำคัญ (Active substance) ดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง แผ่นมาส์กช่วยป้องกันการสูญเสียความชุ่มชื้นของผิวหนัง และทำให้ผิวหนังนุ่มเรียบเนียนขึ้น เมื่อแห้งสนิทสามารถดึงลอกออกเป็นแผ่นให้หลุดออกจากผิวหนังได้

การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับ Peel-off mask พบรายงานของ ปัญญกานต์ ผลพงษ์และรัตนาศิริพันธุ์ (2546) ทำการศึกษาพัฒนาสูตรตำรับฟิล์มพอกหน้าจากสารสกัดขมิ้นชัน โดยใช้ polyvinyl alcohol เป็นสารก่อฟิล์ม มีการทดลองเตรียมตำรับ แล้วสังเกตการแยกชั้นของตำรับเมื่อตั้งทิ้งไว้นาน 2 สัปดาห์ เพื่อคัดเลือกตำรับที่มีความคงตัวมาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพเพิ่มเติมเมื่อได้ตำรับที่มีความคงตัวและมีคุณสมบัติตามต้องการ จะมีการเติมสารสกัดขมิ้นชันลงในตำรับปริมาณที่เหมาะสมที่สุด คือ 0.001%w/w และ เติมน้ำ tween 20 ปริมาณ 0.75 %w/w เพื่อให้

ตำรับมีความคงตัวดี และเมื่อนำไปทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 4 คน พบว่าหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ความชุ่มชื้นที่ผิวหนังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเป็นเวลานานถึง 135 นาที

รายงานของ Beringsh, et al., 2013 ทำการออกแบบสูตรตำรับ Green Clay และ Aloe Vera Peel-Off Facial Mask โดยศึกษาคุณสมบัติของ Cereal alcohol-EtOH (drying accelerator), Carbomer (viscosity agent) และ Polyvinyl alcohol (film forming agent) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ, drying time และความคงตัวทางเคมีกายภาพ และทางจุลชีววิทยา พบว่า สูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด คือ สูตรตำรับที่ประกอบด้วย 13%w/w PVA, 10%w/w cereal alcohol และไมใส่ carbomer

Simchareon, et al., 2013 ทำการออกแบบสูตรตำรับ Peel-off Mask จาก Deproteinized Natural Rubber Latex ในสูตรตำรับประกอบด้วย DNRL, polyvinyl alcohol (PVA) และ methylcellulose (MC) เป็น film formers, propylene glycol (PG) และ glycerin เป็น plasticizer, Tween 80 เป็น stabilizer, Paraben concentrate เป็น preservative และสารสำคัญอื่นๆ ผู้วิจัยศึกษาลักษณะทางกายภาพของ Peel-off Mask ในรูปแบบ paste ,คุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม ,ความคงตัวของตำรับ และการระคายเคืองต่อผิวหนัง พบว่าสูตรตำรับที่เหมาะสม ประกอบด้วย 14% DNRL , 2% PVA, 2.5% MC, 3% PG, 1.5% glycerin, 1.25% Tween 80, 1% Paraben concentrate, 5% tocopheral acetate, 1% aloe vera, 2% jojoba oil, 0.5% tamarind extract

7. ข้อมูลการตั้งสูตรตำรับ

7.1. สารก่อฟิล์ม (Film-forming polymer)

Polyvinyl alcohol (PVA) เป็น Vinyl polymer มีลักษณะเป็นผงสีขาว (Modi, 1980) สามารถละลายในน้ำเย็นและเบสอ่อนได้ดี (ปรีชา, 2530) โดยน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์จะมีผลต่อความหนืด (Viscosity) ของสารละลาย ในทางการค้าได้มีการแบ่งชนิดของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ตามความหนืดเป็น 4 ระดับ ได้แก่

ความหนืดต่ำ (Low viscosity)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 25,000-35,000
ความหนืดปานกลาง (Medium viscosity)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 120,000-150,000
ความหนืดสูง (High viscosity)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 170,000-220,000
ความหนืดสูงมาก (Super high viscosity)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 250,000-300,000

สมบัติทางกายภาพของ Polyvinyl alcohol มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิส โดยเมื่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยหรือเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น จะมีสมบัติทางกายภาพเพิ่มขึ้น เช่น ความหนืด (Viscosity) ความต้านทานแรงดึง (Tensile strength) และความทนทานต่อน้ำ (Water resistance) เป็นต้น (Hodgkinson and Taylor, 2000)

สมบัติทางกล (Mechanical properties) ของ Polyvinyl alcohol สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ดี ซึ่งสมบัติทางกลของฟิล์ม ขึ้นอยู่กับ เกรดของ Polyvinyl alcohol ปริมาณ plasticizer และความชื้นสัมพัทธ์ ได้แก่ 1. ความต้านทานแรงดึงขาด (Tensile strength) ของฟิล์มจะเพิ่มขึ้น เมื่อ Polyvinyl alcohol มีน้ำหนักโมเลกุล หรือเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น 2. การยืดตัว (Elongation) จะมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 10-600 โดยขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ปริมาณ plasticizer และความชื้นสัมพัทธ์ 3. ความต้านทานแรงฉีกขาด (Tear resistance) ของฟิล์มจะเพิ่มขึ้น เมื่อ Polyvinyl alcohol มีน้ำหนักโมเลกุล หรือเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น และการเติม plasticizer จะเป็นการเพิ่มความต้านทานแรงฉีกขาดได้ 4. ความแข็ง (Hardness) ของฟิล์มจะลดลง หรือความยืดหยุ่น (Flexibility) ของฟิล์มจะเพิ่มขึ้น เมื่อเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสลดลง และการเติม plasticizer จะเป็นการเพิ่มความยืดหยุ่นได้

การละลาย (Solubility) แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ 1. การละลายในน้ำ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ สามารถละลายในน้ำได้ดีเนื่องจากประกอบด้วย หมู่ไฮดรอกซิลที่มีสมบัติชอบน้ำ แต่เกรดไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์ที่มีความเป็นผลึกสูงกว่า จะต้องอาศัยความร้อนให้สามารถเกิดการละลายในน้ำได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนเกรดไฮโดรไลซ์เพียงบางส่วนที่มีความเป็นผลึกต่ำกว่า จะสามารถละลายได้ดีทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น 2. การละลายในน้ำผสมแอลกอฮอล์ สำหรับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสต่ำกว่าร้อยละ 73 จะไม่สามารถละลายในน้ำหรือแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียวแต่จะละลายในน้ำผสมแอลกอฮอล์ได้ โดยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผสมลงในน้ำจะเพิ่มขึ้น เมื่อพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสลดลง 3. การละลายในตัวทำละลาย ส่วนใหญ่แล้วพอลิไวนิลแอลกอฮอล์จะไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป (Organic solvent) แต่จะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ประเภทสารประกอบพอลิไฮดรอกซี (Polyhydroxy compound) เช่น กลีเซอริน (Glycerine) เอทิลีน ไกลคอล (Ethylene glycol) พอลิเอทิลีน ไกลคอล (Polyethylene glycol) ซึ่งนิยมใช้เป็นพลาสติกไฮเซอ์ สารประกอบเอมิด (Amides) สารประกอบเอมีน (Amines) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) เป็นต้น โดยจะสามารถละลายเพิ่มขึ้น เมื่อเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสลดลงอย่างไรก็ตามจะต้องมีการให้ความร้อนในระหว่างการละลายด้วยความทนทานต่อน้ำมันและตัวทำละลาย (Oil and solvent resistance)

การนำไปใช้ประโยชน์ (Application) มีการนำไปใช้ในงานอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมสิ่งทอที่ใช้ในการเคลือบเส้นด้าย อุตสาหกรรมกระดาษที่ใช้เป็นสารปรับปรุงคุณสมบัติ (Sizing agent) และเคลือบกระดาษเพื่อป้องกันน้ำ อุตสาหกรรมกาว และอุตสาหกรรมการบรรจุ เป็นต้น

7.2. สารเพิ่มความยืดหยุ่น (Plasticizer)

สารเพิ่มความยืดหยุ่น เป็นสารช่วยทางเภสัชกรรมที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มความยืดหยุ่น (Flexibility) ของฟิล์ม ให้มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ดีขึ้นและลดความแข็งเปราะของฟิล์มโดย Plasticizer จะไปลดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุล (Hydrogen bonding) ระหว่างสายพอลิเมอร์ ทำให้เกิดช่องว่างระหว่างโมเลกุลมากขึ้น เพิ่มความยืดหยุ่น ช่วยป้องกันการแยกตัวของฟิล์มในระหว่างทำให้แห้ง ทำให้มีลักษณะทางกายภาพดี นุ่มขึ้น

Glycerin มีสูตรโมเลกุล คือ $C_3H_8O_3$ เป็นของเหลวใสไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีความหนืดและดูดความชื้น มีรสชาติดหวาน โดยหวานประมาณ 0.6 เท่าของซูโครส (พลกฤต พลตรีและศตายุ นาโคม, 2548) มีสถานะหลอมเหลวที่อุณหภูมิ $17.8^{\circ}C$, มีจุดเดือดและสลายตัวที่ $290^{\circ}C$ จากคุณสมบัติที่ Glycerin สามารถดูดกลืนน้ำได้จากอากาศ จึงนำไปทำเป็น moisturizer ในเครื่องสำอาง และมีการใช้ Glycerin เป็น plasticizer ในฟิล์มได้หลายชนิด

การละลาย (Solubility) ของ Glycerin สามารถละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์ ละลายได้เล็กน้อยใน Ether, Ethyl acetate และ Dioxane, ไม่ละลายในสารละลายไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons)

การนำไปใช้ประโยชน์ (Application) นิยมใช้อย่างกว้างขวางในทางเภสัชกรรมทั้งในสูตรตำรับยารับประทาน ยาหยอดตา ยาหยอดหู ยาใช้ภายนอก และยาฉีดเข้าเส้นเลือดดำ ในสูตรตำรับยาและเครื่องสำอางโดยส่วนมากใช้ Glycerin เป็นสารให้ความชื้น และสารช่วยลิ้น แต่ในการเตรียมยาฉีดนั้น มักใช้ glycerin เป็น solvent ใน oral solution ใช้ glycerin เป็น solvent สารให้ความหวาน preservative และสารเพิ่มความหนืด นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้เป็น plasticizer ของ gelatin ในการผลิต soft gelatin capsules และ gelatin suppositories และมักนำไปใช้ในการปรุงแต่งอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ Glycerin ในการรักษาโรคตามคลินิกต่างๆ อีกด้วย (พลกฤต พลตรีและศตายุ นาโคม, 2548)

7.3. Drying acelerator

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) หรือเกรนแอลกอฮอล์ (Grain alcohol) หรือแอลกอฮอล์ เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ ไฮดรอกซิล (-OH) ต่ออยู่กับสายโซ่ของไฮโดรคาร์บอน มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH เป็นของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยได้ จุดไฟติด มี pH เป็นกลาง มีจุดเดือดที่ $78.15^{\circ}C$ องศาเซลเซียส แต่สามารถระเหยได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำ สามารถผสมเข้ากันได้ดีกับน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม

การนำไปใช้ประโยชน์ (Application) ของ Ethanol และ aqueous ethanol solutions ที่ความเข้มข้นต่างๆ ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในสูตรตำรับยาและในเครื่องสำอาง แม้ว่าเอทานอลส่วนใหญ่เป็นตัวทำละลาย แต่ยังสามารถใช้เป็นยาฆ่าเชื้อและเป็น antimicrobial preservative

7.4. สารเพิ่มเนื้อ (Thickening agent)

Xanthan gum เป็น High Molecular Weight Polysaccharide มีคุณสมบัติเป็น Anionic มีลักษณะเป็นผงสีขาวอมเหลือง นำมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มความหนืด สารละลาย Xanthan gum มีคุณสมบัติเป็น Pseudoplastic อาจเรียกว่า Shear Thinning Fluid เป็นของไหลประเภทนอนนิวโตเนียน (Non-Newtonian fluid) ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีสมบัติสำคัญคือ เมื่อเพิ่ม Shear rate จะทำให้ความหนืด (Viscosity) ของของไหลลดลง เนื่องจากความหนืดของของเหลวประเภทนี้ไม่คงที่ จึงเรียกว่าเป็นความหนืดปรากฏ (Apparent Viscosity) ขึ้นอยู่กับ Shear rate ด้วยคุณสมบัติที่เป็น Pseudoplasticity จะส่งผลต่อความเรียบเนียนของผลิตภัณฑ์ และยังทำให้เนื้อของผลิตภัณฑ์มี Texture หรือเนื้อสัมผัสที่ดีอีกด้วย Xanthan gum ไม่เกิดเจล (gel) เนื่องจากโครงสร้างเป็นกิ่งก้านสาขา (branching) แต่จะเกิดเจลได้เมื่อใช้ร่วมกับกัมบางชนิด เช่น โลคัสปินกัม (locust bean gum) กวากัม (guar gum) สามารถเก็บในอุณหภูมิห้อง โดยปิดฝาขวดให้สนิท เก็บรักษาให้พ้นจากแสงแดด ความชื้น และความร้อนและ Xanthan gum สามารถทำให้ emulsion มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิและ pH ที่กว้าง เมื่อใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางจะทำให้เครื่องสำอางสามารถเกลี่ยได้ง่ายขึ้นและเป็นเนื้อเดียวกัน อีกทั้ง Xanthan gum ยังมีการนำมาใช้ในการทำแชมพูทำให้เนื้อแชมพูมีคุณภาพดีอีกด้วย

การละลาย (Solubility) ของ Xanthan gum สามารถละลายได้ทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น ให้ความหนืดมากแม้ในความเข้มข้นต่ำๆ

การนำไปใช้ประโยชน์ (Application) Xanthan gum เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ 100% สกัดได้จากเมือก (slime) ที่สร้างมาจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris*, Xanthan gum ไม่มีพิษ และไม่ทำให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนัง และสามารถใช้ร่วมกับ Thickening agent อื่นๆ เพื่อปรับปรุง Texture หรือเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์และสามารถเพิ่ม-ลดความหนืดได้ตามต้องการได้อีกด้วย จากคุณสมบัติข้างต้นทำให้ Xanthan gum เป็น Thickening agent ที่มีประสิทธิภาพดีชนิดหนึ่ง และเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และนิธิยา รัตนานนท์, 2557)

8. ข้อมูลของเชื้อที่นำมาศึกษา

8.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียกรัมบวกรูปกลม (gram-positive cocci) เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 μm มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grap-like cluster) จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอนบางอาจเห็นเป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ก็ได้ เชื้อ *S. aureus* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (non-motile) และจัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือสามารถเจริญได้ในที่มี

ออกซิเจนและมือออกซิเจนเพียงเล็กน้อย สามารถเจริญได้ในที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ สูงถึง 10% เจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 °C สามารถทนต่อความแห้งและความร้อน ที่อุณหภูมิ 50 ได้นาน 30 นาที (ภัทรชัย กิริตสิน, 2551) และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา ที่อุณหภูมิ 37 °C pH 7.4 โคโลนีมีสีเหลืองทอง *S. aureus* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญที่ ผิวหนัง เช่น ฝี การติดเชื้อของแผลผ่าตัด แผลอักเสบ เป็นต้น คนที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ไม่ได้พบ เฉพาะคนที่กำลังเป็นโรคเนื่องจากติดเชื้อนี้เท่านั้นแต่ยังสามารถพบในคนที่มีสุขภาพดีด้วย นอกจากนี้ *S. aureus* ยังพบตามส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย เช่น ผิวหนัง ในจมูก คอ และผม

8.2. *Escherichia coli*

E.coli เป็นแบคทีเรียกรัมลบรูปแท่ง เซลล์มีขนาดประมาณ 0.3-1 × 1-6 µm จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe เชื้อสามารถถูกทำลายได้ง่ายโดยความร้อนและความแห้ง แต่เชื้อสามารถ อาศัยอยู่ในที่มีความชื้นและทนความเย็นได้นาน การเจริญของเชื้อไม่ต้องการสารอาหารพิเศษ จึง เพาะได้ง่ายด้วยอาหารเพาะเชื้อทั่วไป (ภัทรชัย กิริตสิน, 2551) ที่อุณหภูมิ 7-46°C pH ของอาหาร ตั้งแต่ 4.4 – 10 *E.coli* เป็นเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ และ เป็นสปิชีส์ที่พบการก่อโรคในคนได้บ่อยที่สุดในจีนส์นี้ รวมถึงพบก่อโรคได้บ่อยกว่าเชื้ออื่นๆ ในกลุ่ม Enterobacteriaceae ส่วนใหญ่ก่อให้เกิดโคโรในระบบทางเดินอาหาร แต่บางสายพันธุ์สามารถ ก่อให้เกิดโรคนอกระบบทางเดินอาหารได้ เช่น โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้ม สมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เชื้อ *E.coli* พบได้ทั้งในคนปกติและคนที่มีระบบ ภูมิคุ้มกันบกพร่อง และเป็นหนึ่งในเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อยที่สุด และเป็นหนึ่งใน เชื้อต้องห้ามในเครื่องสำอางอีกด้วย

3 ระเบียบวิธีวิจัย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาขั้นตอนการผลิตและควบคุมคุณภาพแคปซูลบับกจากแหล่งเพาะปลูกจังหวัด อุบลราชธานี
2. เพื่อทดสอบหาความคงสภาพของแคปซูลบับก
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าแบบลอกออกจากสารสกัดบับกจากแหล่งเพาะปลูกจังหวัด อุบลราชธานี

ขั้นตอนการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบและการเตรียมผงบับก
 - 1.1. การคัดเลือกวัตถุดิบและการเก็บสารตัวอย่าง
หลังจากปลูกบับกประมาณ 60 - 90 วันก็จะเริ่มเก็บเกี่ยวใบ จากนั้นนำมาล้างน้ำ ทำความ สะอาดเก็บใบเหลืองเศษวัชพืชอื่น ๆ ออก ซึ่งในงานวิจัยนี้เก็บวัตถุดิบจาก จ. อุบลราชธานี ในช่วงเดือนตุลาคม
 - 1.2. การเตรียมวัตถุดิบและการอบ

นำบัวบกที่เก็บเกี่ยวมาได้มาล้างน้ำให้สะอาด ตัดส่วนรากทิ้ง จากนั้นนำไปผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

1.3. การอบ

นำบัวบกที่สะเด็ดน้ำแล้วนำมาเกลี่ยในภาชนะที่สะอาด โดยเกลี่ยให้ทั่วกันทั้งถาด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50°C ด้วยเครื่อง Hot air oven เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

1.4. การเตรียมผงสมุนไพร

1.4.1. นำบัวบกที่ผ่านการอบแล้วมาชั่งน้ำหนัก

1.4.2. นำบัวบกที่ได้มาปั่นจนละเอียด

1.4.3. นำผงบัวบกที่ปั่นได้ไปผ่านร่อนเบอร์ 60

1.4.4. เก็บผงบัวบกที่ได้ไว้ในถุงสะอาดและมัดปากถุงให้แน่น

2. การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ

2.1. การทดสอบหาความชื้นในผงบัวบกด้วยเครื่อง Moisture balance

การหาปริมาณความชื้นในผงสมุนไพร เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเพราะความชื้นในผงสมุนไพรเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโต อีกทั้งยังมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ในการทดลองนี้ได้มีการหาปริมาณความชื้นด้วยเครื่อง Moisture balance

วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ ซ้อนตักสาร เครื่อง Moisture balance Mettler® รุ่น LJ16

สารเคมี ได้แก่ ผงบัวบก

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่อง Moisture balance
2. ชั่งผงบัวบกลงในเครื่องประมาณ 5 กรัม
3. เกลี่ยผงบัวบกให้สม่ำเสมอ ตั้งเวลา 10 นาที
4. จากนั้นกด start
5. เมื่อครบเวลา 10 นาที เครื่องจะคำนวณ % Loss on drying ที่มีอยู่ในผงบัวบก
6. บันทึกค่าที่ได้ (ทำ 3 ซ้ำ)

2.2. การทดสอบคุณสมบัติการไหลของผงบัวบก (flowability)

เป็นคุณสมบัติที่จำเป็นต่อการบรรจุผงยาลงในแคปซูล เพื่อไม่ให้เกิดความแปรปรวนของน้ำหนักซึ่งสามารถวัดได้จากมุมของการไหล (angle of repose) ทดสอบโดยการเทผงยาลงบนพื้นราบจะเกิดกองผงยาขึ้นซึ่งจะมีมุมระหว่างผิวเอียงของกองผงยากับแนวราบที่มีค่าคงที่ค่าของมุมนี้จะขึ้นกับความเสียดทานระหว่างผิวอนุภาคหากผงยามี angle of repose สูงบ่งบอกว่าแรงเสียดทานมีมากและการไหลของผงยาไม่ดี

วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ Funnel Petidish ไม้บรรทัด

สารเคมี ได้แก่ ผงบัวบก

วิธีการทดลอง

1. นำผงบัวบกเทผ่านกรวยลงใน petidish จนเต็มฐานของจาน
2. วัดความสูงของผงยา และเส้นผ่านศูนย์กลางของจานแก้ว

3. คำนวณหา angle of repose โดยใช้สูตร $\text{angle of repose} = 1 / \tan \theta$

2.3. การหา tapped density

ความสามารถในการตอกอัดของสาร (compressibility ratio) เป็นค่าที่บ่งบอกความสามารถในการอัดแน่นของสารนั้นๆ สารที่มีค่า compressibility ratio สูงจะสามารถตอกอัดได้ดีกว่า นอกจากนี้ compressibility ratio ต่ำ เช่น 5-12 จะพบว่าการไหลของสารอยู่ในขั้นดีมาก หากพบว่ามีค่าตรงกันข้าม เช่น มีค่าสูงกว่า 35 ความสามารถในการไหลของผงยาจะมีความสามารถในการไหลต่ำอย่างมาก ไม่เหมาะกับการผลิตทางเภสัชกรรม

วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ Cylinder ขนาด 100 ml

สารเคมี ได้แก่ ผงบัวบก

วิธีการทดลอง

การหา bulk density

1. ชั่งผงบัวบก 10 กรัม (m) ใส่ในกระบอกตวงแห้งขนาด 100 ml
2. เคาะกระบอกตวง 3 ครั้ง
3. ค่าที่อ่านได้เป็นมิลลิลิตร (v) แล้วคำนวณหา bulk density (m/v)

การหา tapped density

1. ชั่งผงยามา 10 กรัม (m) ใส่กระบอกตวงแห้งขนาด 100 ml
2. เคาะ 100 ครั้งด้วยเครื่องทดสอบหาค่า Tapped density
3. อ่านค่าที่ได้เป็นมิลลิลิตร (v) แล้วคำนวณหา Tapped density (m/v)

3. การผลิตแคปซูลบัวบกแห้ง

วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ ปิกเกอร์ แคปซูลเบอร์ 0 เครื่องบรรจุแคปซูลกึ่งอัตโนมัติ กระปุกบรรจุแคปซูลเครื่อง seal กระปุกแคปซูล

สารเคมี ได้แก่ ผงบัวบก

วิธีการทดลอง

1. นำแคปซูลเรียงลงใน loading tray จนเต็มโดยให้ส่วน body อยู่ด้านล่าง
2. นำ loading tray วางลงบน tray base ของเครื่อง
3. กดส่วน cap ของแคปซูลให้เรียบเสมอกันด้วยคันบังคับ
4. โยกคันบังคับเพื่อรูดส่วน body ของแคปซูลให้ติดอยู่กับ tray base
5. ยก loading tray เพื่อแยก cap ออกจากแคปซูล
6. บรรจุตัวยาลงในส่วน body ของแคปซูลจนเต็ม กดให้แน่นด้วย pressing device
7. นำ loading tray ซึ่งมีส่วน cap ของแคปซูลติดอยู่มาสวมกับ tray base อีกครั้ง เพื่อให้ cap สวมกับ body
8. ปิดแผ่นบังคับส่วน cap ของแคปซูลแล้วล็อกไว้
9. โยกคันบังคับเพื่อดันส่วน body ของแคปซูลให้สวมกับ cap ให้แน่น

10. ยกแผ่น loading tray ที่มีแคปซูลที่ได้บรรจุตัวยาลงแล้วออกโดยแคปซูลที่ได้จะมีปริมาณตัวยาตามต้องการ คือ 400 มิลลิกรัม
11. เลือกแคปซูลที่มีรูปลักษณะไม่ดีทิ้งไป
12. นำแคปซูลใส่กระปุก กระปุกละ 70 แคปซูล

4. การควบคุมคุณภาพแคปซูลบับกแห้ง

4.1. การทดสอบความแปรปรวนของน้ำหนัก (weight variation)

เป็นการทดสอบการกระจายตัวของผงยา อ้างอิงจากเภสัชตำรับของอเมริกา (USP 25) วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง แปรงปิดฝุ่นผงยา กระจกนาฬิกา วิธีการทดลอง

1. ชั่งแคปซูลที่บรรจุผงยาบับก
2. แกะแคปซูลและใช้แปรงปิดผงบับกออกจากแคปซูลจนหมด
3. นำแคปซูลเปล่าไปชั่งน้ำหนัก คำนวณหาผลต่างของน้ำหนักของผงยา
4. ทำทั้งหมด 20 แคปซูล

การประเมินผล

แคปซูลจะเข้ามาตรฐานเมื่อน้ำหนักของแคปซูลแต่ละเม็ดอยู่ในช่วง 90-110% ของค่าเฉลี่ย ถ้าแคปซูลที่ทำไปแล้วในตอนแรกไม่เข้ามาตรฐานที่กำหนด แคปซูลเหล่านี้จะเข้ามาตรฐานเมื่อ ปริมาณยาในแคปซูลไม่เกิน 2 แคปซูลมีค่ามากกว่า 10% ของค่าเฉลี่ย ไม่มีแคปซูลใดเลยที่มีค่าเกิน 25% ให้หาปริมาณสุทธิของแคปซูลอีก 40 แคปซูล แล้วหาค่าเฉลี่ยของ 60 แคปซูล แคปซูลจะเข้ามาตรฐานเมื่อ มีแคปซูลไม่เกิน 6 ใน 60 แคปซูลมีน้ำหนักแตกต่างกันเกิน 10% ของน้ำหนักสุทธิ ไม่มีแม้แต่แคปซูลเดียวที่มีค่าเกิน 25%

4.2. การทดสอบเวลาการแตกตัว (disintegration test)

เป็นการทดสอบการกระจายตัวของยาโดยกำหนดเป็นเวลา (disintegration time) ในตัวกลางที่ใช้ทดสอบการแตกตัว ณ อุณหภูมิที่กำหนด ตามมาตรฐานเภสัชตำรับอังกฤษ (BP) กำหนดว่ายารูปแบบแคปซูลจะผ่านเกณฑ์มาตรฐานเมื่อแตกตัวหมดภายในระยะเวลา 30 นาที โดยไม่มียาตกค้างบนตะแกรงเลย ยกเว้นเปลือกแคปซูลเท่านั้น

วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่อง disintegration test Erweka[®] รุ่น ZT 52 Thermometer สารเคมี ได้แก่ แคปซูลบับก น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. เติมน้ำกลั่นในบีกเกอร์ที่ใช้เฉพาะกับเครื่อง disintegration test Erweka[®] รุ่น ZT 52 ขนาด 1 ลิตร
2. ตั้งอุณหภูมิน้ำกลั่นให้อยู่ที่ 37°C
3. นำแคปซูลที่ต้องการทดสอบจำนวน 6 แคปซูลใส่ลงใน basket rack ช่องละ 1 แคปซูลโดยใส่ disk ลงไปด้วยเพื่อป้องกันการลอยตัวของแคปซูล
4. เริ่มการทำงานของเครื่อง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของแคปซูล

5. บันทึกเวลาที่แคปซูลแตกตัวหมด

6. ถ้ามียา 1 หรือ 2 แคปซูลแตกตัวหมดให้ทดสอบอีก 12 แคปซูล และกำหนดให้การแตกตัวจะผ่านมาตรฐานเมื่อแตกตัวหมดไม่เกิน 16 แคปซูลจาก 18 แคปซูลที่ทำการทดสอบ (ทำ 3 ซ้ำ)

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ

วัสดุและอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่องซึ่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ชุดกรอง mobile phase for HPLC, Pump กระดาษกรอง ขนาด 0.45 μm , หัวกรอง 0.45 μm , Degasser and sonicator, Micropipette, Microwave Vortex, High performance liquid chromatography system Column (reverse phase column C18)

สารเคมี ได้แก่ Methanol HPLC grade, Acetonitrile HPLC grade, Deionized water, Standard Asiaticoside, Standard Asiatic acid, Standard Madecassoside, ผงบัวบก

5.1. การเตรียมสารสกัดแคปซูลบัวบก

1. นำผงจากแคปซูลบัวบก 500 mg (จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml
2. เติม ethanol 20 ml เป็นตัวทำละลายสกัด
3. ทำการสกัดโดยใช้ microwave (2450 MHz, 600W) นาน 20 วินาที พัก 30 วินาที สกัด 4 รอบ (เติม ethanol ครั้งเดียว) หลังจากสกัดเสร็จแล้วจะเห็นว่า ethanol ระเหยหมด
4. ทำการกลั่นด้วย methanol ลงใน volumetric flask โดยกรองผ่าน Nylon membrane filter ขนาด 0.45 μm
5. ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 ml

5.2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียม stock solution ของ asiaticoside 8.055 mg/ml, asiatic acid 8.028 mg/ml, madecassoside 1.01 mg/ml ใน methanol ดังนี้

1. เตรียม stock solution ของ asiaticoside ความเข้มข้น 8.055 mg/mL โดยชั่ง asiaticoside 80.55 mg ใส่ลงใน volumetric flask จากนั้นปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 ml
2. เตรียม stock solution ของ asiatic acid ความเข้มข้น 8.028 mg/mL โดยชั่ง asiatic acid 80.28 mg ใส่ลงใน volumetric flask จากนั้นปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 ml
3. เตรียม stock solution ของ madecassoside ความเข้มข้น 1.01 mg/mL โดยชั่ง madecassoside 10.10 mg ใส่ลงใน volumetric flask จากนั้นปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 ml

4. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสม asiaticoside, asiatic acid และ madecassoside ความเข้มข้น 400 µg/mL

5.3. การวิเคราะห์โดย HPLC

5.3.1. เตรียม mobile phase กรอง methanol HPLC grade ด้วยกระดาษกรอง ขนาด 0.45 µm กรอง Acetonitrile HPLC grade ด้วยกระดาษกรอง ขนาด 0.45 µm นำไป Degas เป็นเวลา 20-30 นาที

5.3.2. วิเคราะห์โดยใช้สภาวะดังนี้

HPLC column: Water symmetry RP C18 (250 mm × 4 mm I.D. ; particle size : 5 µm)

Mobile phase: A : Deionized water และ B : Acetonitrile HPLC

Gradient solvent system

Time (min)	Pump A water (%)	Pump B Acetonitrile (%)
0	85	15
5	80	20
10	55	45
15	55	45
20	20	80
30	20	80
35	85	15
50	85	15

Flow rate : 1ml/min

Injection volume : 20 µl

Detector wavelength : 206 nm

6. การตรวจสอบความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

6.1. การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง เป็นการทดสอบโดยการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างน้อย 5 ความเข้มข้น ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงแสดงด้วยค่า correlation coefficient (r^2) ค่าที่ยอมรับได้ คือ > 0.999 และพิจารณาค่าจุดตัดแกนตั้ง (y-intercept) ค่าความชันของกราฟ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ด้วย

วิธีการทดสอบ

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 5 ความเข้มข้น คือ 50, 100, 200, 300 และ 400 µg/ml ตามลำดับ
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่อง HPLC ที่ละความเข้มข้นโดยทำซ้ำที่ความเข้มข้นละ 1 ครั้ง
3. สร้างกราฟมาตรฐานโดยให้แกน X เป็นความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน และแกน Y เป็นพื้นที่ใต้พีค
4. คำนวณหาสมการเส้นตรงและค่า r^2 โดยค่า r^2 บ่งบอกถึงแนวโน้มความเป็นเส้นตรง

6.2. การทดสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

การทดสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้วิธีทดสอบแบบ standard addition method โดยเติมสารละลายมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นแน่นอนอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ลงใน sample แล้ววิเคราะห์หาค่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ของความเข้มข้นรวมของแต่ละตัวอย่าง ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน เรียกว่า spiked sample และตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร standard เรียกว่า unspiked sample ค่าความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ คำนวณในรูปของ %recovery โดยมีเกณฑ์ที่ยอมรับคือ 95-105%

วิธีการทดสอบ

1. การเตรียม unspiked sample (Blank) ทำโดยการสกัดแคปซูลบวบกใส่ใน volumetric flask แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 10 mL
2. การเตรียม spiked sample
3. เตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐานซึ่งประกอบไปด้วย Asiaticoside, Asiatic acid, Madecassoside ความเข้มข้น คือ 4000 µg/mL เพื่อจะ spike ให้ได้ 3 ความเข้มข้น คือ 50 200 และ 400 µg/mL ดังนี้
4. สกัดแคปซูลบวบกตามวิธีการสกัดข้างต้นใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL จากนั้น pipette สารละลายมาตรฐาน 125 µL แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
5. สกัดแคปซูลบวบกตามวิธีการสกัดข้างต้นใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL จากนั้น pipette สารละลายมาตรฐาน 500 µL แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
6. สกัดแคปซูลบวบกตามวิธีการสกัดข้างต้นใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL จากนั้น pipette สารละลายมาตรฐาน 1,000 µL แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 mL
7. คำนวณหาปริมาณสารละลายมาตรฐานที่ตรวจพบ คำนวณหา % recovery โดยมีเกณฑ์ที่ยอมรับคือ $100 \pm 20\%$ การคำนวณ % recovery คำนวณได้โดยสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละของการคืนกลับ (\%Recovery)} = \frac{\text{Measured concentration} \times 100}{\text{Standard concentration}}$$

6.3. การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

การทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ เป็นการทดสอบว่าวิธีที่เลือกใช้และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้ผลที่ใกล้เคียงกันในทุก ๆ ครั้งที่ทำการทดลอง และผลที่ได้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้แสดงในรูปของ %RSD มีค่า < 2.0 มี 2 รูปแบบ ได้แก่

1. การทดสอบในวันเดียวกัน (intra-day) เป็นการตรวจสอบความแม่นยำของ การวิเคราะห์ด้วยนักวิเคราะห์คนเดียว เครื่องมือและสภาวะการวิเคราะห์เดียวกัน โดยวิเคราะห์ซ้ำ ในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกันหรือในวันเดียวกัน
2. การทดสอบต่างวันกัน (inter-day) เป็นการทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ในเวลาที่ต่างกันออกไปทั้งหมด 3 วัน

วิธีการทดสอบ

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 50, 200, 400 µg/ml
2. นำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยทำการฉีดขวดละ 3 ครั้ง
3. ทำการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน (intra-day) โดยหาค่าเฉลี่ย AUC ของแต่ละขวด แล้วนำค่าเฉลี่ย AUC ของแต่ละขวดที่คำนวณได้มาหา %RSD
4. ทำการวิเคราะห์ที่ต่างวันกันทั้งหมด 3 วัน (inter-day) โดยหาค่าเฉลี่ย AUC ของทั้ง 3 ขวดที่วิเคราะห์ในวันเดียวกัน (รวม 9 ครั้ง) แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้ ของแต่ละวันมาหา %RSD โดยมีเกณฑ์การยอมรับ คือ %RSD ≤ 2.0
5. การคำนวณ %RSD คำนวณได้โดยสมการต่อไปนี้

$$\%RSD = \frac{(SD \times 100)}{\bar{x}}$$

$\bar{x}$

7. การทดสอบความคงตัวของแคปซูลบัวบก (Stability test)

ทดสอบความคงตัวของแคปซูลบัวบกโดยนำแคปซูลที่เตรียมได้บรรจุในขวดพลาสติก ปิดฝาแล้วนำไปเก็บที่ 3 สภาวะ ดังนี้ และสุ่มตัวอย่างแคปซูลภายหลังการเก็บที่เวลา 0, 1, 3, 6 เดือน เพื่อทดสอบ

1. อุณหภูมิปกติของห้อง
2. อุณหภูมิ 25 °C
3. อุณหภูมิ 45 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH

7.1 ปริมาณสารสำคัญ

1. วิเคราะห์หาปริมาณ Triterpenoids ในแคปซูลบัวบก ที่เวลาเริ่มต้น และเมื่อเก็บนาน 30, 60 และ 90 วัน ที่สภาวะต่าง ๆ 3 สภาวะ
2. สกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญโดยวิธี HPLC วิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำไปหาค่าเฉลี่ย
2. เปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญคงเหลือเทียบกับปริมาณเริ่มต้น

7.2 Weight variation วิธีการทดสอบดังกล่าวไว้ข้างต้น

7.3 Disintegration time วิธีการทดสอบดังกล่าวไว้ข้างต้น

8. การทดสอบหาสูตรตำรับมาสก์พอกหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกที่ทำให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะเหมาะสม

8.1. ขั้นตอนการหาปริมาณ Film former และ Plasticizer ที่เหมาะสมจากการเติม Film former คือ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98% hydrolyzed และ Plasticizer คือ Glycerin

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ Beaker, Stirring rod, Thermometer, Dropper เครื่อง, Hot plate, Hot air oven, Water bath shaker, Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm, เครื่องวัดความหนืด

สารเคมี ได้แก่ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98% hydrolyzed, xanthan gum และ Glycerin

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลาย PVA ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20% w/w โดยชั่ง PVA มาละลายในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C โดยค่อยๆ โปรง PVA ที่ละน้อยและคนอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งได้สารละลายใสและเป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำสารละลาย PVA ที่เตรียมได้มาเติม Glycerin ที่ความเข้มข้น 0%, 4% และ 6% w/w คนสารละลายอย่างรวดเร็วจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันดังนั้นสูตรตำรับที่เตรียมจะได้ทั้งหมด 9 สูตร ดังที่แสดงในตารางที่ 1
3. นำไปไล่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator
4. นำสารละลายที่เตรียมได้ เทลงบน Plate ขนาด 6x9.5 cm ปริมาณ 3 กรัม จากนั้นนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 °C อบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. สังเกตและบันทึกลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้

ตารางที่ 1 สูตรตำรับที่เตรียมเพื่อหาปริมาณ Film former และ Plasticizer ที่เหมาะสมเมื่อเติม Plasticizer (Glycerin) ความเข้มข้น 0%, 4% และ 6% w/w ลงในสารละลาย Film former (PVA) ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20% w/w ตามลำดับ

สูตรที่	PVA (%w/w)	Glycerin (%w/w)
1	10	0
2	10	4
3	10	6
4	15	0
5	15	4
6	15	6
7	20	0
8	20	4
9	20	6

หมายเหตุ : ลักษณะทางกายภาพที่ใช้ในการพิจารณาแผ่นฟิล์ม มีดังนี้

1. ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม
 2. ความยืดหยุ่น
 3. ความไม่เปราะแตกง่าย
 4. ความสม่ำเสมอเรียบเนียน
 5. ความสามารถในการลอกออกจากPlate หลังอบ
- เกณฑ์การให้คะแนน: ให้คะแนนตั้งแต่ 0-4 โดยแทนสัญลักษณ์ ดังนี้
++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย + น้อยมาก 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

8.2. ขั้นตอนการหาปริมาณ Drying accelerator ที่เหมาะสม จากการเติม 95% Ethanol โดยพิจารณาจากค่า Drying time และลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม เพื่อหาสูตรตำรับที่สามารถก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์มและมี Drying time น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างสูตรตำรับที่เติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15%w/w ตามลำดับ

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ Beaker, Thermometer, Dropper เครื่อง, Hot plate, Hot air oven, Water bath shaker, Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm, เครื่องวัดความหนืด สารเคมี ได้แก่ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98% hydrolyzed, Glycerin 95% , Ethanol

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. เลือกสูตรตำรับที่มี Film former และ Plasticizer ในปริมาณที่ทำให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะทางกายภาพที่ดีตามเกณฑ์ที่ใช้พิจารณา ซึ่งสูตรตำรับที่พิจารณาเลือก คือ สูตรตำรับที่มีปริมาณ PVA และ Glycerin ความเข้มข้น 15% และ 6% w/w ตามลำดับ
2. เติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15%w/w ตามลำดับ คนอย่างรวดเร็วจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นสูตรตำรับที่เตรียมจะได้ทั้งหมด 6 สูตร ดังที่แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สูตรตำรับที่เตรียมเพื่อหา Drying time ที่น้อยที่สุด เมื่อเติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15%w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA และ Glycerin 15% และ 6% w/w ตามลำดับ

สูตรที่	PVA (%w/w)	Glycerin (%w/w)	95% Ethanol
1	15	6	0
2	15	6	2
3	15	6	6
4	15	6	10
5	15	6	12
6	15	6	15

3. ปิด Paraffin และนำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator
4. วัด pH ด้วย pH test strip สังเกตสี/ความใส และวัดความหนืดของตำรับที่ได้บันทึกผล
5. นำสารละลายที่ได้เทลงใน Plastic plate (ขนาด 6x9.5 cm) ปริมาณ 3 กรัม ซึ่งนำหนักเริ่มต้น และนำไปทดสอบหา Drying time โดยใช้เครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิ 37°C นำออกมาชั่งน้ำหนักทุก 15 นาที จนได้น้ำหนักคงที่และแผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้บันทึกผล ณ เวลาที่แผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้เป็นค่า Drying time
6. นำสารละลายที่ได้เทลงใน Plastic plate (ขนาด 6x9.5 cm) ปริมาณ 3 กรัม จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้หลังอบ

หมายเหตุ: ลักษณะทางกายภาพที่ใช้ในการพิจารณาแผ่นฟิล์ม มีดังนี้

1. ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม
 2. ความยืดหยุ่น
 3. ความไม่เปราะแตกง่าย
 4. ความสม่ำเสมอเรียบเนียน
 5. ความสามารถในการลอกออกจาก Plate หลังอบ
- เกณฑ์การให้คะแนน: ให้คะแนนตั้งแต่ 0-4 โดยแทนสัญลักษณ์ ดังนี้
 ++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย + น้อยมาก 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

- 8.3. ขั้นตอนการหาปริมาณ *Thickening agent* ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่า Drying time และลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม เพื่อเพิ่มความหนืดของสูตรตำรับ และทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสที่ดีมากขึ้น จากการเติม Xanthan gum ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1% w/w

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ Beaker, Stirring rod, Thermometer, Dropper เครื่อง, Hot plate, Hot air oven, Water bath shaker, Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm, เครื่องวัดความหนืด

สารเคมี ได้แก่ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98% hydrolyzed, Glycerin, 95% Ethanol, Xanthan gum

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. เมื่อได้สูตรตำรับที่มี Film former, Plasticizer และ Drying accelerator ในปริมาณที่ทำให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะทางกายภาพที่ดีตามเกณฑ์ที่ใช้พิจารณา และมีค่า Drying time ที่น้อยที่สุด ซึ่งสูตรตำรับที่พิจารณาเลือก คือ สูตรตำรับที่มีปริมาณ PVA, Glycerin และ 95% Ethanol ความเข้มข้น 15, 6 และ 15% w/w ตามลำดับ
2. เติม Xanthan gum 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1% w/w ตามลำดับ คนอย่าง

รวดเร็วจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นสูตรตำรับที่เตรียมจะได้ทั้งหมด 5 สูตร ดังที่แสดงในตารางที่ 3

3. ปิด Paraffin film และนำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator
4. วัด pH ด้วย pH test strip สังเกตสี/ความใส และวัดความหนืดของตำรับที่ได้
5. แบ่งสารละลายที่เตรียมได้เทลงบน Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm ปริมาณ 3 กรัม จากนั้นนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C อบเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและวัดความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้หลังอบ
6. เทสารละลายที่เตรียมได้ ลงบน Plate ขนาด 6x9.5 cm ปริมาณ 3 กรัม ชั่งน้ำหนักเริ่มต้น และนำไปทดสอบหา Drying time โดยใช้เครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นำออกมาชั่งน้ำหนักทุก 15 นาที จนได้น้ำหนักคงที่และแผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้ บันทึกผล ณ เวลาที่แผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้เป็นค่า Drying time
7. สังเกตและบันทึกลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้

ตารางที่ 3 สูตรตำรับที่เตรียมเพื่อหาปริมาณ Thickening agent ที่เหมาะสม เมื่อเติม Xanthan gum ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1% w/w ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerin และ 95% Ethanol ความเข้มข้น 15, 6 และ 15% w/w ตามลำดับ

หมายเหตุ : ลักษณะทางกายภาพที่ใช้ในการพิจารณาแผ่นฟิล์ม มีดังนี้

สูตรที่	PVA (%w/w)	Glycerin (%w/w)	95% Ethanol (%w/w)	Xanthan gum (%w/w)
1	15	6	15	0
2	15	6	15	0.25
3	15	6	15	0.50
4	15	6	15	0.75
5	15	6	15	1

1. ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม
2. ความยืดหยุ่น
3. ความไม่เปราะแตกง่าย
4. ความสม่ำเสมอเรียบเนียน
5. ความสามารถในการลอกออกจาก Plate หลังอบ

เกณฑ์การให้คะแนน: ให้คะแนนตั้งแต่ 0-4 โดยแทนสัญลักษณ์ ดังนี้

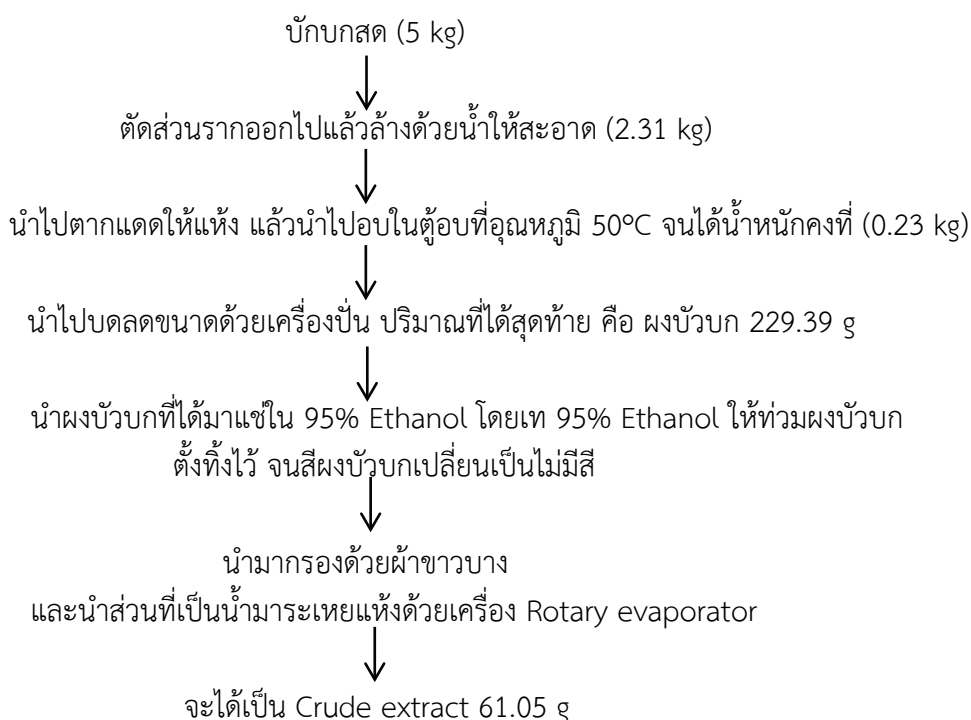
++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย + น้อยมาก 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

- 8.4. ขั้นตอนการหาปริมาณที่เหมาะสมของสกัดบัวบกในตำรับโดยพิจารณาจากค่า Drying time คุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์ม เพื่อให้ได้สูตรตำรับที่มีปริมาณสารสกัดที่เพียงพอในการแสดงคุณสมบัติ จากการเติมสารสกัดปริมาณ 1, 2 และ 4% w/w ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerin, 95% Ethanol และ Xanthan gum ความเข้มข้น 15, 6, 15 และ 15% w/w ตามลำดับ รวมทั้งมีการเติม Chelating agent คือ disodium EDTA ความ

เข้มข้น 0.1% และ Preservative คือ Paraben concentration ความเข้มข้น 1% และ
 ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์มาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกในท้องตลาด
 เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ Beaker, Stirring rod, Thermometer, Dropper เครื่อง, Hot
 plate, Hot air oven, Water bath shaker, Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm, เครื่องวัด
 ความหนืด, เครื่อง Texture Analyzer
 สารเคมี ได้แก่ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98% hydrolyzed
 Glycerine 95% Ethanol Xanthan gum สารสกัดบัวบก ผลิตภัณฑ์มาสก์พอกหน้าชนิดลอก
 ออกในท้องตลาด

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. สกัดสารบัวบก



2. วิธีเติมสารสกัดลงในสูตรตำรับที่เหมาะสม

2.1 เมื่อได้สูตรตำรับที่มี Film former, Plasticizer, Drying accelerator และ
 Thickening agent ในปริมาณที่ทำให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะทางกายภาพที่ดีตามเกณฑ์ที่ใช้
 พิจารณา และมีค่า Drying time ที่น้อยที่สุดซึ่งสูตรตำรับที่พิจารณาเลือก คือ สูตรตำรับที่มี
 ปริมาณ PVA, Glycerin, 95% Ethanol, Xanthan gum, disodium EDTA และ Paraben
 concentration ความเข้มข้น 15, 6, 15, 1, 0.1 และ 1% w/w ตามลำดับ

2.2. เติมสารสกัดบัวบก 1, 2 และ 4% w/w ตามลำดับ คนอย่างรวดเร็วจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นสูตรตำรับที่เตรียมจะได้ทั้งหมด 4 สูตร รวมกับสูตรตำรับที่ไม่เติม สารสกัด 1 สูตรดังที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สูตรตำรับที่เตรียมเพื่อหาปริมาณสารสกัดบัวบกที่เหมาะสม เมื่อเติมสารสกัดบัวบก ความเข้มข้น 1, 2 และ 4% w/w ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerin, 95% Ethanol, Xanthan gum, disodium EDTA และ Paraben concentration ความเข้มข้น 15, 6, 15, 1, 0.1 และ 1% w/w ตามลำดับ

สูตร ที่	PVA (%w/w)	Glycerin (%w/w)	95% Ethanol (%w/w)	Xanthan gum (%w/w)	สารสกัดบัวบก (%w/w)
1	15	6	15	1	0
2	15	6	15	1	1
3	15	6	15	1	2
4	15	6	15	1	4

3. ปิด Paraffin film และนำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator

4. วัด pH ด้วย pH test strip สังเกตสี/ความใส และวัดความหนืดของตำรับที่ได้ แล้วบันทึกผล

5. แบ่งสารละลายที่เตรียมได้เทลงบน Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm ปริมาณ 3 กรัม จากนั้นนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C อบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้หลังอบ

6. สารละลายที่เตรียมได้ เทลงบน Plastic plate ขนาด 6x9.5 cm ปริมาณ 3 กรัม ชั่งน้ำหนักเริ่มต้น และนำไปทดสอบหา Drying time โดยใช้เครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C นำออกมาชั่งน้ำหนักทุก 5 นาที จนได้น้ำหนักคงที่และแผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้ บันทึกผล ณ เวลาที่แผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้เป็นค่า Drying time

7. สังเกตและบันทึกลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้

8. นำแผ่นฟิล์มมาตัดให้ได้ขนาด 0.6x4 cm เพื่อนำไปวัด Tensile strength และ Elongation at break และตัดให้ได้ขนาด 2x5 cm เพื่อนำไปวัด Adhesion strength ด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Texture Analyzer บันทึกผล

หมายเหตุ: ลักษณะทางกายภาพที่ใช้ในการพิจารณาแผ่นฟิล์ม มีดังนี้

1. ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม
2. ความยืดหยุ่น
3. ความไม่เปราะแตกง่าย
4. ความสม่ำเสมอเรียบเนียน

5. ความสามารถในการลอกออกจากPlate หลังอบ
เกณฑ์การให้คะแนน:ให้คะแนนตั้งแต่ 0-4 โดยแทนสัญลักษณ์ ดังนี้
++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย + น้อยมาก 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

9. การทดสอบคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ Antioxidant และ ฤทธิ์ Antibacterial

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ 24 well plate, Micropipette ขนาด 20-200 μL และ 100-1,000 μL เครื่อง UV-Vis spectrophotometer

สารเคมี ได้แก่ DI water Methanol Vitamin C (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

ขั้นตอนการดำเนินการทดสอบฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดบัวบกและแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก

9.1. Antioxidant (DPPH assay)

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) โดยชั่ง DPPH 6.71 mg ละลายในตัวทำละลาย Methanol 1 ml ใส่ลงในAmber Volumetric Flask และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร (เก็บในขวดสีชา)

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้ vitamin C เป็นสารมาตรฐานที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยชั่ง Vitamin C จำนวน 3.2 mg ละลายใน DI water ปริมาตร 1 ml ใส่ลงหลอดทดลองจะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 3200 $\mu\text{g}/\text{mg}$ จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานที่ได้เตรียมเป็นความเข้มข้น 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย DI water ให้มีปริมาตร 1000 ml

3. เตรียมสารละลายตัวอย่าง จากสารสกัดบัวบก ในตัวทำละลาย ethanol ปริมาตร 1 mL ได้สารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นเท่ากับ 5 mg/mL

4. เตรียมสารละลายตัวอย่าง จากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก 4% ของตำรับ ในตัวทำละลาย DI water ปริมาตร 50 mL ได้สารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.4 mg/mL การทดสอบการจับอนุมูลอิสระ

1. เตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายมาตรฐาน Vitamin C ที่เตรียมไว้แล้วใส่ลงใน Well plate ดังตารางที่ 5 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 45 นาที ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง (ทำ 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น)

ตารางที่ 5 การเตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายมาตรฐาน Vitamin C

Sample (μL)	Methanol (μL)	DPPH (μL)	Final Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
DI water = 250 (Control)	250	500	0
10	490	500	1.25

15	485	500	1.88
20	480	500	2.50
30	470	500	3.75
40	460	500	5.00
50	450	500	6.25

2. เตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสารสกัดบัวบกที่เตรียมไว้แล้ว ดังตารางที่ 6 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง (ทำ 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น)

ตารางที่ 6 การเตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสารสกัดบัวบก

Sample (μl)	Methanol (μl)	DPPH (μl)	Final Concentration (μg/ml)
DI water = 250 (Control)	250	500	0
10	490	500	50
20	480	500	100
30	470	500	150
40	460	500	200
50	450	500	250
60	440	500	300
70	430	500	350

3. เตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายแผ่นฟิล์มที่เตรียมไว้แล้ว ดังตารางที่ 7 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง (ทำ 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น)

ตารางที่ 7 การเตรียมสารละลายที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายแผ่นฟิล์ม

Sample (μl)	Methanol (μl)	DPPH (μl)	Final Concentration (μg/ml)
DI water = 250 (Control)	250	500	0
200	300	500	480
250	250	500	600
300	200	500	720
350	150	500	840
400	100	500	960

4. นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ในข้อที่ 1, 2 และ 3 ไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer จากนั้นนำข้อมูลจากการวัดค่าการดูดกลืนแสง คำนวณ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณหา % inhibition, % remaining, IC₅₀, EC₅₀ และค่า VCEAC (Vitamin C equivalent antioxidant capacity)

การคำนวณหา %inhibition จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}) / OD_{\text{control}}] \times 100 \quad (1)$$

การคำนวณหา % remaining จากสมการ

$$\% \text{ remaining} = (OD_{\text{sample}} - OD_{\text{control}}) \times 100 \quad (2)$$

หาค่า IC₅₀ โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition (แกน y) กับความเข้มข้นของสาร (แกน X) โดยใช้สมการที่ 1

หาค่า EC₅₀ โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % remaining (แกน y) กับความเข้มข้นของสาร (แกน X) โดยใช้สมการที่ 2

นำค่า IC₅₀ และ EC₅₀ ของสารตัวอย่างที่ได้จากการทดลอง ไปคำนวณเปรียบเทียบกับ IC₅₀ และ EC₅₀ ของสารละลายมาตรฐาน Vitamin C แล้วรายงานเป็นค่า VCEAC (Vitamin C equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mg Vitamin C/1 g sample

9.2. Antimicrobial

ทดสอบฤทธิ์ Antibacterial ของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก โดยวิธี Cylinder plate method เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ Petridish, Micropipette ขนาด 100-1,000 µL, Micropipette tip, Cuvette เครื่อง UV-Vis spectrophotometer, ตู้ Laminar air flow, หลอดทดลองแบบมีฝาเกลียว, Inoculating loop Cotton swap, Venire caliper

อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Muller Hinton Agar(MHA), Tryptic Soy broth (TSB), Agar ยาปฏิชีวนะ (Positive control) ได้แก่ Clindamycin

เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. เตรียมดาร์รับมาสก์พอกหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกในรูปของเหลว 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 2 , และ 4 % w/w, Negative control คือ ดาร์รับที่ไม่ได้ใส่สารสกัดบัวบก Positive control คือ ยา 1% clindamycin
2. วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดสอบ เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) บ่มภายใต้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน
3. ปรับความขุ่นด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (sterile water) โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 625 nm ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.08-0.1 จะมีจำนวนเชื้อประมาณ 1×10^8 - 2×10^8 cfu/ml
4. วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ใช้ Cotton swab ไร้เชื้อ จุ่มเชื้อจาก Suspension ของเชื้อที่เตรียมไว้แล้วนำมาป้ายบนผิวหน้าของอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ให้ทั่ว

งานอาหาร โดยป้าย 3 ครั้ง แต่ละครึ่งให้หมุนงานอาหารเลี้ยงเชื้อไป 60 องศา ทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที จนผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นวาง cylinder cup (outside diameter 8 mm, inside diameter 6 mm, length 10 mm) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงบนผิวหน้าอาหาร โดยวางแต่ละ cup ให้อยู่ห่างจากกันและให้ห่างจากขอบจานมากที่สุด แล้วนำตำรับมาส์กพอกหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก 1, 2 , และ 4 % w/w ในรูปของเหลว, Negative control และ Positive control มาหยดลงใน cylinder cup ถ้วยละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. อ่านผลโดยการสังเกตการเกิดวงใสรอบ cylinder cup และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

10. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีในแผ่นฟิล์มด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เครื่องมือและอุปกรณ์ ได้แก่ เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC), Nylon membrane filter 0.45 µm Syringe, หัวกรอง 0.45 µm Nylon สารเคมี ได้แก่ Methanol (HPLC), Acetonitrile, DI water สารมาตรฐาน Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid

ขั้นตอนการดำเนินการ

1. ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid จาก stock solution ความเข้มข้น 4 mg/ml ให้มีความเข้มข้น 10, 20, 40, 80, 100 และ 200 µg/ml โดยใช้ Methanol เป็นตัวทำละลาย

2. ขั้นตอนการเตรียมสารละลายตัวอย่างจากแผ่นฟิล์มเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid

1. เตรียมสารละลายตัวอย่างจากแผ่นฟิล์มที่มี 1, 2 และ 4%w/w ของสารสกัดบัวบก โดยตัดแผ่นฟิล์มขนาด 2x2 cm (n=3) วัดความหนา และชั่งน้ำหนักไว้

2. นำแผ่นฟิล์มมาย่อยในตัวทำละลายผสมระหว่าง 55% DI water และ 45% ACN ปริมาตร 3 ml (นำไป sonicate 1 hr) จากนั้นกรองด้วย Nylon membrane filter 0.45 µm แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายผสมจนครบ 5 ml

3. นำสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ โดยวิธี HPLC

สภาวะที่ใช้สำหรับ HPLC คือ

Column: reversed phase RP-18 column (250 mmx4 mm I.D ; particle size 5µm)

Mobile phase: Gradient of acetonitrile/water (ดังตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 Mobile phase ที่ใช้สำหรับ HPLC

Time (min)	Pump A : Water (%)	Pump B : Acetonitrile (%)
0	85	15
5	80	20
10	55	45
15	55	45
20	20	80
30	20	80
35	85	15
40	85	15

Flow rate: 1 ml/min

Injection volume: 20 μ l

Detection: at UV 206 nm

4. คำนวณหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ Asiaticoside Madecassoside และ Asiatic acid ที่มีในแผ่นฟิล์มที่บรรจุ 1, 2 และ 4%w/w ของสารสกัดบัวบก

4 ผลการทดลอง

1. การควบคุมคุณภาพมาตรฐานทางกายภาพของผงบัวบก

1.1. การหาปริมาณความชื้นของผงบัวบกด้วยเครื่อง moisture balance

ตารางที่ 9 ตารางแสดงผลการทดสอบหาปริมาณความชื้นด้วยเครื่อง moisture balance

Loss on drying				
ครั้งที่	น้ำหนัก (g)	% moisture	mean	SD
1	3.002	5.7	6.03	0.29
2	3.002	6.2		
3	3.002	6.2		

จากผลการทดสอบตามตารางที่ 9 ซึ่งทำการทดสอบผงบัวบกก่อนทำการบรรจุแคปซูลโดยเครื่อง moisture balance พบว่ามีปริมาณความชื้นเฉลี่ย 6.03 ± 0.29 %w/w ซึ่งเป็นไปตามกว่าเกณฑ์ที่ Thai herbal pharmacopeia กำหนด ซึ่งกำหนดเกณฑ์ไว้ห้ามเกิน 14.0 %w/w ของน้ำหนักผงบัวบกที่นำมาทดสอบ ดังนั้นแคปซูลบัวบกจึงผ่านเกณฑ์มาตรฐานการตรวจสอบหาปริมาณความชื้น

1.2. การทดสอบความสามารถในการไหล (Flowability)

ตารางที่ 10 ตารางแสดงผลการทดสอบ Angle of repose หรือมุมในการไหลของผงบัวบก

Flowability					
ครั้งที่	h	r	angle	mean	SD
1	2.0	8.9	12.67	15.13	2.83
2	2.7	8.2	18.23		
3	2.2	8.5	14.51		

จากผลการทดสอบตามตารางที่ 10 พบว่าผงบั่วบก่อนทำการบรรจุแคปซูลมี Angle of repose เฉลี่ย 15.13 ± 2.83 ซึ่งอยู่นอกเกณฑ์มาตรฐานเภสัชตำรับอเมริกา USP 36 ซึ่งกำหนดว่าหากมี Angle of repose 25-30 จัดว่ามีการไหลที่ดีมาก

1.3. การทดสอบ bulk density, tapped density และ % compressibility

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบ bulk density, tapped density และ % compressibility ของผงบั่วบ

ครั้งที่	น้ำหนัก (g)	bulk density	tap density	%compressibility	Hausner ratio
1	20.001	0.33	0.41	18.5	1.23
2	20.061	0.33	0.40	16.7	1.20
3	20.002	0.34	0.40	15.3	1.18
Mean				16.8	1.20
SD				1.61	0.02

จากผลการทดสอบตามตารางที่ 11 พบว่า ผงบั่วบก่อนทำการบรรจุแคปซูลมี % compressibility เฉลี่ย 16.80 ± 1.61 และมีค่า Hausner ratio 1.20 ± 0.02 ซึ่งจัดว่ามีการไหลค่อนข้างดี ตามเกณฑ์มาตรฐานเภสัชตำรับอเมริกา USP 36 ซึ่งกำหนดว่าหากมี % compressibility 16 – 20 จัดว่ามีการไหลที่ค่อนข้างดี

2. การควบคุมคุณภาพมาตรฐานแคปซูลบั่วบ

2.1. การทดสอบความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูล (Weight variation)

ตารางที่ 12 ตารางแสดงความแปรปรวนของน้ำหนัก

Weight variation	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ผลการทดสอบ	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน

จากผลการทดสอบตามตารางที่ 12 ทำการทดสอบความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูลบรรจุผงบั่วบแต่ละแคปซูล พบว่า ทุกแคปซูลผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามเภสัชตำรับอเมริกา (USP 36) คือ ไม่มีแคปซูลใดที่มีน้ำหนักมากกว่าหรือน้อยกว่า 10% ของน้ำหนักเฉลี่ย แสดงว่าการบรรจุแคปซูลด้วยเครื่องบรรจุแคปซูลกึ่งอัตโนมัติ ไม่ทำให้เกิดการแปรปรวนของน้ำหนักผงบั่วบที่บรรจุในแคปซูล

2.2. การทดสอบระยะเวลาในการแตกตัวของแคปซูล (Disintegration time)

ตารางที่ 13 ตารางแสดงการแตกตัวของแคปซูลบัวบก

Disintegration time	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ผลการทดสอบ	แตกตัวภายใน 30 นาที	แตกตัวภายใน 30 นาที	แตกตัวภายใน 30 นาที

จากผลการทดสอบตามตารางที่ 13 ทำการทดสอบการแตกตัวของแคปซูลบรรจุผงบัวบกพบว่าทุกแคปซูลผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามที่เภสัชตำรับอเมริกากำหนด (USP 36) คือ ไม่มีแคปซูลใดที่ใช้เวลาแตกตัวเกิน 30 นาที และไม่มีผงบัวบกตกค้างบนตะแกรง

3. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และควบคุมคุณภาพสารสกัดจากสมุนไพรบัวบกโดยใช้ HPLC

3.1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อทดสอบหาปริมาณสาร Triterpenoids ในบัวบก

เมื่อปรับเปลี่ยน condition ของ mobile phase เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการแยกสาร Triterpenoids ในบัวบก ซึ่งประกอบด้วย Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid พบว่าสภาวะที่เหมาะสมเป็นดังนี้

HPLC column: Water symmetry RP C18 (250 mm×4 mm I.D. ; particle size : 5 µm)

Mobile phase: A : Deionized water และ B : Acetonitrile

Flow rate: 1 ml/min

Injection volume: 20 µl

Detector wavelength: 206 nm

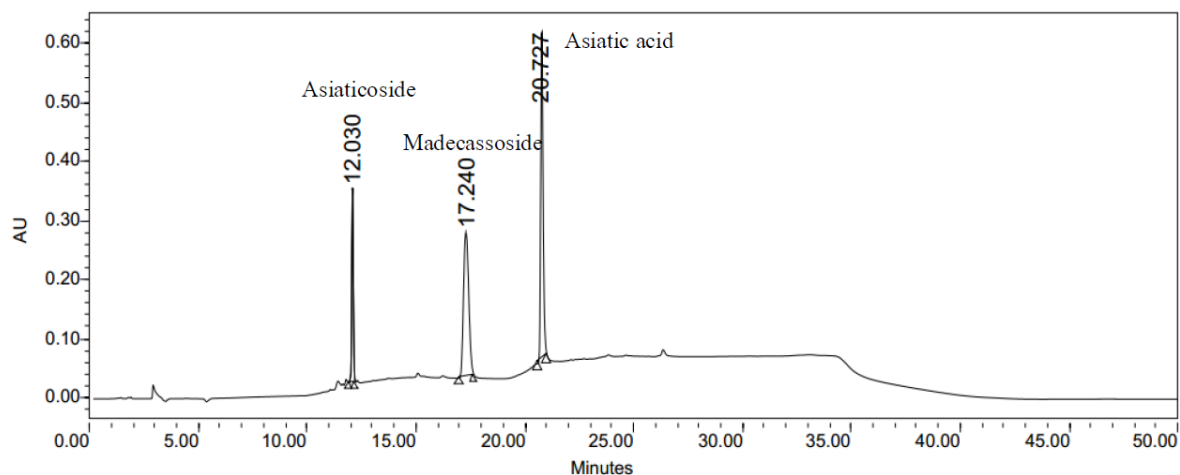
Running time: 50 นาที

ตารางที่ 14 แสดงสัดส่วน Mobile phase ที่ใช้ในการวิเคราะห์

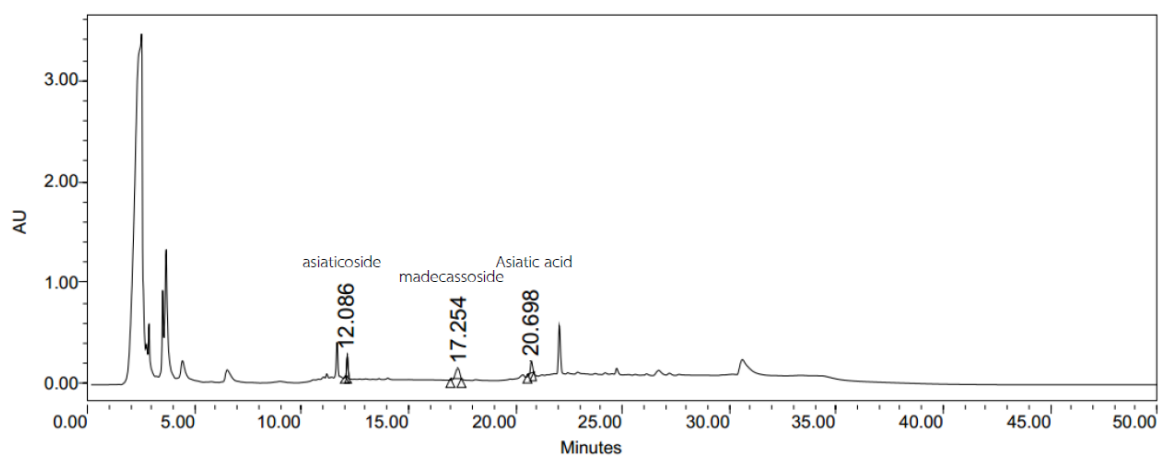
Time (min)	Pump A water (%)	Pump B Acetonitrile (%)
0	85	15
5	80	20
10	55	45
15	55	45
20	20	80
30	20	80
35	85	15
50	85	15

จากผลการทดลองวิเคราะห์สาร Triterpenoids ในบัวบกด้วยเทคนิค HPLC ตามสภาวะที่ใช้พบว่าสามารถแยก peak ของ Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid โดยมี

Retention time ที่เวลาประมาณ 12 นาที 17 นาทีและ 20 นาที ตามลำดับ และ chromatogram ของสารสกัด มีค่า Retention time ของ Triterpenoids ทั้ง 3 ชนิด ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน



รูปที่ 1 แสดงโครมาโตแกรมของ reference standards ซึ่งประกอบด้วย Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid



รูปที่ 2 แสดงโครมาโตแกรมของสารสกัดบัวบก ซึ่งประกอบด้วย Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid

3.2 การตรวจสอบความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ (Method Validation)

3.2.1 System suitability

ตารางที่ 15 ผลการทดลองวิเคราะห์สาร Triterpenoids ในบัวบกด้วยเทคนิค HPLC

Parameters	Result		
	Asiaticoside	Madecassoside	Asiatic acid
Plate count (N)	25860.93	9715.19	36479.20
Tailing factor (T)	1.06	1.15	1.23
Capacity factor (K')	3.19	4.99	6.20
Resolution (Rs)	-	-	-

จากผลการวิเคราะห์ system suitability พบว่ามี Plate count ของสาร Triterpenoids ทั้งสามชนิดมีค่ามากกว่า 2000 แสดงว่า คอลัมน์มีประสิทธิภาพในการแยกดี Tailing factor ของ Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid มีค่า 1.06 1.15 และ 1.23 ตามลำดับ ค่าที่ยอมรับได้คือ < 1 แสดงว่า peak ของสารทั้งสามชนิดมีความสมมาตรพอสมควร และ Capacity factor ซึ่งเป็นค่าที่บอกความสามารถในการ retain สารที่จะวิเคราะห์ไว้ในคอลัมน์ พบว่า Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid มีค่า Capacity factor เท่ากับ 3.19 4.99 และ 6.20 ตามลำดับ

3.2.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection)

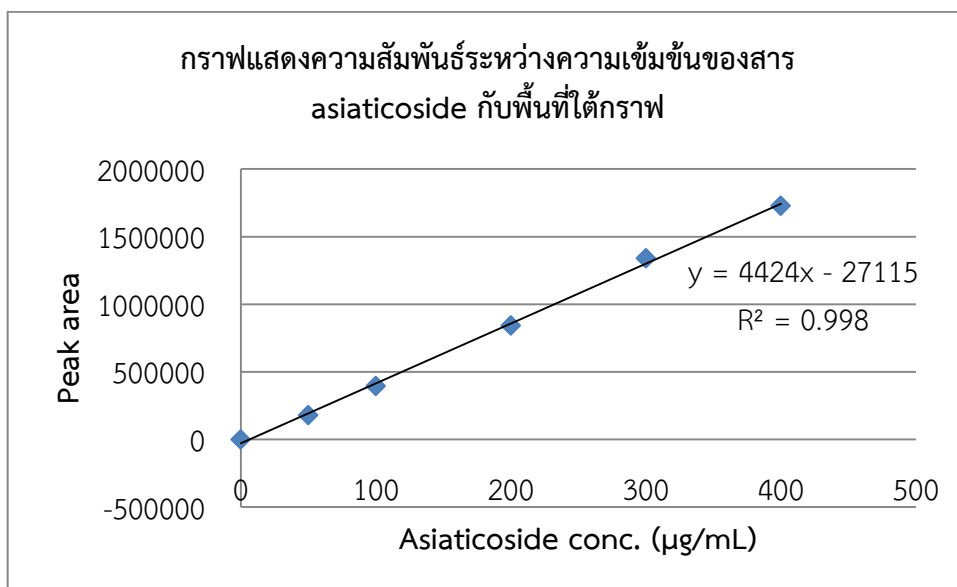
จากการผลการทดลองพบว่า ขีดจำกัดของการตรวจวัดสาร Triterpenoids โดยวิธีนี้คือ Asiaticoside 1.04 $\mu\text{g/mL}$, Madecassoside 1.33 $\mu\text{g/mL}$ และ Asiatic acid 0.41 $\mu\text{g/mL}$

3.2.3 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification)

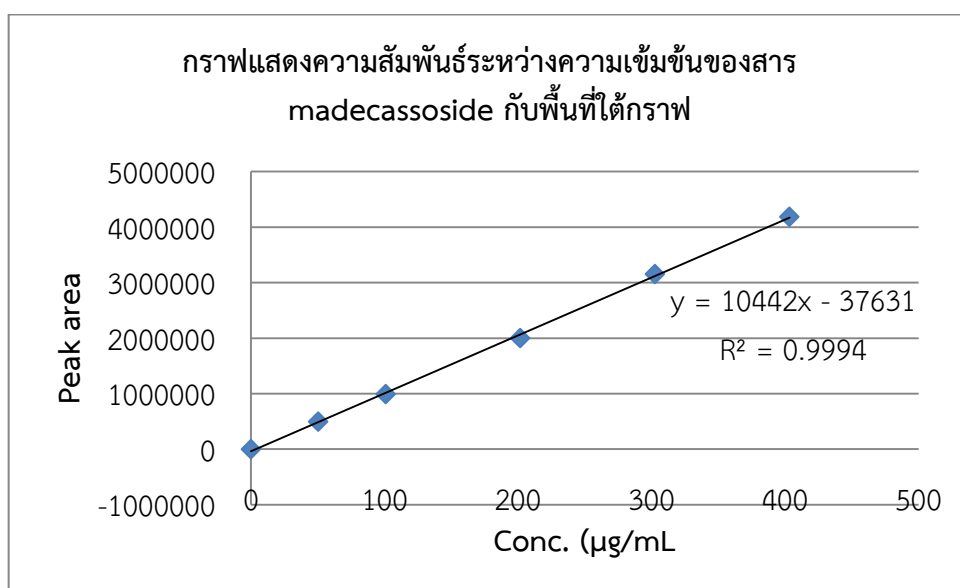
จากการผลการทดลองพบว่า ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณสาร Triterpenoids โดยวิธีนี้คือ Asiaticoside 3.47 $\mu\text{g/mL}$, Madecassoside 4.44 $\mu\text{g/mL}$ และ Asiatic acid 1.36 $\mu\text{g/mL}$

3.2.4 ความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

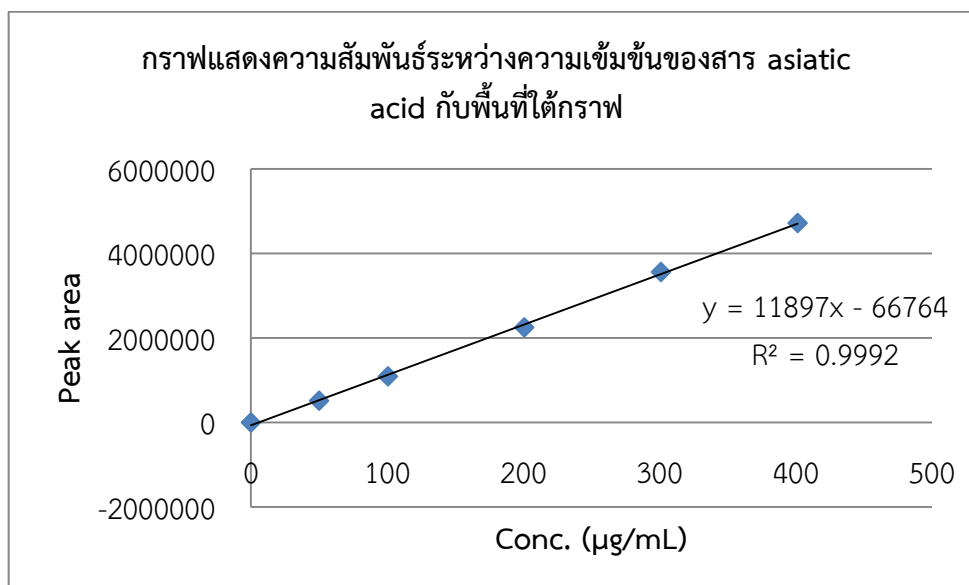
จากการทดลองหาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ของ Triterpenoids ทั้งสามชนิด ในช่วงความเข้มข้น 50 – 400 $\mu\text{g/mL}$ พบว่า $R^2 > 0.998$ โดยผลที่ได้เป็นดังรูปที่ 3,4,5



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร Asiaticoside กับพื้นที่ใต้กราฟ



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร Madecassoside กับพื้นที่ใต้กราฟ



รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร Asiatic acid กับพื้นที่ใต้กราฟ

3.2.5 ความแม่นยำ (Precision)

จากการทดสอบความแม่นยำ (Precision) ของวิธีการวิเคราะห์ ทั้งความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (Intraday precision) และความแม่นยำระหว่างวัน (Interday precision) พบว่าสารทั้งสามชนิดมีค่า %RSD อยู่ระหว่าง 0.1087 – 1.6460 ดังแสดงในตารางที่ 16

3.2.6 ความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (Intraday precision)

ตารางที่ 16 แสดงความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (Intraday precision) ของการวิเคราะห์ปริมาณ Asiaticoside Madecassoside และ Asiatic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สาร	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	mean	SD	%RSD
Asiaticoside	49.99	174217	176985	173006	174736	2039.64	1.16727
	199.98	842936	847576	865264	851925	11782.29	1.38302
	399.9583	1728288	1732382	1755988	1738886	14951.56	0.85984
Madecassoside	50.4167	492872	502022	500236	498377	4850.1	0.97318
	201.6667	2002865	2038864	2069869	2037199	33533	1.64603
	403.3333	3839941	3832935	3891978	3854951	32256.8	0.83676
Asiatic acid	50.1750	515797	511977	501547	509774	7376.09	1.4469
	200.7000	2252120	2275140	2314081	2280447	31319.6	1.3734
	401.4000	4343407	4367555	4380591	4363851	18866.7	0.4323

3.2.7 ความแม่นยำระหว่างวัน (Interday precision)

ตารางที่ 17 แสดงความแม่นยำระหว่างวันของการวิเคราะห์ปริมาณ Asiaticoside ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Asiaticoside		
Day	Conc. (µg/mL)	%RSD
1	49.9900	0.3299
	199.9800	0.1603
	399.9583	0.8395
2	49.9900	0.1087
	199.9800	0.1569
	399.9583	0.3801
3	49.9900	0.4967
	199.9800	0.4987
	399.9583	0.3930

ตารางที่ 18 แสดงความแม่นยำระหว่างวันของการวิเคราะห์ปริมาณ Madecassoside

Madecassoside		
Day	Conc. (µg/mL)	%RSD
1	50.42	0.7047
	201.67	0.5086
	403.33	1.3618
2	50.42	0.4214
	201.67	0.6474
	403.33	0.6897
3	50.42	1.0284
	201.67	0.3184
	403.33	0.1701

ตารางที่ 19 แสดงความแม่นยำระหว่างวันของการวิเคราะห์ปริมาณ Asiatic acid ความเข้มข้นต่างๆ

Asiatic acid		
Day	Conc. (µg/mL)	%RSD
1	50.1750	1.0612
	200.7000	0.5134
	401.4000	1.1541
2	50.1750	0.1887
	200.7000	0.3440
	401.4000	1.8433
3	50.1750	1.0684
	200.7000	0.9343
	401.4000	1.4811

3.2.8 ความถูกต้อง (Accuracy)จากการทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) พบว่า % recovery ของ Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid ดังตารางที่ 20 ตารางที่ 20 แสดง % recovery จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีควบคุมคุณภาพของสารสำคัญในบัวบก

Peak Conc.	% recovery		
	Asiaticoside	Asiatic acid	Madecassoside
50 µg/mL	94.35	74.40	93.53
	95.32	75.04	99.84
	90.44	94.66	103.91
200 µg/mL	96.55	97.90	98.52
	98.50	104.86	101.63
400 µg/mL	86.03	108.58	89.87
	85.14	108.87	87.82
	88.96	112.94	90.97
average	91.911±4.983	97.156±15.071	95.761±5.986

4 การทดสอบความคงตัว (Stability)

ผลการทดสอบความคงตัวของแคปซูลบับกที่เดือนที่ 0, 1, 3, และ 6

4.1 weight variation

ตารางที่ 21 ความคงตัวของ weight variation ของแคปซูลบับก เดือนที่ 0, 1, 3, และ 6

เดือน	สภาวะ	weight variation (n=3)
0		ผ่าน
1	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
3	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
6	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ไม่สามารถทดสอบได้

จากผลการทดสอบตาม ตารางที่ 21 ทำการทดสอบความแปรปรวนของน้ำหนักแต่ละแคปซูลในเดือนที่ 0, 1, 3, 6 ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง 25°C และ 45°C ตามลำดับ พบว่า มีเพียงในเดือนที่ 6 ที่อุณหภูมิ 45°C ที่ไม่สามารถนำมาทดสอบได้เนื่องจากแคปซูลเสียสภาพติดกันเป็นก้อนภายในกระปุก ส่วนในสภาวะอื่นๆ ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามเภสัชตำรับอเมริกาที่กำหนด USP36 คือ ไม่มีแคปซูลใดที่มีน้ำหนักมากกว่าหรือน้อยกว่า 10% ของน้ำหนักเฉลี่ย

4.2 Disintegration time

จากผลการทดสอบดังตารางที่ 22 พบว่า แคปซูลบรรจุผงบับกเมื่อเก็บไว้ในสภาวะต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 3 เดือนแคปซูลยังคงทดสอบระยะเวลาในแตกตัวผ่านตามข้อกำหนด แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน แคปซูลที่ถูกเก็บไว้ในสภาวะแรง อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เมื่อนำไปทดสอบระยะเวลาเวลาในแตกตัวพบว่าไม่ผ่านตามข้อกำหนดของ USP 36

ตารางที่ 22 การแตกตัวของแคปซูลบับก

เดือน	สภาวะ	Disintegration time (n=3)
0		ผ่าน
1	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% RH	ผ่าน

3	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	ผ่าน
	45 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	ผ่าน
6	อุณหภูมิห้อง	ผ่าน
	25 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	ผ่าน
	45 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	ไม่สามารถทดสอบได้

4.3 ปริมาณสารสำคัญ

การทดสอบคงตัวหลังเก็บแคปซูลที่ 3 สภาวะคือ อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 25⁰C ความชื้นสัมพัทธ์ 75⁰RH และอุณหภูมิ 45⁰C ความชื้นสัมพัทธ์ 75⁰RH ผลการทดลองเป็นดังตาราง 23 ตารางที่ 23 แสดง % สาร Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid คงเหลือที่เวลาและสภาวะต่างๆ

เดือน	สภาวะ	% Remaining		
		Asiaticoside	Madecassoside	Asiatic acid
0	เริ่มต้น	100	100	100
1	อุณหภูมิห้อง	100.06	102.47	112.44
	25 ⁰ C	99.89	100.28	121.95
	45 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	101.35	102.62	111.40
3	อุณหภูมิห้อง	102.90	105.96	119.64
	25 ⁰ C	97.78	93.19	86.10
	45 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	91.64	104.00	102.39
6	อุณหภูมิห้อง	94.73	92.23	98.85
	25 ⁰ C	97.97	93.35	115.01
	45 ⁰ C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 ⁰ RH	95.92	128.96	103.92

จากตารางแสดงเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Asiaticoside จากสภาวะเริ่มต้น พบว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องทั่วไปนาน 3 เดือน มีปริมาณ Asiaticoside เพิ่มขึ้นสูงสุดคือ 2.9% และการเก็บไว้ที่ 45⁰C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % RH นาน 3 เดือน มีปริมาณ Asiaticoside ลดลงต่ำสุดถึง 8.36% อย่างไรก็ตามการเก็บไว้ทุกสภาวะมีปริมาณสาร Asiaticoside เปลี่ยนแปลงไม่เกิน $\pm 10\%$

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Madecassoside จากสภาวะเริ่มต้น พบว่าการเก็บไว้ที่ 45⁰C ความชื้นสัมพัทธ์ 75 %RH นาน 6 เดือน มีปริมาณ Madecassoside เพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 28.96% และการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน มีปริมาณ Madecassoside ลดลงต่ำสุดคือ 7.73%

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Asiatic acid จากสภาวะเริ่มต้น พบว่าการเก็บไว้ที่ 25°C นาน 1 เดือน มีปริมาณ Asiatic acid เพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 21.95% และการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน มีปริมาณ Asiatic acid ลดลงต่ำสุดคือ 13.90%

5 การทดสอบหาสูตรตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกที่เหมาะสมที่สุด

5.1 การหาปริมาณ Film former และ Plasticizer ที่เหมาะสม จากการเติม Film former คือ Polyvinyl alcohol (PVA) MW 13,000 – 23,000 98%hydrolyzed และ Plasticizer คือ Glycerin โดยพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการผสมระหว่าง PVA ความเข้มข้น 10, 15 และ 20 % w/w ร่วมกับ Glycerin ความเข้มข้น 0, 4 และ 6 %w/w ดังนั้น สูตรที่เตรียมได้ทั้งหมดคือ 9 สูตร ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 24

ตารางที่ 24 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการผสมระหว่าง PVA (10, 15 และ 20 %w/w) ร่วมกับ Glycerin (0, 4 และ 6 %w/w ตามลำดับ)

สูตรที่	การสังเกตลักษณะทางกายภาพ					
	ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม	ความยืดหยุ่น	ความไม่เปราะแตกง่าย	ความสม่ำเสมอเรียบเนียน	ลอกออกจาก plate หลังอบได้ง่าย	คะแนนรวม
1	+++	+	+	+++	++	10
2	+++	+	+	+++	+++	11
3	+++	+++	+	+++	+++	13
4	+++	++	+++	+++	+++	23
5	+++	++	+++	+++	+++	23
6	+++	++++	+++	+++	+++	25
7	+++	+	+++	+++	+++	22
8	+++	+	+++	+++	+++	22
9	+++	+	+++	+++	+++	22

หมายเหตุ : ++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย +น้อยที่สุด 0ไม่แสดงลักษณะนั้น

ผลการทดสอบพบว่าแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะดีที่สุดคือแผ่นฟิล์มที่ได้จากสัดส่วน PVA 15 %w/w และ Glycerin 6 %w/w (สูตรที่ 6)

5.2 การหาปริมาณ Drying accelerator ที่เหมาะสม จากการเติม 95% Ethanol โดยพิจารณาจากค่า Drying time และลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของตำรับและแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ เมื่อเติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15 % w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA และ Glycerine ความเข้มข้น 15 และ 6%w/w ตามลำดับ (ดังตารางที่ 25 และ 26)

ตารางที่ 25 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ (ค่า pH สี/ความใส drying time ที่ 37 °C ความหนาหลังอบที่ 50 °C และค่าความหนืด)

ตำรับที่	pH	สี/ความใส	drying time ที่ 37 °C (นาท)	ความหนา (mm) อบ ที่ 50 °C (n=16)	ความหนืด		
					T(°C)	แรง (Pa)	ค่าความหนืด (cP)
1	6.1	ใส	75	0.094±0.062	19.71	3.478(1/7)	74.93
2	6.1	ใส	60	0.059±0.029	19.77	4.26(1/7)	91.77
3	6.1	ใส	60	0.076±0.074	19.72	4.287(1/7)	92.36
4	6.1	ใส	60	0.062±0.039	19.69	4.680(1/7)	100.8
5	5.9	ใส	60	0.083±0.022	20.02	5.121(1/6)	307
6	5.9	ใส	45	0.081±0.029	19.99	5.598(1/6)	335.6

ตารางที่ 26 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการผสมระหว่าง PVA 15 %w/w, Glycerin 6 %w/w และ 95%Ethanol (0, 2, 6, 10, 12 และ 15 %w/w ตามลำดับ)

สูตรที่	การสังเกตลักษณะทางกายภาพ					
	ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม	ความยืดหยุ่น	ความไม่เปราะแตกง่าย	ความสม่ำเสมอเรียบเนียน	ลอกออกจาก plate หลังอบได้ง่าย	คะแนนรวม
1	+++	+++	+++	+++	+++	15
2	+++	+++	+++	+++	+++	15
3	+++	+++	+++	+++	+++	15
4	+++	+++	+++	+++	+++	15
5	+++	+++	+++	+++	+++	15
6	+++	+++	+++	+++	+++	15

หมายเหตุ : ++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย +น้อยที่สุด 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

ผลการทดสอบพบว่าแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะทางกายภาพเหมาะสมที่สุดและมีค่า Drying time น้อยที่สุด คือแผ่นฟิล์มที่ได้จากสัดส่วน PVA, Glycerin และ 95% Ethanol ความเข้มข้น 15, 6 และ 15 %w/w ตามลำดับ (สูตรที่ 6)

5.3 การหาปริมาณ Thickening agent ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่า Drying time และลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของตำรับและแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ เมื่อเติม Xanthan gum ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 %w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerin และ 95% Ethanol ความเข้มข้น 15, 6 และ 15 %w/w ตามลำดับ (ดังตารางที่ 27 และ 28)

ตารางที่ 27 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ (ค่า pH ,สี/ความใส, Drying time ที่ 37 °C , ความหนาหลังอบที่ 50 °C และ ค่าความหนืด)

ตำรับที่	pH	สี/ความใส	drying time ที่ 37 °C (นาท)	ความหนา(mm) อบ ที่ 50 °C (n=16)	ความหนืด		
					T(°C)	แรง(Pa)	ค่าความหนืด (cP)
1	5.9	ใส	45	0.081±0.029	19.99	5.598(1/6)	335.6
2	5.9	ขุ่นเล็กน้อย	45	0.098±0.021	19.64	4.185(1/5)	698
3	5.9	สีเหลือง/ ขุ่นเล็กน้อย	45	0.114±0.025	20	3.332(1/3)	4,302
4	5.9	สีเหลือง/ ขุ่น	45	0.076±0.017	20	4.345(1/4)	2,017
5	5.9	สีเหลือง/ ขุ่น	30	0.102±0.035	22.15	2.657(1/2)	9,595

ตารางที่ 28 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการผสมระหว่าง PVA 15 %w/w, Glycerin 6 %w/w, 95%Ethanol 15 %w/w และ Xanthan gum (0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 %w/w ตามลำดับ)

สูตรที่	การสังเกตลักษณะทางกายภาพ					
	ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม	ความยืดหยุ่น	ความไม่เปราะแตกง่าย	ความสม่ำเสมอเรียบเนียน	ลอกออกจาก plate หลังอบได้ง่าย	คะแนนรวม
1	+++	++++	+++	+++	+++	16
2	+++	++++	+++	+++	+++	16
3	+++	++++	+++	+++	+++	16
4	+++	+++	+++	+++	+++	15
5	+++	+++	+++	+++	+++	15

หมายเหตุ : ++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย +น้อยที่สุด 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น
ผลการทดสอบพบว่าตำรับที่ 5 ซึ่งมีปริมาณ Xanthan gum มากที่สุด 1 %w/w ทำให้ตำรับมีความหนืดมากที่สุด และแผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะทางกายภาพไม่ต่างกัน จึงพิจารณาจากค่า

Drying time ที่น้อยที่สุด พบว่าแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะทางกายภาพเหมาะสมและมีค่า Drying time น้อยที่สุด คือ แผ่นฟิล์มที่ได้จากสัดส่วน PVA, Glycerin, 95% Ethanol และ Xanthan gum ความเข้มข้น 15, 6, 15 และ 1 %w/w ตามลำดับ (สูตรที่ 5) จึงพิจารณาเป็นสูตรตำรับมาสักพอกหน้าชนิดลอกออกที่เหมาะสมที่สุดเพื่อนำมาใส่สารสกัดสารสกัดบัวบกต่อไป

5.4 การหาปริมาณที่เหมาะสมของสกัดบัวบกในตำรับ โดยพิจารณาจากค่า Drying time คุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์ม

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ เมื่อเติมสารสกัด บัวบก 1, 2 และ 4%w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerin, 95% Ethanol, Xanthan gum, disodium EDTA และ Paraben concentration ความเข้มข้น 15%, 6%, 15%, 1%, 0.1% และ 1%w/wตามลำดับ (ดังตารางที่ 29, 30 และ 31)

ตารางที่ 29 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ (ค่า pH, สี/ความใส, Drying time ที่ 37 °C, ความหนาหลังอบที่ 50 °C และค่าความหนืด)

ตำรับที่	pH	สี/ความใส	drying time ที่ 37 °C (นาท)	ความหนา(mm) อบ ที่ 50 °C (n=16)	ความหนืด		
					T (°C)	แรง(Pa)	ค่าความหนืด (cP)
1	5.9	สีเหลือง/ขุ่น	30	0.099±0.006	20	1.683(1/4)	781
2	5.9	สีเขียวเข้ม	35	0.096±0.007	20	2.388(1/4)	1,085
3	5.9	สีเขียวเข้ม	35	0.123±0.015	20	1.031(1/4)	478.5
4	5.9	สีเขียวเข้ม	30	0.121±0.02	20	1.850(1/5)	308.6

ตารางที่ 30 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการผสมระหว่าง PVA 15 %w/w, Glycerin 6 %w/w, 95%Ethanol 15 %w/w, Xanthan gum 1 %w/w และสารสกัดบัวบก (0, 1, 2 และ 4 %w/w ตามลำดับ)

สูตรที่	การสังเกตลักษณะทางกายภาพ*					
	ความสามารถในการก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์ม	ความยืดหยุ่น	ความไม่เปราะแตกง่าย	ความสม่ำเสมอเรียบเนียน	ลอกออกจาก plate หลังอบได้ง่าย	คะแนนรวม
1	+++	+++	+++	+++	++++	16
2	+++	+++	+++	+++	++++	16

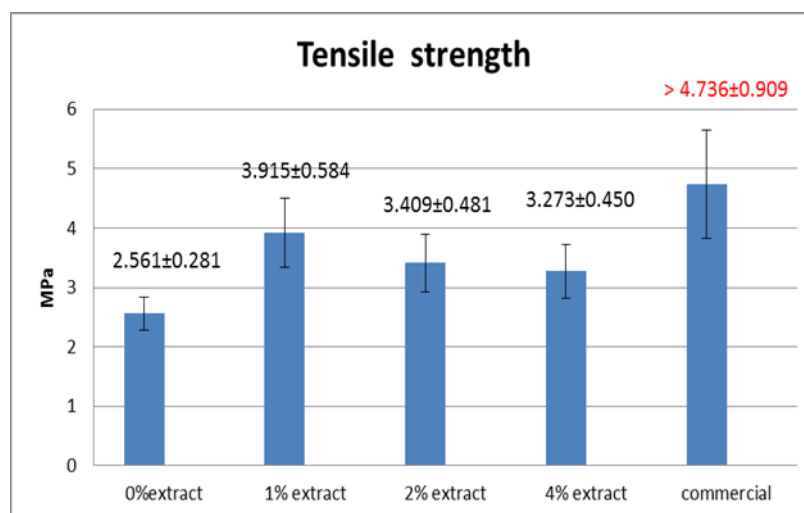
3	+++	+++	+++	+++	++++	16
4	+++	+++	+++	+++	++++	16

หมายเหตุ : +++++ มากที่สุด +++ มาก ++ น้อย +น้อยที่สุด 0 ไม่แสดงลักษณะนั้น

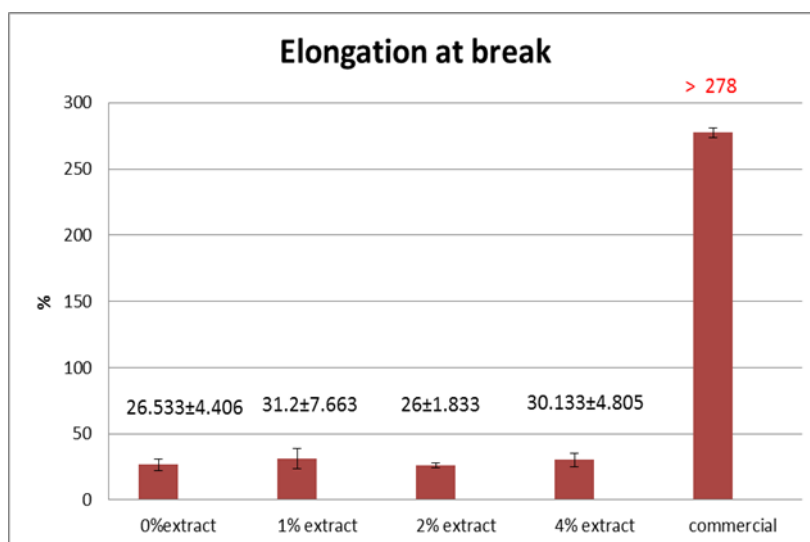
ตารางที่ 31 คุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ (ค่า Tensile strength ค่า Elongation at break และ ค่า Adhesion Strength)

ตำรับที่	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Adhesion Strength (N/m)
1	2.561±0.281	26.533±4.406	2.565±0.352
2	3.915±0.584	31.2±7.663	1.512±0.075
3	3.409±0.481	26±1.833	1.773±0.767
4	3.273±0.450	30.133±4.805	1.5±0.163
Commercial product*	> 4.736±0.909	>278	6.632±2.196

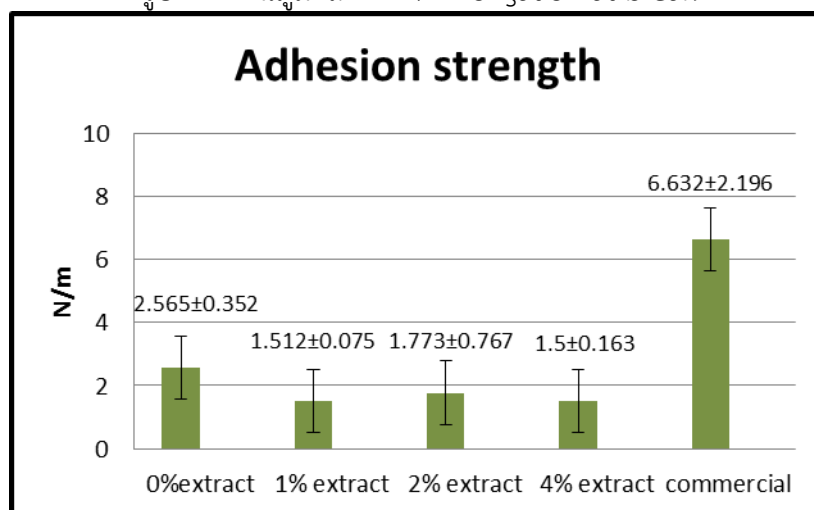
* การวัดผล Tensile strength และ Elongation at break ที่ Speed 10 mm/min ของ Commercial product พบว่า แผ่นฟิล์มยังไม่ขาด



รูปที่ 6 แผนภูมิแสดงค่า Tensile strength



รูปที่ 7 แผนภูมิแสดงค่า % Elongation at break



รูปที่ 8 แผนภูมิแสดงค่า Adhesion strength

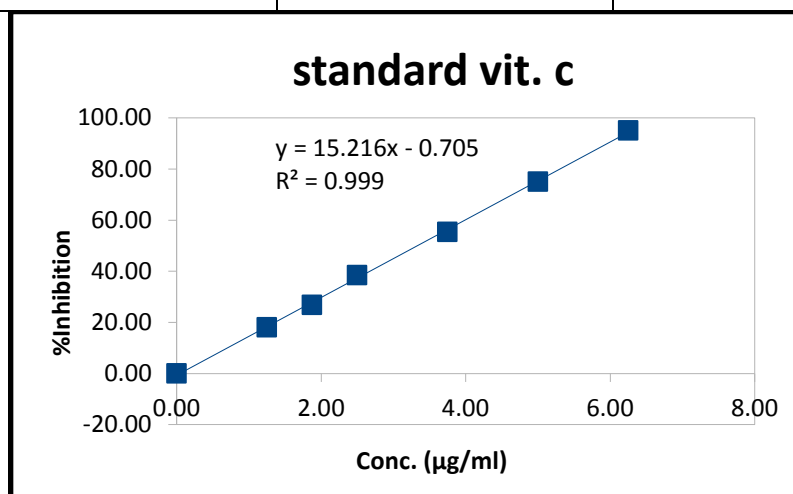
6 การทดสอบคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ Antioxidant และ ฤทธิ์ Antibacterial

6.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ Antioxidant ของสารสกัดบัวบกและแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก โดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay

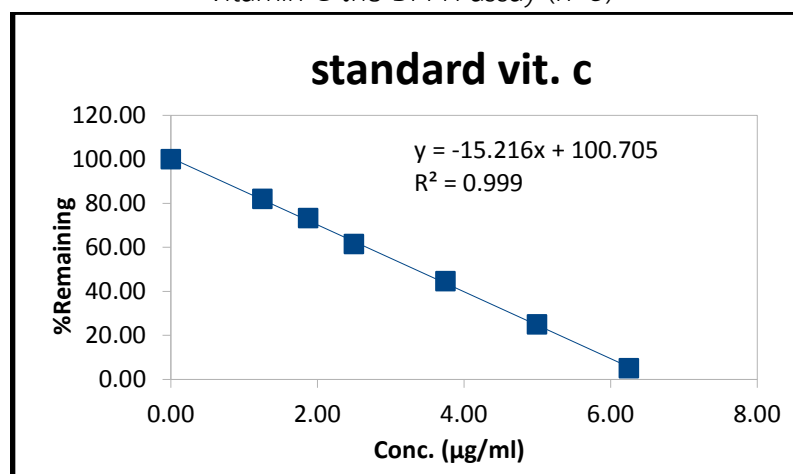
การรายงานค่า IC_{50} และ EC_{50} ของสารมาตรฐาน Vitamin C ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ Antioxidant โดยวิธี DPPH คำนวณ %Inhibition และ %Remaining จากค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารมาตรฐาน Vitamin C ได้ผลดังตารางที่ 30 จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Vitamin C ได้ผลดังรูปที่ 9 และ %Remaining กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Vitamin C ได้ผลดังรูปที่ 10 และคำนวณค่า IC_{50} และ EC_{50} จากกราฟ ได้ผลดังตารางที่ 32

ตารางที่ 32 DPPH assay ของสารมาตรฐาน Vitamin C (n=3)

Final conc. Vitamin C (µg/ml)	%Inhibition ($\bar{X} \pm SD$)	%Remaining ($\bar{X} \pm SD$)
0.00	-0.03±1.18	100.03±1.18
1.25	18.03±8.23	81.97±8.23
1.88	26.79±5.68	73.21±5.68
2.50	38.50±2.46	61.50±2.46
3.75	55.44±6.46	44.56±6.64
5.00	75.10±3.62	24.90±3.62
6.25	95.06±0.48	4.94±0.48



รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Inhibition กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Vitamin C โดย DPPH assay (n=3)



รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Remaining กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Vitamin C โดย DPPH assay (n=3)

ตารางที่ 33 ค่า IC_{50} และ EC_{50} ของสารมาตรฐาน Vitamin C โดย DPPH assay

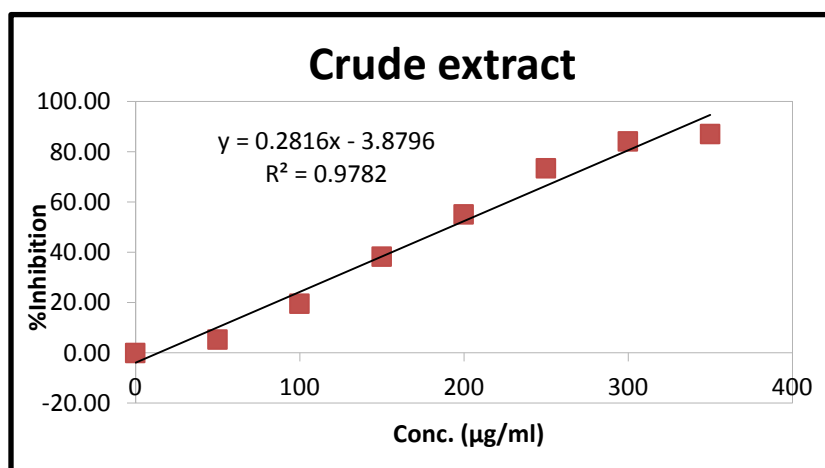
สมการเส้นตรง	R^2	ค่า IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ค่า EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
$y=15.216x-0.705$	0.999	3.33	-
$y=-15.216x+100.705$	0.999	-	3.33

การรายงานค่า IC_{50} และ EC_{50} ของสารตัวอย่าง

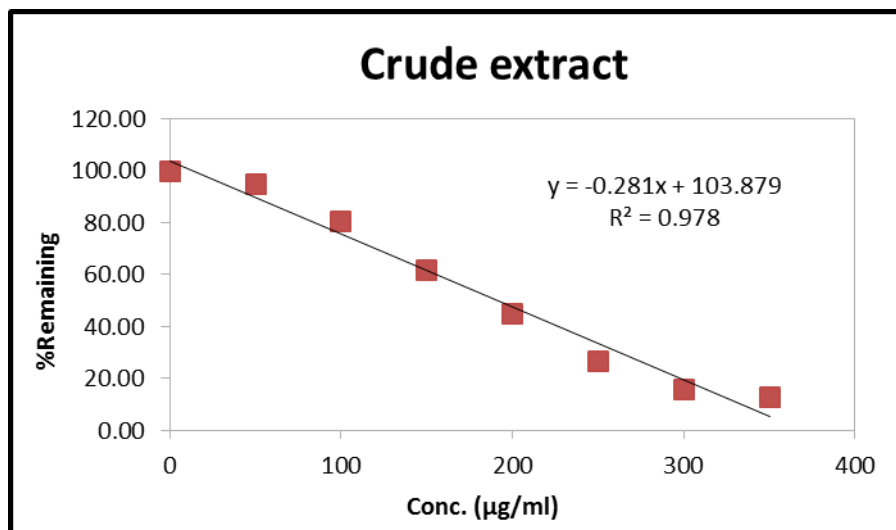
ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ Antioxidant โดยวิธี DPPH คำนวณ %Inhibition และ %Remaining จากค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารตัวอย่าง (สารสกัด บัวบกและสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก) ได้ผลดังตารางที่ 34-36 จากนั้นสร้าง กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง และ %Remaining กับ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ได้ผลดังรูปที่ 11-14 และคำนวณค่า IC_{50} และ EC_{50} จากกราฟ ได้ผลดังตารางที่ 36

ตารางที่ 34 DPPH assay ของสารสกัดบัวบก (n=3)

Final conc. Crude extract ($\mu\text{g/ml}$)	%Inhibition ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	%Remaining ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
0.00	0.03 $\pm$ 2.97	99.97 $\pm$ 2.97
50	5.31 $\pm$ 5.17	94.69 $\pm$ 5.17
100	19.62 $\pm$ 1.71	80.38 $\pm$ 1.71
150	38.31 $\pm$ 2.32	61.69 $\pm$ 2.32
200	55.08 $\pm$ 2.13	44.92 $\pm$ 2.13
250	73.43 $\pm$ 3.64	26.57 $\pm$ 3.64
300	84.21 $\pm$ 1.69	15.79 $\pm$ 1.69
350	87.15 $\pm$ 0.47	12.85 $\pm$ 0.47



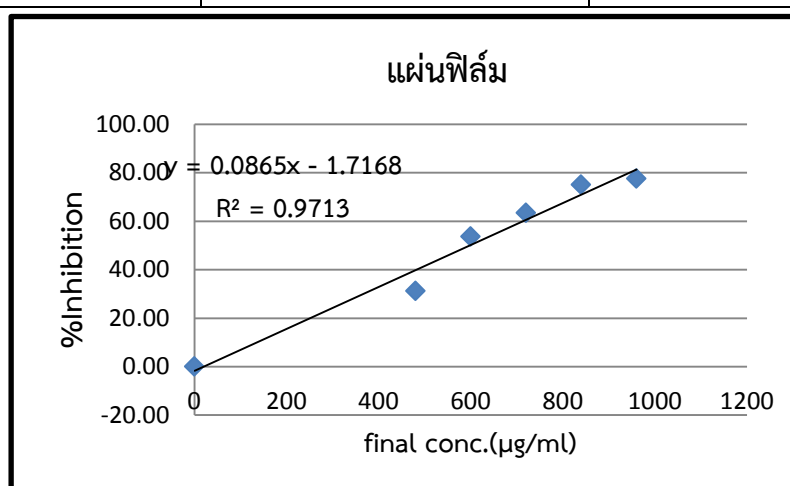
รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัดบัวบก โดย DPPH assay (n=3)



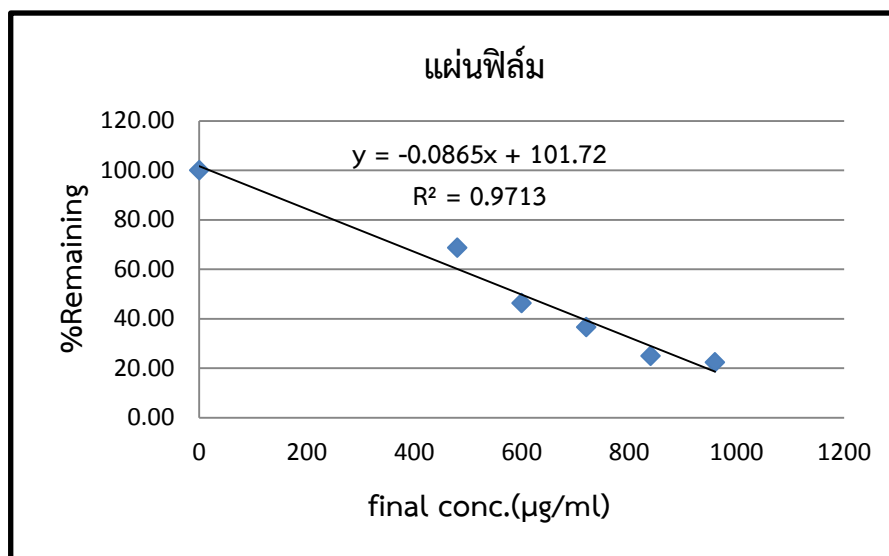
รูปที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Remaining กับความเข้มข้นของสารสกัดบัวบก โดย DPPH assay (n=3)

ตารางที่ 35 DPPH assay ของสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก (n=3)

Final conc. แผ่นฟิล์ม (µg/ml)	%Inhibition ($\bar{X} \pm SD$)	%Remaining ($\bar{X} \pm SD$)
0.00	0.00±2.14	100.00±2.14
480	31.27±1.35	68.73±1.35
600	53.70±2.33	46.30±2.33
720	63.50±0.79	36.50±0.79
840	75.10±1.16	24.90±1.16
960	77.64±1.94	22.36±1.94



รูปที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Inhibition กับความเข้มข้นของสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก โดย DPPH assay (n=3)



รูปที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของ %Remaining กับความเข้มข้นของสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก โดย DPPH assay (n=3)

ตารางที่ 36 ค่า IC_{50} และ EC_{50} ของสารตัวอย่าง โดย DPPH assay

สารตัวอย่าง	สมการเส้นตรง	R^2	ค่า IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ค่า EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
สารสกัดบัวบก	$y = 0.281x - 3.879$	0.978	191.74	-
	$y = -0.281x + 103.879$	0.978	-	191.74
แผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก	$y = 0.086x - 1.716$	0.971	601.349	-
	$y = -0.086x + 101.716$	0.971	-	601.349

การรายงานค่า VCEAC (Vitamin C equivalent antioxidant capacity) ของสารตัวอย่าง

ตารางที่ 37 ค่า VCEAC (mg Vitamin C/1 g sample) ของสารตัวอย่าง (n=3)

สารตัวอย่าง	ค่า VCEAC (mg/g)($\bar{X} \pm SD$)
สารสกัดบัวบก	15.69 $\pm$ 0.45
แผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก	4.99 $\pm$ 0.05

6.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ Antibacterial ของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก โดยวิธี Cylinder plate
 ตารางที่ 38 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ Antibacterial โดยวิธี Cylinder plate

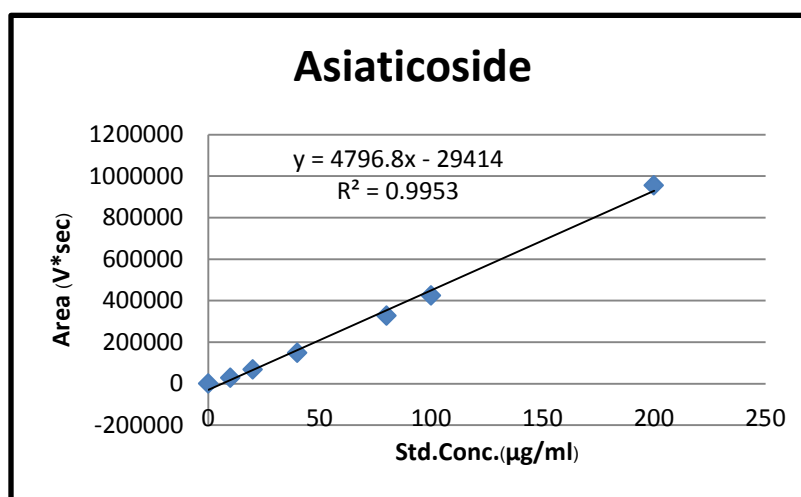
Inhibition zone (cm) สารที่ใช้ทดสอบ		เชื้อแบคทีเรีย	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Clindamycin (Positive control)		6.1	4
ไม่ใส่สารสกัดบัวบก (Negative control)		2.5	1.8
สารสกัดบัวบก 1%	n1	0.9	0.9
	n2	0.9	0.8
	n3	0.9	0.8
	เฉลี่ย $\pm$ SD	0.9	0.83 $\pm$ 0.06
สารสกัดบัวบก 2%	n1	1.2	1.4
	n2	1.0	1.2
	n3	1.5	1.9
	เฉลี่ย $\pm$ SD	1.23 $\pm$ 0.25	1.5 $\pm$ 0.36
สารสกัดบัวบก 4%	n1	1.6	1.8
	n2	2.2	1.8
	n3	1.0	1.9
	เฉลี่ย $\pm$ SD	1.6 $\pm$ 0.6	1.83 $\pm$ 0.06

7 การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีในแผ่นฟิล์ม ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

7.1 จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid สามารถสร้างกราฟมาตรฐานและได้สมการดังนี้

ตารางที่ 39 ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐาน Asiaticoside

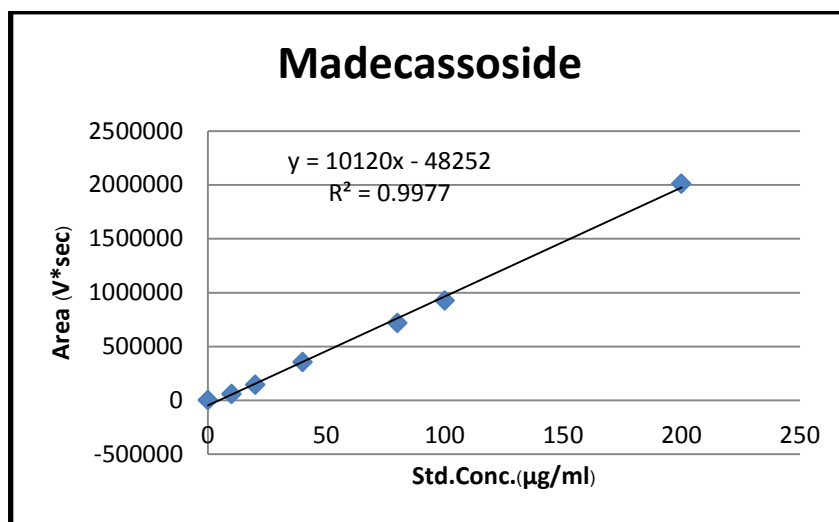
Asiaticoside ($\mu\text{g/ml}$)	RT	Area (V*Sec)
0	0	0
10	12.008	28319
20	11.965	67935
40	11.925	148926
80	11.951	326979
100	11.957	424794
200	11.974	955684



รูปที่ 15 กราฟมาตรฐาน Asiaticoside

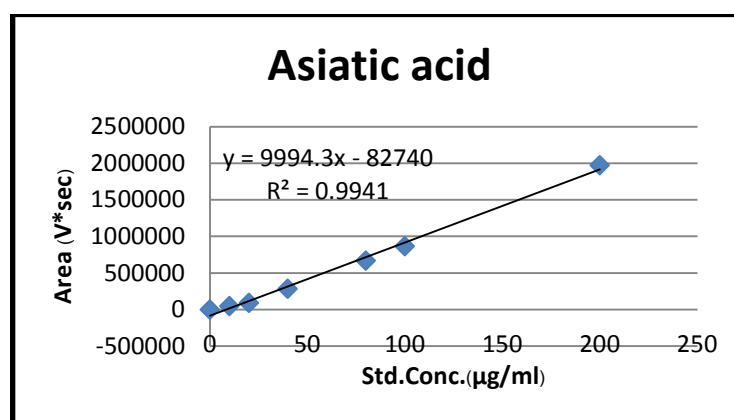
ตารางที่ 40 ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐาน Madecassoside

Madecassoside ($\mu\text{g/ml}$)	RT	Area (V*Sec)
0	0	0
10	16.527	57860
20	16.654	144516
40	16.683	355972
80	16.834	718920
100	16.893	927236
200	16.996	2011952



รูปที่ 16 กราฟมาตรฐาน Madecassoside
 ตารางที่ 41 ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐาน Asiatic acid

Asiatic acid (µg/ml)	RT	Area (V*Sec)
0	0	0
10	20.325	44901
20	20.668	89309
40	20.584	281414
80	20.575	666306
100	20.586	866296
200	20.596	1970054



รูปที่ 17 กราฟมาตรฐาน Asiatic acid

7.2 จากการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างจากแผ่นฟิล์มที่มี 1% 2% และ 4%w/w ของสารสกัดบัวบกขนาด 2x2 cm (n=3) ได้ผลดังนี้
 ตารางที่ 42 ผลการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างจากแผ่นฟิล์มที่มี 1% 2% และ 4%w/w ของสารสกัดบัวบก

*หมายเหตุ: ผลการวิเคราะห์ พบว่า ไม่เกิด peak area ของ Asiatic acid

แผ่นฟิล์ม (2x2 cm)	Sample	น้ำหนัก (mg)	ความหนา(mm) $\bar{X} \pm SD$	Asiaticoside Area (V*Sec)	Madecassoside Area (V*Sec)
สารสกัด1%	1	33.72	0.093±0.006	44805	312921
	2	40.53	0.110±0.010	67215	472562
	3	36.36	0.090±0.000	62503	449041
สารสกัด2%	4	39.7	0.107±0.006	71012	575147
	5	44.63	0.113±0.006	73666	593132
	6	52.41	0.123±0.006	85568	839849
สารสกัด4%	7	51.48	0.120±0.010	207527	1451142
	8	44.9	0.107±0.015	182974	1234354
	9	51	0.110±0.010	206715	1489586

ผลการคำนวณหาปริมาณ Asiaticoside และ Madecassoside ต่อหน่วยพื้นที่ของแผ่นฟิล์มที่มี 1, 2 และ 4 %w/w ของสารสกัดบัวบก ขนาด 4 cm² (2x2 cm) จากสมการมาตรฐาน ได้ดังนี้

- Asiaticoside : $y = 4796.x - 29414$ $R^2 = 0.995$
- Madecassoside: $y = 10120x - 48252$ $R^2 = 0.99$

ตารางที่ 43 ปริมาณสาร Asiaticoside ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก

แผ่นฟิล์ม (2x2 cm)	Sample	Asiaticoside Area (V*Sec)	Asiaticoside conc. ($\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{g}/5\text{ ml}$ ($\mu\text{g}/4\text{ cm}^2$)	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
สารสกัด1%	1	44805	15.47518766	77.37594	19.34398	22.83 $\pm$ 3.08
	2	67215	20.14783153	100.7392	25.18479	
	3	62503	19.16534612	95.82673	23.95668	
สารสกัด2%	4	71012	20.93953294	104.6977	26.17442	27.67 $\pm$ 2.02
	5	73666	21.49291076	107.4646	26.86614	
	6	85568	23.97456214	119.8728	29.9682	
สารสกัด4%	7	207527	49.40387823	247.0194	61.75485	59.55 $\pm$ 3.63
	8	182974	44.28440367	221.422	55.3555	
	9	206715	49.23457048	246.1729	61.54321	

ตารางที่ 44 ปริมาณสาร Madecassoside ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก

แผ่นฟิล์ม (2x2 cm)	Sample	Madecassoside Area (V*Sec)	Madecassoside conc. ($\mu\text{g/mL}$)	μg in 5 ml (in 4 cm^2)	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\bar{X} \pm \text{SD}$
สารสกัด1%	1	312921	35.68903162	178.4452	44.61129	56.79 $\pm$ 10.64
	2	472562	51.46383399	257.3192	64.32979	
	3	449041	49.13962451	245.6981	61.42453	
สารสกัด2%	4	575147	61.6006917	308.0035	77.00086	88.64 $\pm$ 18.27
	5	593132	63.37786561	316.8893	79.22233	
	6	839849	87.75701581	438.7851	109.6963	
สารสกัด4%	7	1451142	148.1614625	740.8073	185.2018	177.86 $\pm$ 16.99
	8	1234354	126.7397233	633.6986	158.4247	
	9	1489586	151.9602767	759.8014	189.9503	

5 สรุปผลและอภิปรายผลการทดลอง

1. การอบบั่วบักที่อุณหภูมิ 50° C ทำให้ความชื้นผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ซึ่งสอดคล้องกับ % compressibility และค่า Hausner ratio ที่จัดว่าผงบั่วบักมีการไหลค่อนข้างดี แต่พบว่าผงบั่วบักมี Angle of repose นอกเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งตามเกณฑ์เภสัชตำรับอเมริกา (USP 36) กำหนดว่า หากมี Angle of repose 25-30 ถือว่ามีการไหลที่ดีมาก แต่ผงบั่วบักจากการวิจัยมี Angle of repose 15.13 ซึ่งน้อยกว่าเกณฑ์ที่มีกำหนดไว้ในเภสัชตำรับอเมริกา (USP 36) อาจเกิดจากผงบั่วบักไม่ต่อเนื่องหรือตั้งกรวยไว้ต่ำเกินไปจึงทำให้เกิดการอัดแน่นของผงบั่วบัก
2. ลักษณะทางกายภาพของแคปซูลและลักษณะผงบั่วบักที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 25° C เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่ที่อุณหภูมิ 45° C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในเดือนที่ 6 แคปซูลเหนียวจับตัวเป็นก้อน ซึ่งไม่สามารถหาความแปรปรวนของน้ำหนักได้ และเมื่อนำมาทดสอบการแตกตัวพบว่าไม่ผ่านมาตรฐาน ซึ่งอาจเกิดจากการที่ความชื้นสามารถผ่านเข้าไปในภาชนะบรรจุได้
3. เมื่อทำการสกัดหาปริมาณสาร Tripernoids 3 ชนิด โดยใช้วิธี microwave-assisted extraction (MAE) พบว่าได้ปริมาณสาร Asiaticoside 4.37 ± 0.08 mg/g dry powder, Madecassoside 2.51 ± 0.08 mg/g dry powder และได้ Asiatic acid 1.10 ± 0.11 mg/g dry powder ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ P. Puttarak ซึ่งใช้วิธีการสกัดวิธีเดียวกันนี้ สาเหตุอาจเนื่องมาจากส่วนของพืชที่นำมาสกัดต่างกันโดยการศึกษาในครั้งนี้ผู้วิจัยใช้ทุกส่วนของบั่วบักยกเว้นราก มีการศึกษาว่าปริมาณสาร Triterpenoids ในส่วนต่างๆ ของบั่วบักจะมีปริมาณไม่เท่ากันโดยพบว่าส่วนของใบจะมีปริมาณมากที่สุดถึง 82.6% เมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ รองลงคือ ลำต้นและราก ซึ่งพบ 15.9% และ 1.5% ตามลำดับ
4. การตรวจสอบความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Triterpenoids ในบั่วบักโดยใช้เทคนิค HPLC
 - 4.1. system suitability พบว่า Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid มี Retention time ที่ 12 นาที 17 นาทีและ 20 นาทีตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า Resolution (Rs) ระหว่าง Asiaticoside กับ Madecassoside เป็น 10.38 และ ระหว่าง Madecassoside กับ Asiatic acid เป็น 6.13 ซึ่งโดยทั่วไปค่าที่ยอมรับได้คือ >2 แต่ถ้ามากเกินไปจะทำให้สารใช้เวลาในการถูกชะล้างออกจากคอลัมน์นานเกินไปซึ่งจะทำให้เปลือง mobile phase
 - 4.2. accuracy and precision พบว่ามีค่า %recovery ของ Asiaticoside, Madecassoside และ Asiatic acid เฉลี่ยเป็น 91.911 ± 4.983 , 97.156 ± 15.071 และ 95.761 ± 5.986

ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วง $100 \pm 10\%$ และพบว่าค่า %RSD ของสารทั้งสามชนิด < 2 ในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลอง แสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์มีความถูกต้องและความแม่นยำสูง

5. การทดสอบความคงตัวของสาร Triterpenoids พบว่าอุณหภูมิและความชื้นมีผลต่อความคงตัวของสาร Asiaticoside โดยพบว่า ที่อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% มีปริมาณสาร Asiaticoside ในเดือนที่ 3 ลดลง 8.46% และเดือนที่ 6 ลดลง 4.18% แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ Asiaticoside ที่ลดลงนั้นยังคงอยู่ในช่วง $\pm 10\%$
6. การศึกษาหาสูตรตำรับมาส์กพอกหน้าแบบลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก จะพิจารณาเลือกปริมาณของส่วนประกอบต่างๆในตำรับ จากระยะเวลาในการแห้งเป็นแผ่นฟิล์ม (Drying time) การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ และคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้ในขั้นตอนการหาปริมาณ Film former และ Plasticizer โดยผู้วิจัยได้เลือก Film former เป็น Polyvinyl alcohol (PVA) เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำให้ความเหนียวแก่ตำรับ สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง และมักถูกนำมาใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง แต่มีข้อจำกัดของแผ่นฟิล์มที่ได้จะมีความแข็งเปราะ จึงเติม Plasticizer เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่น สารที่ใช้เป็น Plasticizer คือ Glycerin จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จากการสัมผัส พบว่าเมื่อเติมปริมาณของ Glycerin ในสัดส่วนที่มากขึ้น จะทำให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นมากขึ้น และเมื่อเพิ่มปริมาณของ PVA ในสัดส่วนที่มากขึ้นทำให้ความเปราะแตกง่ายของแผ่นฟิล์มลดลง แต่การเพิ่มปริมาณของ PVA จะทำให้สัดส่วนของ Plasticizer ต่อ Film former ลดลง อาจส่งผลให้ความยืดหยุ่นลดลงได้ ดังนั้นปริมาณของ Film former และ Plasticizer ที่เหมาะสม คือ PVA 15% w/w และ Glycerin 6% w/w (40% of PVP) ตามลำดับ จากนั้นได้ทำการศึกษาหาปริมาณ Drying accelerator ที่เหมาะสมจากการเติม 95% Ethanol พิจารณาจากค่า Drying time และลักษณะทางกายภาพของแผ่นฟิล์ม ผลการศึกษาพบว่า การเติม 95% Ethanol ทำให้ตำรับมี pH ประมาณ 5.9-6.1 และค่าความหนืดของตำรับที่แรงใกล้เคียงกันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มสัดส่วนของ 95% Ethanol อาจเนื่องจากสัดส่วนของน้ำในตำรับที่ลดลง และมีการระเหยของ Ethanol ไปบางส่วน นอกจากนี้พบว่าสัดส่วนของ 95% Ethanol ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยลด Drying time ที่ 37°C โดยต่ำสุดอยู่ที่ 45 นาที (95% Ethanol 15 %w/w) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ Ethanol ในตำรับเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลลด Drying time แต่มีความสัมพันธ์แบบ Nonlinear relationship และหากใส่ Ethanol มากเกินไปจะทำให้ PVA ในตำรับจับกันเป็นก้อนสีขาวได้และอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง แผ่นฟิล์มที่ได้จากการอบให้แห้งที่ 50°C มีความหนาอยู่ในช่วง 0.059-0.094 mm และลักษณะทางกายภาพภายนอกของแผ่นฟิล์มไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อสัดส่วนของ 95% Ethanol เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงพิจารณาเลือก Drying accelerator ที่เหมาะสม ที่ทำให้ Drying time น้อยที่สุด คือ 95% Ethanol ปริมาณ 15 %w/w ต่อมาศึกษาหาปริมาณ

Thickening agent ที่เหมาะสม เมื่อเพิ่มสัดส่วนของ xanthan gum พบว่าค่าความหนืดของตำรับ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตำรับมีความข้นเพิ่มขึ้น pH ไม่เปลี่ยนแปลง Drying time ที่ 37°C ลดลง (ต่ำสุด 30 นาที) และแผ่นฟิล์มที่ได้จากการอบให้แห้งที่ 50 °C มีความหนาอยู่ในช่วง 0.076-0.114 mm นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะทางกายภาพภายนอกของแผ่นฟิล์มเมื่อสัมผัสมีการเปลี่ยนแปลง เล็กน้อย ดังนั้นจึงเลือกปริมาณของ xanthan gum ที่ทำให้ตำรับมีความหนืดสูงสุดและทำให้ Drying time น้อยที่สุด คือ xanthan gum 1 % มาศึกษาต่อ เมื่อได้ตำรับพื้นที่เหมาะสม สุดท้ายจะเป็นการศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของสกัดบัวบกในตำรับ รวมทั้งมีการเติม Chelating agent คือ Disodium EDTA ความเข้มข้น 0.1% และ Preservative คือ Paraben concentration ความเข้มข้น 1% ร่วมด้วย โดยจะพิจารณาจากค่า Drying time คุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์ม เมื่อเติมสารสกัดบัวบก (สกัดด้วย 95% Ethanol) ความเข้มข้น 0,1,2, 4 %w/w พบว่าตำรับมีสีเขียวเข้มขึ้น ค่าความหนืดของตำรับมีแนวโน้มลดลง ซึ่งลดลงมาจาก ตำรับที่ไม่ได้ใส่สารเพิ่มความคงตัวต่างๆ (เทียบเฉพาะตำรับที่ไม่ใส่สารสกัดบัวบก) pH ไม่เปลี่ยนแปลง Drying time ที่ 37°C ประมาณ 30-35 นาที แผ่นฟิล์มที่ได้จากการอบให้แห้งที่ 50 °C มีความหนาอยู่ในช่วง 0.096-0.121 mm ลักษณะทางกายภาพภายนอกของแผ่นฟิล์มเมื่อสัมผัส ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้เทียบกับผลิตภัณฑ์ ที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่าค่า Tensile strength, Elongation at break และ Adhesion Strength ของแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบกทุกความเข้มข้น มีค่าน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายใน ท้องตลาดที่ Speed 10 mm/min ถ้าเทียบแค่ระหว่างความเข้มข้นพบว่า ค่า Tensile strength และ Elongation at break ของตำรับที่ 2 (สารสกัดเข้มข้น 1%) สูงสุดอยู่ที่ 3.915 ± 0.584 MPa และ 31.2 ± 7.663 % ตามลำดับ ส่วนค่า Adhesion Strength ของตำรับที่ 1 (ไม่ใส่สารสกัด) สูงสุดอยู่ที่ 2.565 ± 0.352 N/m ดังนั้นหากพิจารณาเลือกตำรับมาสักพอกหน้าชนิดลอกออกที่มี ส่วนผสมของสารสกัดบัวบก จากข้อมูลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์ม สูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุดคือ สูตรตำรับที่ 2 ประกอบด้วย สารสกัดบัวบก 1%, PVA 15%, Glycerin 6% , 95%Ethanol 15%, Xanthan gum 1%, Disodium EDTA 0.1% และ Paraben concentration 1% w/w

7. การทดสอบฤทธิ์ Antioxidant นำสารสกัดบัวบกและสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบกมา วิเคราะห์ฤทธิ์Antioxidant โดยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดบัวบกมี ค่า IC50/EC50 และค่า VCEAC เท่ากับ $191.74 \mu\text{g/ml}$ และ $15.69 \pm 0.45 \text{ mg/g}$ ตามลำดับ ส่วนสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสาร สกัดบัวบกมีค่า IC50/EC50 และ ค่า VCEAC เท่ากับ $601.349 \mu\text{g/ml}$ และ $4.99 \pm 0.05 \text{ mg/g}$ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าทั้งสารสกัดบัวบกและสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบก จะมี ฤทธิ์ Antioxidant ที่ความเข้มข้นสูงๆ และเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Vitamin C แสดงให้เห็นว่า

สารสกัดบัวบกและสารละลายจากแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดบัวบกจะมีฤทธิ์ Antioxidant ของสาร 1 g เทียบกับฤทธิ์ Antioxidant ของ Vitamin C เป็น 15.69 ± 0.45 และ 4.99 ± 0.05 mg ตามลำดับ ซึ่งถือว่าปริมาณน้อย

8. ศึกษาฤทธิ์ Antibacterial เมื่อนำสูตรตำรับมาสักพอกหน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกในรูปของเหลว 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1 %, 2 %, และ 4 % w/w, Negative control คือ ตำรับที่ไม่ได้ใส่สารสกัดบัวบก Positive control คือ ยา 1% clindamycin มาศึกษาโดยวิธี cylinder plate method พบว่า ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.aureus* และ *E.coli* ของตำรับที่มีสารสกัดบัวบกทั้ง 3 ความเข้มข้น มี inhibition zone น้อยกว่าตำรับที่ไม่ใส่สารสกัดบัวบก (Negative control) แสดงให้เห็นว่า inhibition zone ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลมาจากฤทธิ์ Antibacterial ของ Alcohol และ Preservative ในตำรับ ไม่ใช่ฤทธิ์ของสารสกัดบัวบก อาจเกิดจากความเข้มข้นของสารสกัดบัวบกในตำรับหรือปริมาณสารสำคัญในสารสกัดบัวบกน้อยเกินไปที่จะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้หรือตำรับมีความหนืดทำให้สารสำคัญถูกปลดปล่อยออกมาได้ไม่เต็มที่
9. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ Asiaticoside, Asiatic acid และ Madecassoside ที่มีในแผ่นฟิล์มจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในแผ่นฟิล์ม ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) สามารถหาปริมาณ ของ Asiaticoside และ Madecassoside ได้แต่ไม่สามารถหาปริมาณ Asiatic acid อาจเนื่องมาจากปริมาณของ Asiatic acid ในแผ่นฟิล์มมีน้อยมาก จนไม่เกิด peak area ของ Asiatic acid อย่างชัดเจน (ภาคผนวก) จากการวิเคราะห์พบว่าในแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดเข้มข้น 1 %w/w (n=3) มีปริมาณ Asiaticoside และ Madecassoside เฉลี่ย เท่ากับ 22.83 ± 3.08 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ และ 56.79 ± 10.64 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ตามลำดับ แผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดเข้มข้น 2 %w/w (n=3) มีปริมาณ Asiaticoside และ Madecassoside เฉลี่ย เท่ากับ 27.67 ± 2.02 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ และ 88.64 ± 18.27 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ตามลำดับ และแผ่นฟิล์มที่มีสารสกัดเข้มข้น 4%w/w (n=3) มีปริมาณ Asiaticoside และ Madecassoside เฉลี่ย เท่ากับ 59.55 ± 3.63 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ และ 177.86 ± 16.99 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ตามลำดับ

6 เอกสารอ้างอิง

1. กัลยา อนุลักขณาปกรณ. สมุนไพรน้ำรู้(3)บัวบก. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. นนทบุรี, 2550:1-60.
2. จันทรพร ทองเอกแก้ว. บัวบก: สมุนไพรมากคุณประโยชน์*Centella asiatica* (Linn.) Urban: A Very Useful Herb. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 2556; 3:70-5.
3. ธนียา หาวิเศษ. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและฤทธิ์ป้องกันภาวะสมองเสื่อมของบัวบก วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสิริวิทยาทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2549.
4. นุศวดี พจนานุกิจ, สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดขมชั้นและใบบัวบก. Naresuan University Journal 2553:1-8.
5. ปัญญกานต์ ผลพงษ์และรัตนา ศิริพันธุ์. ทำการศึกษาพัฒนาสูตรตำรับฟิล์มพอกหน้าจากสารสกัดขมชั้น, 2546.
6. ปรีชา พหลเทพ. โพลีเมอร์ (แบบศึกษาด้วยตนเอง). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:ประชาชน, 2530.
7. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, นิธิยา รัตนพานนท์. Xanthan gum [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 17 ส.ค.2557]. เข้าถึงได้
จาก: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1112/xanthan-gum>.
8. พลกฤต พลตรีและศตายุ นาโค. การพัฒนาแผ่นฟิล์มบรรจุสารสกัดชาเพื่อใช้ทางทันตกรรม. (โครงการพิเศษปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต). กรุงเทพฯ:คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2548.
9. ภัทรชัย กิรติสิน. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์: Textbook of medical bacteriology. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล, 2551.
10. สถาบัน สุขภาพ วิถี ไทย. สถานการณ์ และ ผล สำเร็จ การ ดำเนิน งาน ตาม แผน ยุทธศาสตร์ชาติ การ พัฒนา ภูมิปัญญา ไทย สุขภาพ วิถี ไทย พ. ศ. 2550-2554 ใน ช่วง ปี พ. ศ. 2550-2552. สถาบัน สุขภาพ วิถี ไทย, 2009.
11. Babu TD, Kuttan G, Padikkala J. Cytotoxic and anti-tumor properties of certain taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica*(L.) Urban. J Ethnopharmacol 1995;48(1):53-57
12. Beringhs AOR, Rosa JM, Stulzer HK, Budal RM and Sonaglio D. Green Clay and Aloe Vera Peel-Off Facial Masks: Response Surface Methodology Applied to the Formulation Design. AAPS PharmSciTech 2013;14:445-55.
13. Chatterjee, TK., Chakraborty A, Pathak M. Effect of plant extract *Centella asiatica* (Linn.) on cold restraint stress ulcer Rats. Ind. J.EXP.Biol.1992.889-91.
14. DeNaverre MG. The chemistry and manufacture of cosmetics. 2nded. Orlando:continental, 1975.

15. Hodgkinson N. and Taylor M. Polyvinyl Alcohol[internet].2000 [cited 2014 Aug 22]. Available from: <http://www.azom.com/detail.asp?ArticleID=266-60K>.
16. Labadie RP, Nat JM.vd., Simons JM, Kroes BH, Kosasi S, et al. An Ethnopharmacognostic approach to the search for immunomodulators of plant origin. *Plant Med* 1989;55:339-348.
17. Lee MK, Kim SR, Sung SH, Lim D, Kim H, et al. Asiatic acid derivatives protect cultured cortical neurons from glutamate-induced excitotoxicity. *Res CommunMolPatholPharmacol* 2000;108 (1-2):75-86.
18. Motecchio GP, Samaden A, Carbone S, Vigotti M, Siragusa S, et al. Centellaasiaticatriterpenic fraction (CATTF) reduces the number of circulating endothelial cells in subjects with post phlebitis syndrome. *Haematologica*. 1991, 76:256-9.
19. Shukla A, Rasik AM, Dhawan BN. Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. *Phytother Res* 1999,13(1):50-54.
20. Simchareon, Weeraya, et al. "Properties of Deproteinized Natural Rubber Latex Blended Films with Glycol Penetration Enhancers for Pharmaceutical Applications." *Advanced Materials Research*. Vol. 747. 2013.
21. Tschesche W, Wulff G. Über die antimikrobielleWirksamkeit von Saponinen. *Z naturforschg* 1965,20b:543-546.
22. Wang, S., Huang, P., Nie, L., Xing, R., Liu, D., Wang, Z., ...& Chen, X. (2013). Single Continuous Wave Laser Induced Photodynamic/PlasmonicPhotothermal Therapy Using Photosensitizer-Functionalized Gold Nanostars. *Advanced Materials*, 25(22), 3055-3061.
23. Wilkinson JB, Moore RJ. Harry's cosmetology. 7th ed. London: Longman Group, 1982.

ผลสำเร็จของการดำเนินงานตามตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ

❖ ด้านปริมาณ มีการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตให้กับผู้สนใจเข้าร่วมประชุมวิชาการเชิงปฏิบัติการ ในวันที่ 5 กันยายน 2558 ณ โรงเรียนตำรวจตระเวนชายแดนบ้านหนองใหญ่ จังหวัดศรีสะเกษ จำนวนผู้ร่วมโครงการจำนวน 45 คน ซึ่งเกินกว่าเป้าหมายที่ตั้งไว้ 30 คน ผู้เข้าอบรมมีความพึงพอใจ 95% และสามารถนำความรู้ไปใช้ประโยชน์ได้ 90%

❖ ด้านคุณภาพ การบริหารโครงการเป็นไปตามแผนงานที่กำหนดไว้ บรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการ มีการนำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับชาติทั้งแบบปากเปล่าและแบบโปสเตอร์

❖ ด้านเวลา ดำเนินการแล้วเสร็จภายในระยะเวลาที่กำหนด สามารถส่งรายงานการเงินและรายงานผลการดำเนินงานฉบับสมบูรณ์ได้ภายในระยะเวลาที่กำหนด (12 เดือน)

ผลสำเร็จของการดำเนินงานตามตัวชี้วัดตามเกณฑ์ประกันคุณภาพ

❖ ความสำเร็จของการบูรณาการกับการเรียนการสอนและกิจกรรมนักศึกษา

โครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรมบูรณาการกับการเรียนการสอนรายวิชา 1501 502 สารนิพนธ์
จำนวน 2 เรื่องคือ

1. เรื่อง การผลิตและควบคุมคุณภาพแคปซูลผงบัวบก โดยมีนักศึกษาเภสัชศาสตร์ ชั้นปีที่ 5 จำนวน 2 คน คือ นายพลวัฒน์ แก้วคำสอน และนางสาวทิพสุคนธ์ รัชวัฒน์ เป็นผู้ดำเนินการวิจัยภายใต้การควบคุมดูแลของ ผศ.ดร. วริษฐา ศิลาอ่อน ได้รับรางวัลที่ 3 ในการนำเสนอสารนิพนธ์ประจำปี 2557 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีและได้นำเสนอแบบปากเปล่าในงานประชุมวิชาการระดับชาติ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” ระหว่างวันที่ 7-8 มีนาคม 2558 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. เรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าแบบลอกออกที่ผสมสารสกัดบัวบก บัวบก โดยมีนักศึกษาเภสัชศาสตร์ ชั้นปีที่ 5 จำนวน 2 คน คือ นางสาวจิตาภา เงินกระโทกและนางสาวปรีตรา วรชื่น เป็นผู้ดำเนินการวิจัยภายใต้การควบคุมดูแลของ ผศ.ดร. วริษฐา ศิลาอ่อน และได้้นำเสนอแบบโปสเตอร์ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” ระหว่างวันที่ 7-8 มีนาคม 2558 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

นักศึกษาที่ทำสารนิพนธ์ได้เรียนรู้ถึงกระบวนการทำวิจัยและวิธีการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำวิจัย กิจกรรมที่นักศึกษาได้ทำได้แก่การนำเสนอเค้าโครงร่างสารนิพนธ์ ซึ่งนักศึกษาได้นำเสนอความสำคัญของปัญหา วัตถุประสงค์ วิธีการดำเนินงาน และประโยชน์ที่ได้รับจากการทำสารนิพนธ์หัวข้อดังกล่าว และได้มีทักษะการเขียนรายงานสารนิพนธ์ การนำเสนอสารนิพนธ์ และการเผยแพร่ผลงานในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ ซึ่งทั้งหมดเป็นกระบวนการเรียนรู้ที่ครบวงจรเกี่ยวกับการเรียนการสอนด้านโครงงานหรือสารนิพนธ์ในระดับปริญญาบัณฑิต

❖ ความสำเร็จของผลผลิตโครงการเชิงวิชาการ

ได้ตีพิมพ์เผยแพร่ในเอกสารประชุมวิชาการที่มี peer review ในการประชุมวิชาการระดับชาติ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” ระหว่างวันที่ 7-8 มีนาคม 2558 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (ภาคผนวก จ)

ความรู้ที่ได้รับจากการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม

1. นักศึกษาสารนิพนธ์ที่เข้าร่วมโครงการได้มีโอกาสเข้าไปในชุมชนที่มีการเพาะปลูกข้าวซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจของจังหวัดอุบลราชธานี ได้มีความรู้เกี่ยวกับวิธีการเตรียมวัตถุดิบ เพื่อนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เรียนรู้เกี่ยวกับวิถีทางเกษตรวิทยาของข้าว วิธีการสกัด วิธีการวิเคราะห์สาระสำคัญ อันจะนำไปเกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคตเมื่อนักศึกษาประกอบวิชาชีพในโรงพยาบาลภาครัฐหรือเอกชน สามารถนำความรู้ด้านสมุนไพร ไปใช้ประโยชน์ทั้งในด้านการรักษาและการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ได้
2. นักศึกษาได้เรียนรู้เกี่ยวกับขั้นตอนการวิจัยและเรียนรู้วิธีการแก้ปัญหาด้วยตัวเอง

ปัญหาและอุปสรรค

1. ด้านการดำเนินงาน/การบริหารโครงการ ไม่มี
2. ด้านการบูรณาการกับการเรียนการสอนและกิจกรรมนักศึกษา เนื่องจากเป็นโครงการที่บูรณาการกับการเรียนการสอนรายวิชาสารนิพนธ์ สำหรับนักศึกษาเภสัชศาสตร์ชั้นปีที่ 5 ภาคปลาย ซึ่งนักศึกษามีเวลาจำกัดในการทำสารนิพนธ์ เนื่องจากมีการเรียนการสอนแบบ block course เพื่อให้นักศึกษาออกฝึกปฏิบัติงานวิชาชีพเฉพาะทางในปีที่ 6 ได้ทันตามเวลาที่สภาวิชาชีพกำหนด

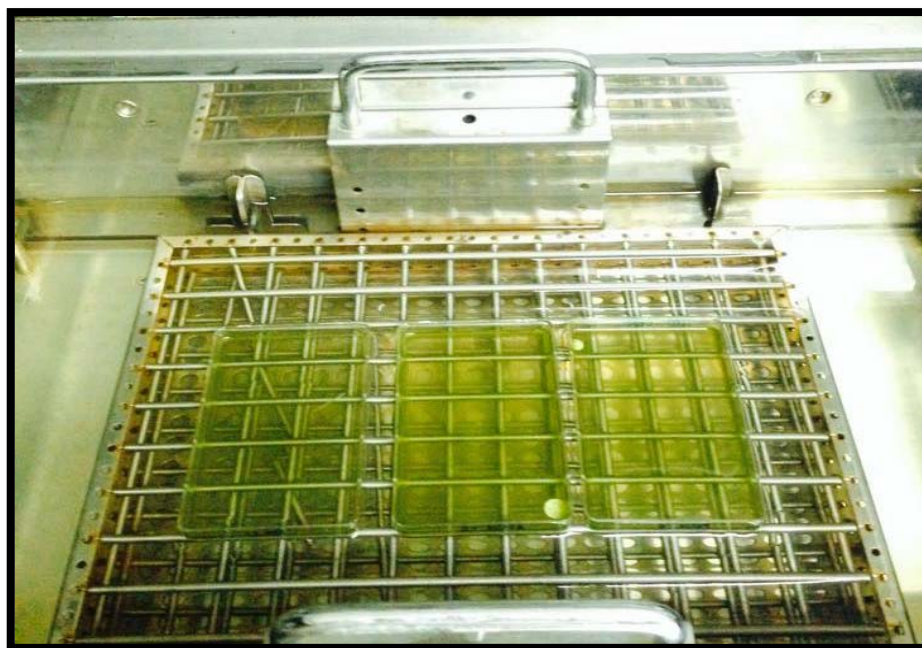
แนวทางในการแก้ไข

1. นักศึกษาควรเริ่มทำสารนิพนธ์ในภาคต้น ของชั้นปีที่ 5
2. เพื่อให้การบูรณาการงานวิจัยและโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรมเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ควรมีการบูรณาการกับวิทยานิพนธ์ในระดับบัณฑิตศึกษา

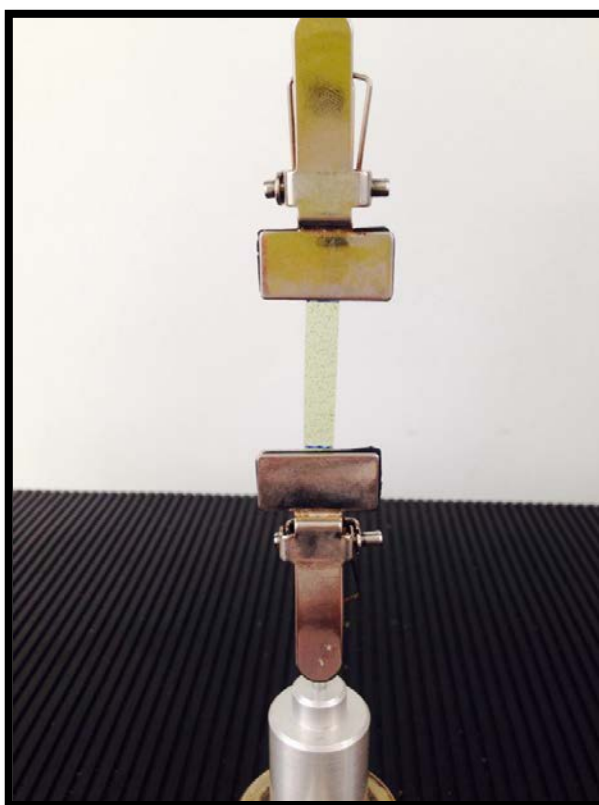
ภาคผนวก ก ภาพกิจกรรม



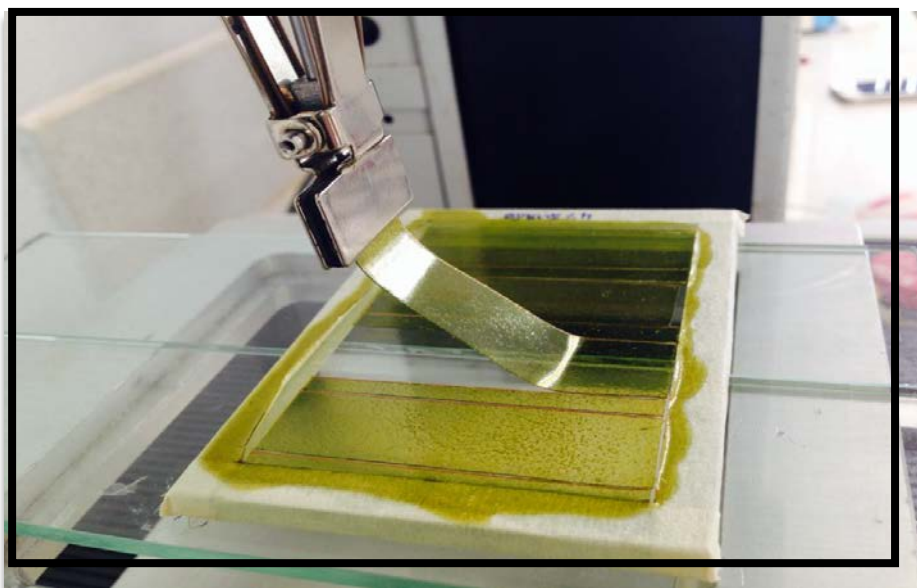
รูปที่ 1 ตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก



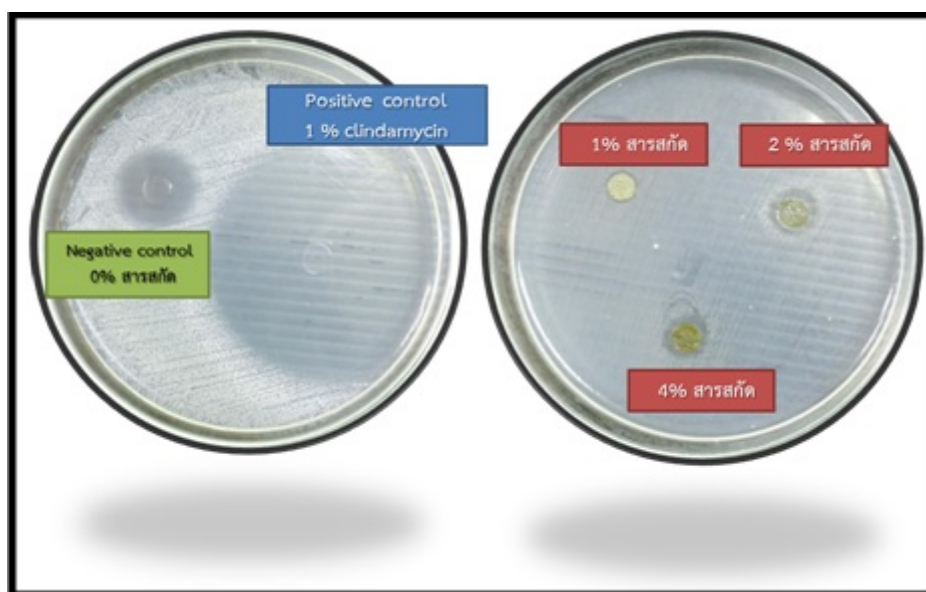
รูปที่ 2 ทดสอบหา Drying time โดยใช้เครื่อง Water bath shaker ที่อุณหภูมิ 37 °C



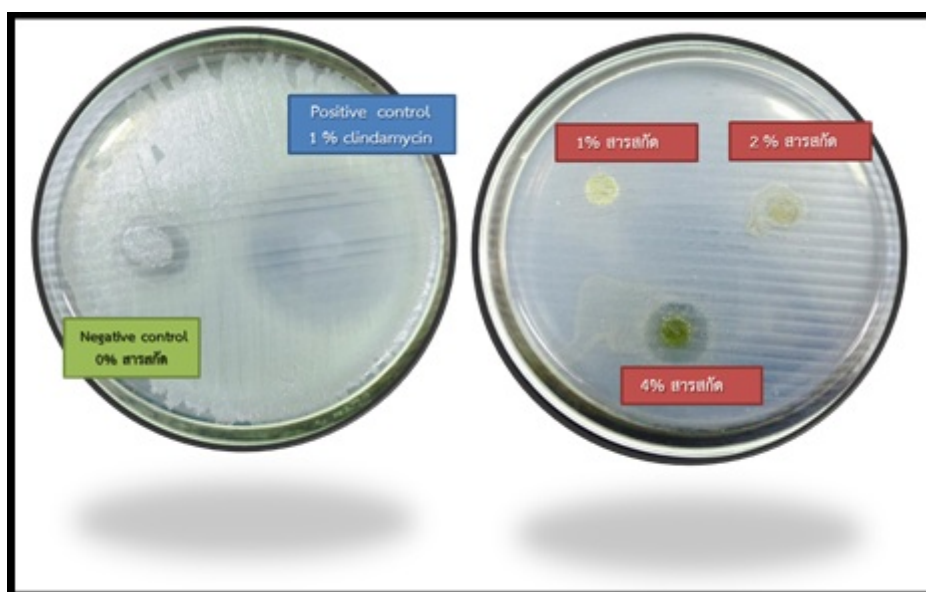
รูปที่ 3 วัด Tensile strength และ Elongation at break ของแผ่นฟิล์มที่ได้



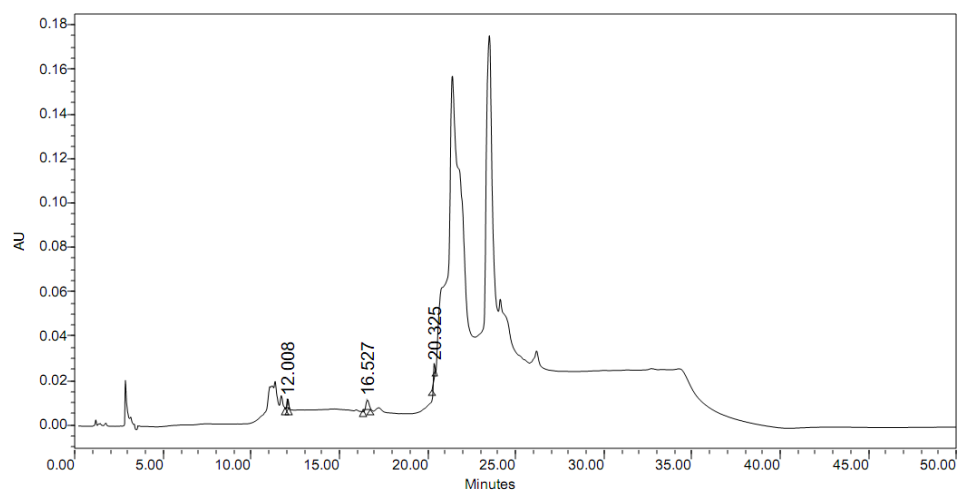
รูปที่ 4 วัด Adhesion strength ของแผ่นฟิล์มที่ได้
ogram ของสารละลายตัวอย่าง 9



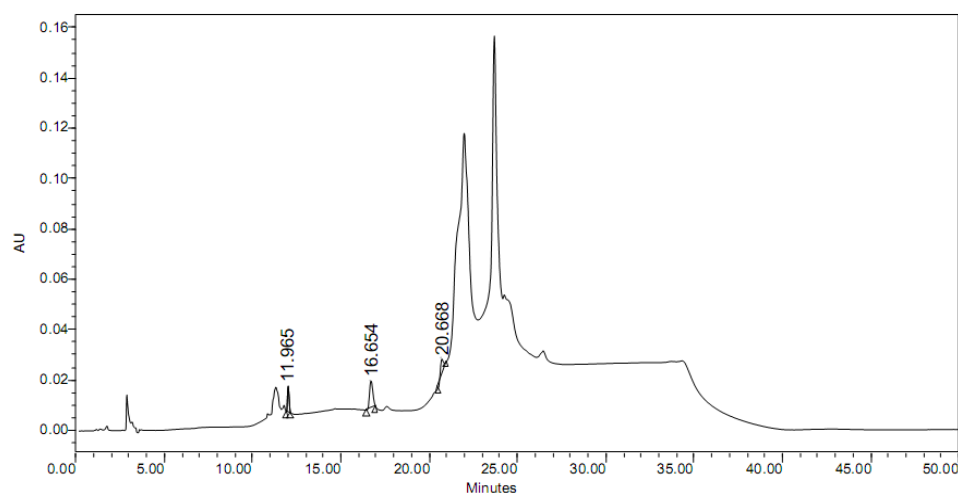
รูปที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*



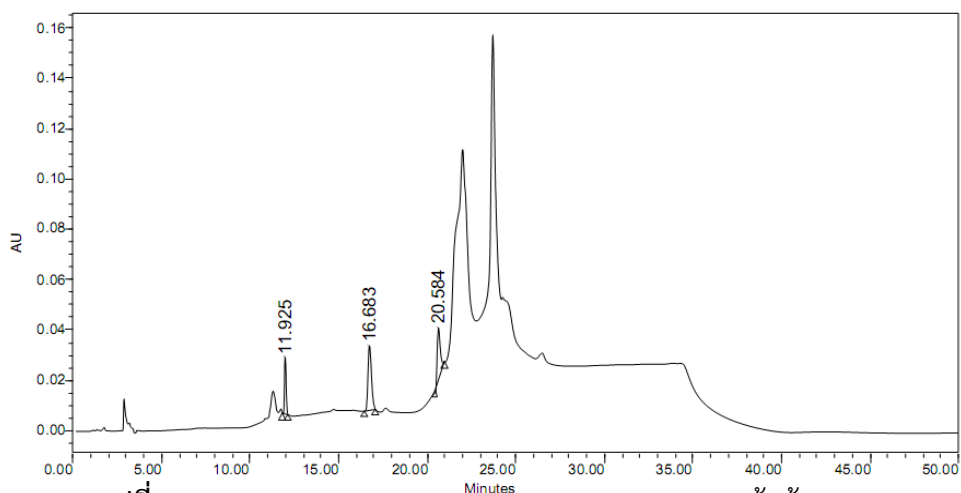
รูปที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*



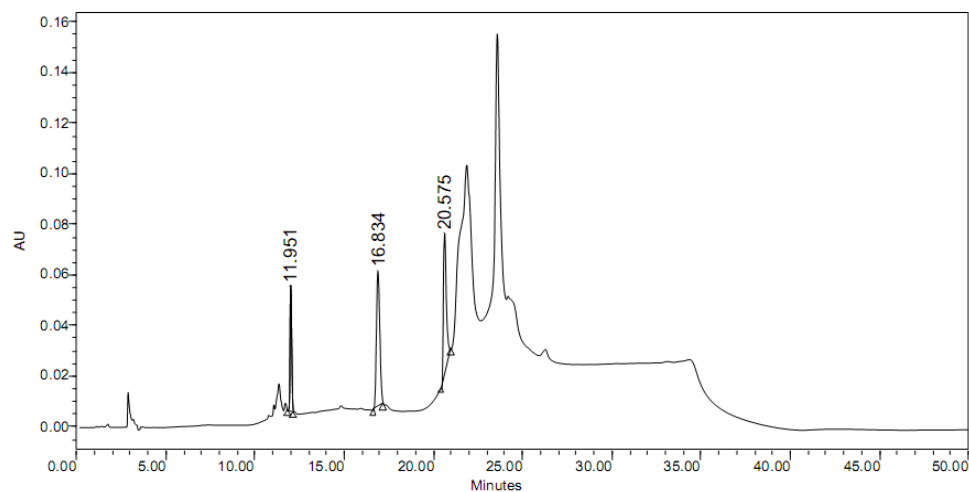
รูปที่ 7 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 10 µg/ml



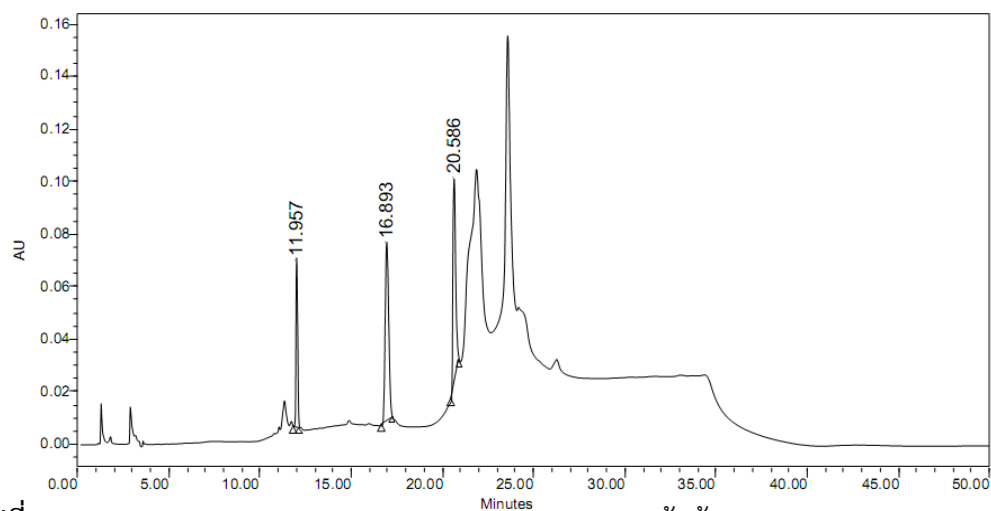
รูปที่ 8 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 20 µg/ml



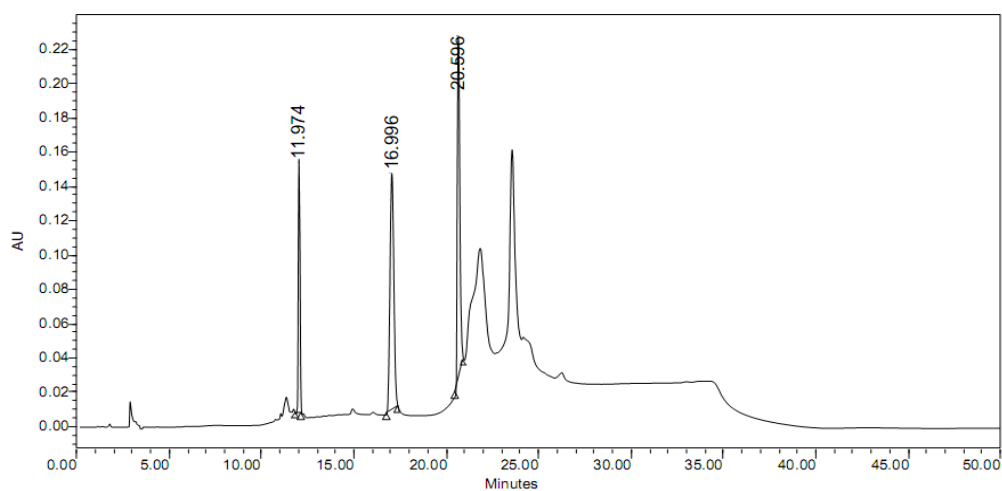
รูปที่ 9 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 40 µg/mL



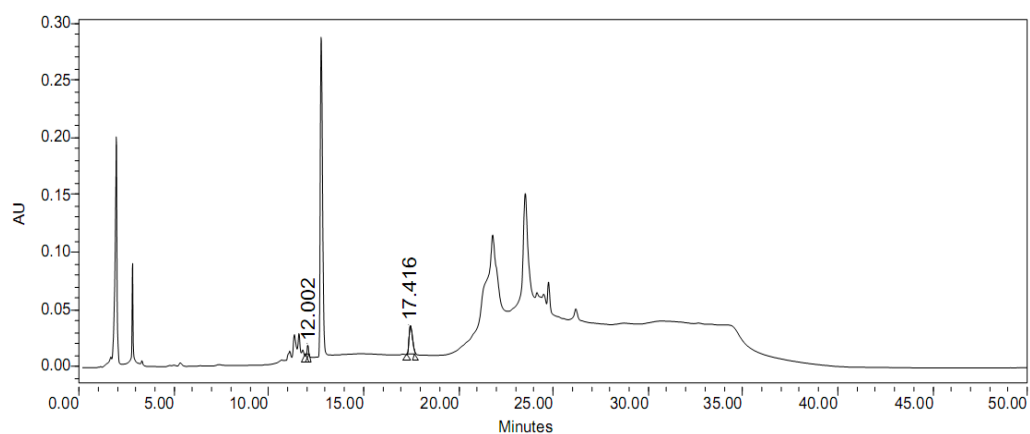
รูปที่ 10 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 80 µg/mL



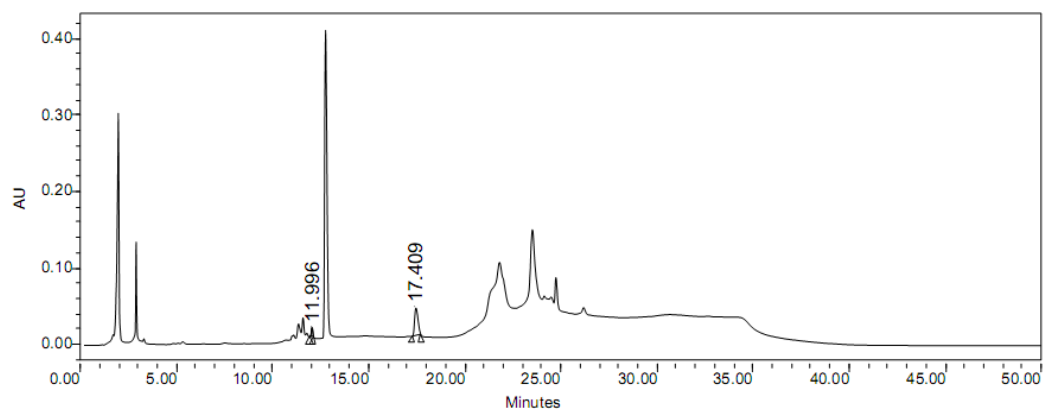
รูปที่ 11 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 100 µg/mL



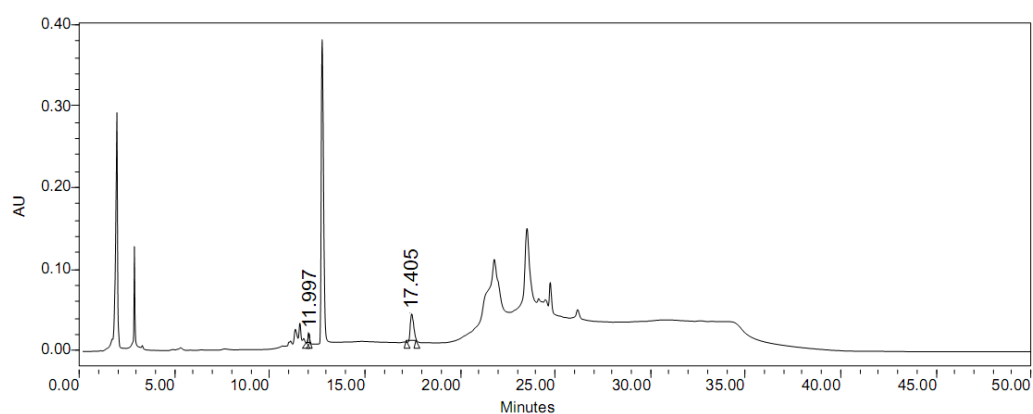
รูปที่ 12 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 200 µg/mL



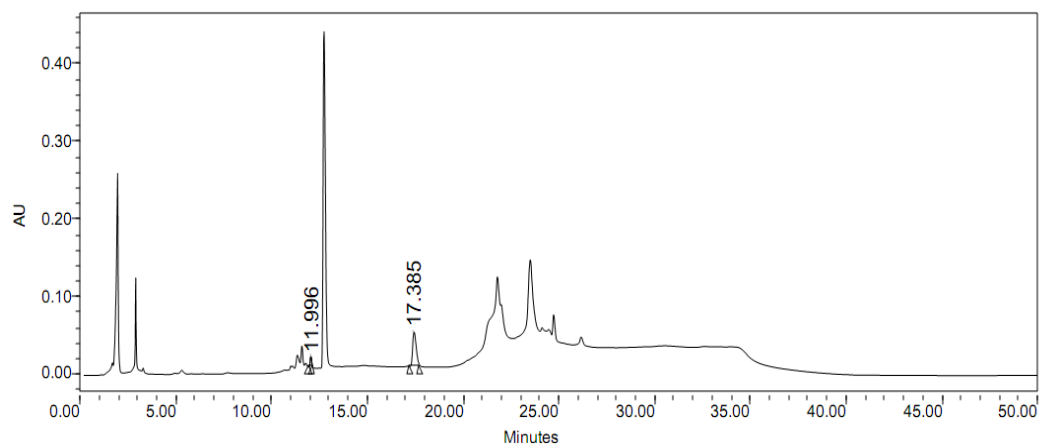
รูปที่ 13 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 1



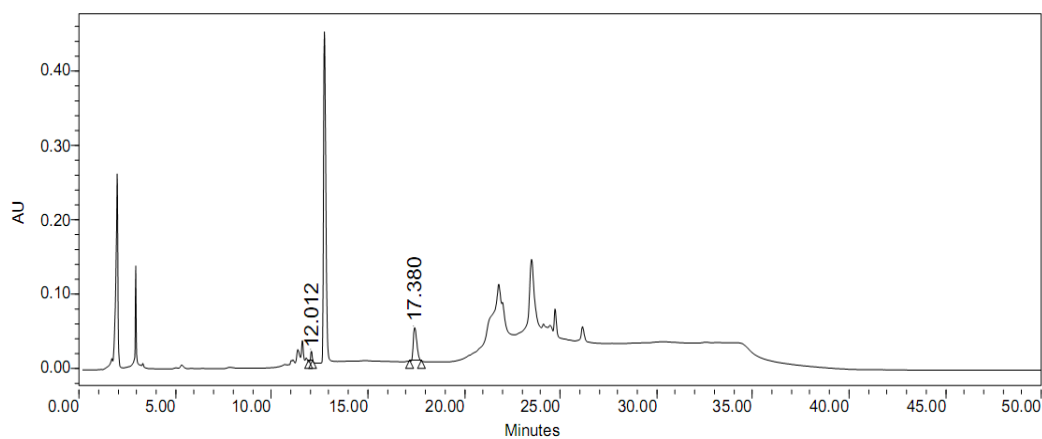
รูปที่ 14 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 2



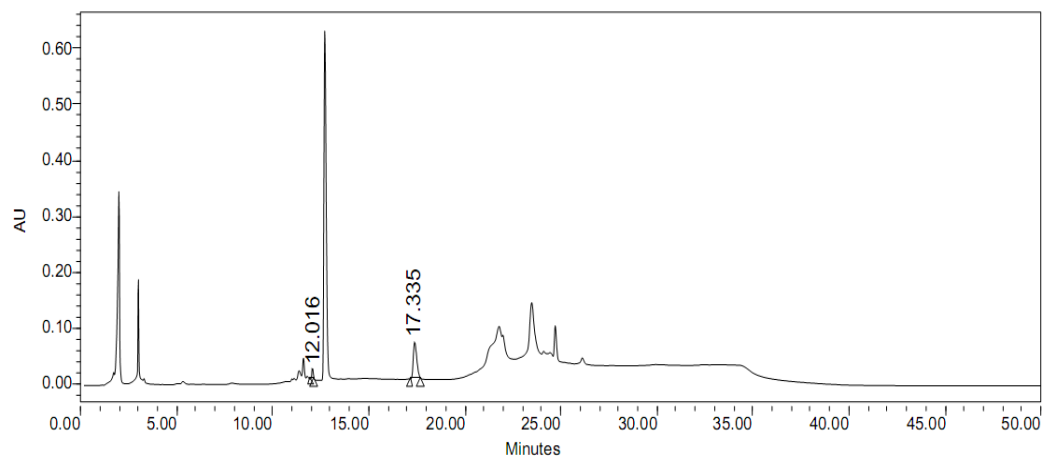
รูปที่ 15 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 3



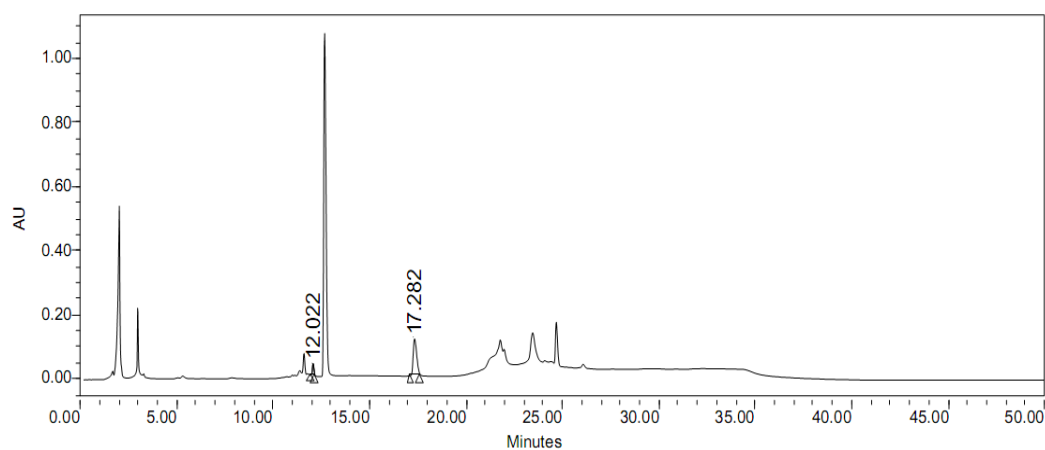
รูปที่ 16 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 4



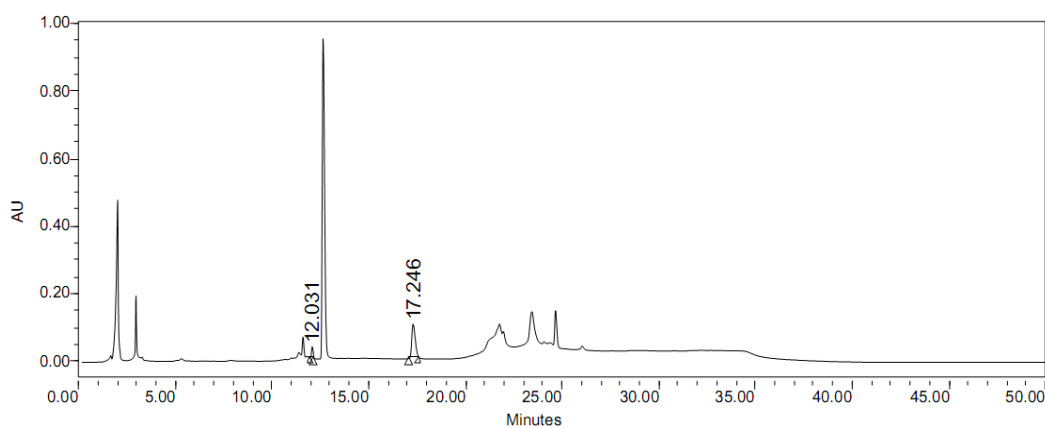
รูปที่ 17 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 5



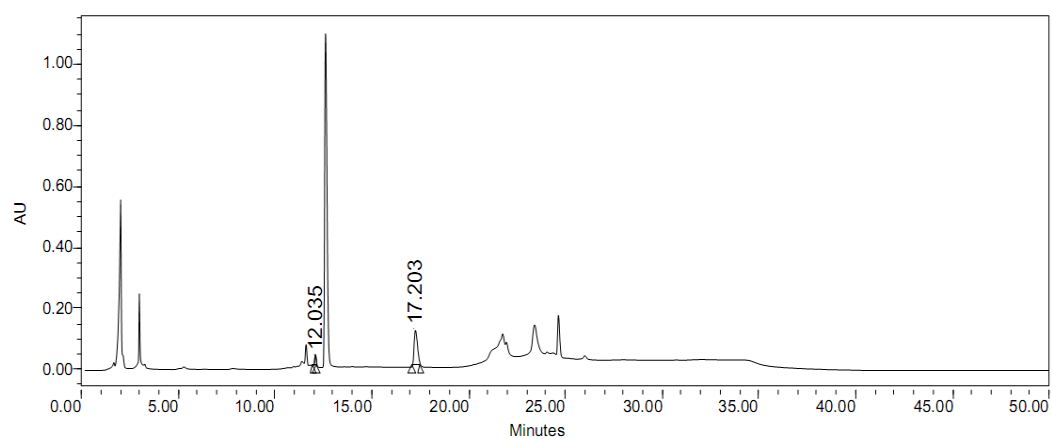
รูปที่ 18 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 6



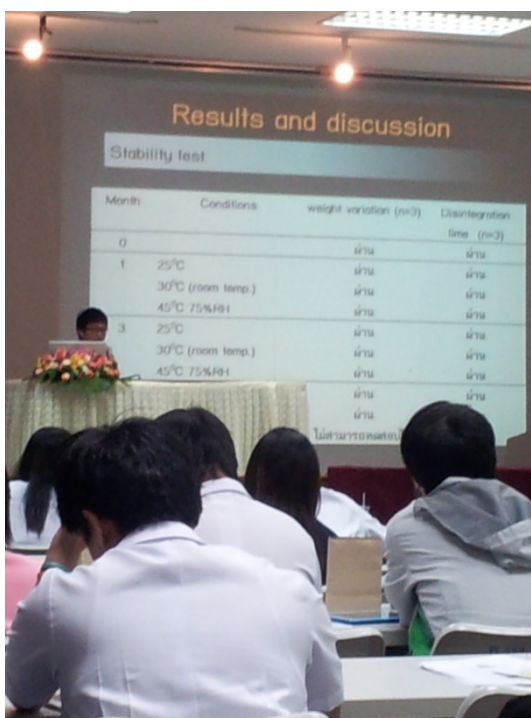
รูปที่ 19 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 7



รูปที่ 20 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 8



รูปที่ 21 Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง 9



การนำเสนอแบบปากเปล่า โดยนายพลวัฒน์ แก้วคำสอน ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” วันที่ 8 มีนาคม 2558 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ภาคผนวก จ ความสำเร็จของผลผลิตโครงการเชิงวิชาการ

ได้ตีพิมพ์เผยแพร่ในเอกสารประชุมวิชาการที่มี peer review ในการประชุมวิชาการระดับชาติ The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015 “Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda” ระหว่างวันที่ 7-8 มีนาคม 2558 ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เรื่องที่ 1 การศึกษาความคงตัวและการควบคุมคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบัวบก

เรื่องที่ 2 ผลของแอลกอฮอล์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก (มีโปสเตอร์การนำเสนอ)



การศึกษาความคงตัวและการควบคุมคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบัวบก

พลวัฒน์ แก้วคำสอน¹, ทิพสุคนธ์ รัชวัฒน์¹, ชลลัตตา พิทยาจิตติพงษ์¹, อุษณา พัวเพิ่มพูนศิริ¹, วริษฐา ศิลาอ่อน¹

บทคัดย่อ

การศึกษาความคงตัวและการควบคุมคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบัวบก

พลวัฒน์ แก้วคำสอน¹, ทิพสุคนธ์ รัชวัฒน์¹, ชลลัตตา พิทยาจิตติพงษ์¹, อุษณา พัวเพิ่มพูนศิริ¹, วริษฐา ศิลาอ่อน¹

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน, มีนาคม 2558; 11(ฉบับพิเศษ) : 66-70

บทนำ: บัวบกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่นำมาใช้อย่างกว้างขวางในการรักษาแผล ป้องกันการเกิดแผล ด้านการอักเสบและเพิ่มความจำ โดยในหลายพื้นที่ของจังหวัดอุบลราชธานีมีการเพาะปลูกบัวบกเพื่อการบริโภคและใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ถึงแม้ว่าบัวบกจะมีคุณประโยชน์มากมาย แต่ข้อมูลการศึกษาการควบคุมคุณภาพและการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่มีค่อนข้างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณภาพและทดสอบความคงตัวของแคปซูลบรรจุผงบัวบก **วิธีการดำเนินการวิจัย:** นำบัวบกสดจากอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานีมาล้างทำความสะอาดและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดลดขนาด ประเมินปริมาณความชื้นและความสามารถในการไหลของผงบัวบกนอกจากนี้ยังประเมินลักษณะของแคปซูลบรรจุผงบัวบก ได้แก่ ความสม่ำเสมอของน้ำหนักและระยะเวลาในการแตกตัว ทดสอบความคงตัวของแคปซูลโดยเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสอุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) และสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส/ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นเวลา 6 เดือน วิเคราะห์หาปริมาณคงเหลือของสารสำคัญ คือ เอเชียดิโคไซด์และแมดิแคสโซไซด์ โดยใช้เทคนิค HPLC **ผลการศึกษาวิจัย:** ผงบัวบกมีความสามารถในการไหลที่ดีและมีปริมาณความชื้น 6.03% เมื่อเก็บแคปซูลที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสพบว่ามีความสม่ำเสมอของน้ำหนักและระยะเวลาการแตกตัวอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ในช่วงเริ่มต้นสารเอเชียดิโคไซด์และแมดิแคสโซไซด์ มีปริมาณ 4.47 และ 2.51 มิลลิกรัม/กรัมของผงแห้ง ตามลำดับ หลังจากเก็บไว้นาน 6 เดือน พบว่าแคปซูลบัวบกที่เก็บไว้ใน 25-30 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญเล็กน้อยโดยมีปริมาณสารสำคัญอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ของปริมาณเริ่มต้น **สรุปผลการวิจัย:** แคปซูลบรรจุผงบัวบกที่ได้จากจังหวัดอุบลราชธานีควรเก็บไว้ในอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาปริมาณสารสำคัญไว้ อย่างไรก็ตามในอนาคตควรมีการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของแคปซูลบรรจุผงบัวบก

คำศัพท์สำคัญ: บัวบก, แคปซูลบัวบก, เอเชียดิโคไซด์, แมดิแคสโซไซด์, ความคงตัว

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี

* ติดต่อผู้พิมพ์: โทรศัพท์ 045-353632 โทรสาร 045-353626 e-mail: warisada@yahoo.com

Abstract

Study on stability and quality control of Centella capsule

Ponlawat Keawkhamsorn¹, Tipsukon Ratchawattana¹, Chonladda Pitchayajittipong¹, Utsana Puapermpoonsiri¹, Warisada Sila-on¹

IJPS, March 2015; 11(Supplement) : 66-70

Introduction: *Centella asiatica* (Linn.) Urbanis widely used as Thai folk medicine for healing the wounds, ulcer protective, anti-inflammatory and memory improvement. It was cultivated in many area of UbonRatchathani province regarding the consumption and health promotion aspects. Although it had many health benefits, but the data about quality control and stability testing of its products was limited. So, this work was to assess the stability and quality of capsule contained dried powder of *Centella asiatica*. **Materials and Method:** *Centella asiatica* sourced from Warin Chamrape district, UbonRatchathani province. Fresh plant was clean and dried at 50°C for 72 hours. After grinding, the dried powder was evaluated in terms of the water content and flow ability. The character of Centella capsule such as weight variation and



disintegration time was performed. The stability assessment of Centella capsules at 25°C and 30°C (room temperature) and the accelerated condition at 45°C with 75%RH for 6 months was carried out. The content of some active compounds such as asiaticoside and madecassoside was quantified using HPLC method. **Results:** The dried powder had good flow behavior with water content of 6.03%. At 25°C and 30°C Centella capsule showed the acceptable characters including weight variation and disintegration time. The initial content of asiaticoside and madecassoside were 4.47 and 2.51 mg/g of dried powder, respectively. And the content of asiaticoside and madecassoside were slightly changed when keeping at 25-30°C for 6 month and were in the range of 90-110% of the initial content. **Conclusion:** Centella capsule form UbonRatchathani origin exhibits some promising character and should be stored at 25–30°C for maintaining the active compound contents. However, the microbial limit test should be future performed for verifying the efficacy and safety of these capsules.

Keywords: *Centella asiatica* (Linn.) Urban, Centella capsule, asiaticoside, madecassoside, stability

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand

* **Corresponding author:** Tel 045-353632, Fax 045-353626, e-mail: warisada.s@ubu.ac.th

บทนำ

บัวบกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae เป็นพืชล้มลุกลำต้นเลื้อย คลานไปตามพื้นดิน ใบและรากงอกตามข้อของลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยว คล้ายรูปไต ขอบใบหยัก ก้านใบยาว สามารถพบทั่วไปในเขตร้อนและอบอุ่น ตั้งแต่แอฟริกา เอเชียอเมริกา ออสเตรเลีย สำหรับเอเชียพบมากในเอเชียตะวันออกเฉียงและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ขึ้นได้ดีในที่ชุ่มชื้น ทั้งที่โล่งแจ้ง มีแสงรำไรและในที่ร่ม (Jaree, 2550) บัวบกเป็นทั้งพืชสมุนไพร และผักพื้นบ้านที่มีการใช้มาตั้งแต่อดีตซึ่งมีสารสำคัญเป็นสารในกลุ่ม Triterpenoids หลายชนิด เช่น asiaticoside และ madecassoside สารสำคัญเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการช่วยสมานแผลให้หายเร็วขึ้นโดยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนดีเอ็นเอและโปรตีน เร่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ลดการเกิด fibrosis ของแผลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เพิ่ม expression ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ ใช้รักษาแผลเป็นและแผลไหม้ (Marquart *et al.*, 1990) บัวบกสามารถเพิ่มความสามารถในการจดจำและการเรียนรู้ในหนูทดลองได้ (Veerendra *et al.*, 2003) นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลองสนับสนุนว่า บัวบกมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Kashmira *et al.*, 2010)

จากข้อมูลดังกล่าวจะพบว่าบัวบกเป็นสมุนไพรที่มีคุณประโยชน์ในด้านการแพทย์มากมาย จึงทำให้ในปัจจุบันมีการพัฒนาตำรับบัวบกออกจำหน่ายเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หนึ่งในนั้นคือการนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบแคปซูลบรรจุผงบัวบก อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์แคปซูลบรรจุ

ผงบัวบกนั้นยังมีข้อจำกัดในเรื่องการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณและทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในการออกฤทธิ์

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการควบคุมคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบัวบก การทดสอบความคงตัวในสภาวะต่างๆ รวมถึงการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในการออกฤทธิ์ของบัวบก คือ asiaticoside และ madecassoside โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตแคปซูลบรรจุผงบัวบกในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างและการบรรจุแคปซูล

นำบัวบกสดจากอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี อายุประมาณ 60-90 วันเพาะปลูกในช่วงเดือนกันยายน-ตุลาคม มาล้างทำความสะอาด ตัดส่วนรากทิ้งผึ่งให้สะเด็ดน้ำและอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงนำบับบลดขนาดโดยใช้ Blender ผ่านร่อนเบอร์ 60 และบรรจุลงในแคปซูลเบอร์ 0 ด้วยเครื่อง Semi-Automatic Capsule Filling Machine

2. การควบคุมคุณภาพผงบัวบก

นำผงบัวบกที่ได้มาทดสอบหาค่าคุณสมบัติการไหล (Flowability) โดยพิจารณาจากมุมทรงตัว (angle of repose) ความสามารถในการตอกอัด (%compressibility) และ Hausner ratio ซึ่งหาได้จากค่า bulk density และ tapped density ทดสอบหาปริมาณความชื้นด้วยเครื่อง Moisture balance (Mettler™ รุ่น LJ16) ทั้งนี้ปริมาณความชื้นต้องผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานของ Thai herbal pharmacopeia



supplement คือ ผงบัวบกแห้งต้องมีปริมาณความชื้นไม่เกิน 14%

3. การทดสอบคุณภาพแคปซูลบรรจุผงบัวบก

การทดสอบความสม่ำเสมอของน้ำหนักผงยา (weight variation) ทำตามวิธีที่ระบุใน USP 36 โดยเกณฑ์การผ่านตามาตรฐานของ USP 36 คือแคปซูล 20 เม็ดแรกต้องมีน้ำหนักผงยาอยู่ในช่วง 90-110 % ของน้ำหนักเฉลี่ย ถ้ามีมากกว่า 2 แคปซูลเบี่ยงเบนเกิน 10% ของค่าเฉลี่ยให้ทำเพิ่มอีก 40 แคปซูล รวมเป็น 60 แคปซูล ต้องมีไม่เกิน 2-6 แคปซูล ที่เบี่ยงเบนเกิน 10% แต่ต้องไม่มีแคปซูลใดเลยที่เบี่ยงเบนเกิน 25% จึงจะผ่านมาตรฐาน

ทดสอบหาเวลาการแตกตัวของแคปซูล (disintegration time) โดยใช้เครื่องทดสอบการแตกตัวของแคปซูล (Erweka รุ่น ZT 52) ซึ่งเกณฑ์การผ่านตามาตรฐานของ USP 36 คือแคปซูลต้องแตกตัวหมดภายในเวลา 30 นาทีเมื่อทดสอบตามภาวะที่กำหนดถ้ามี 1 หรือ 2 แคปซูลแตกกระจายตัวไม่สมบูรณ์ให้ทำซ้ำอีก 12 แคปซูล ต้องมีไม่น้อยกว่า 12 ใน 18 แคปซูลที่แตกตัวอย่างสมบูรณ์

4. การทดสอบความคงตัวของสารสำคัญ

นำแคปซูลบรรจุผงบัวบกที่เตรียมไว้เก็บไว้ 3 สภาวะ ได้แก่ 1) อุณหภูมิ 25°C 2) อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30°C และ 3) อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 โดยเก็บไว้ 6 เดือน สุ่มตัวอย่างแคปซูลบรรจุผงบัวบก ณ สภาวะเริ่มต้นและที่เวลา 1, 3 และ 6 เดือน เพื่อทดสอบความสม่ำเสมอของน้ำหนักผงยา (weight variation) ระยะเวลาในการแตกตัว (disintegration time) และร้อยละปริมาณสารคงเหลือของสารสำคัญ ได้แก่ asiaticoside และ madecassoside ซึ่งสกัดโดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย ใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 600 วัตต์ นาน 20 วินาที พัก 30 วินาที ทำซ้ำ 4 รอบ และนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การผลิตแคปซูลบรรจุผงบัวบกโดยอบบัวบกที่อุณหภูมิ 50°C นาน 72 ชั่วโมงทำให้ความชื้นผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด และเมื่อนำผงบัวบกไปทดสอบหาความสามารถในการไหล (Flowability) แสดงดังตารางที่ 1 พบว่าผงบัวบกมี Angle of repose 15.13 ± 2.83 ถือว่ามีคุณสมบัติการไหลที่ดีมาก ซึ่งสอดคล้องกับ % Compressibility และค่า Hausner ratio ซึ่งมีค่าเท่ากับ 16.8 ± 1.61 และ 1.20 ± 0.02 ตามลำดับ แสดงว่าผงบัวบกมีไหลค่อนข้างดี เมื่อนำไปบรรจุแคปซูลพบว่าการกระจายของน้ำหนักแคปซูล

อย่างสม่ำเสมอและระยะเวลาในการแตกตัวผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน

จากผลการทดสอบความคงตัวทางด้านกายภาพของแคปซูลบรรจุผงบัวบกดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าแคปซูลเก็บที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้อง (~30°C) นาน 6 เดือน ยังคงสภาพดีโดยมีความสม่ำเสมอของน้ำหนักผงยาและการแตกตัวผ่านตามาตรฐาน แต่เมื่ออยู่ในสภาวะเร่ง อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 นาน 6 เดือน ไม่สามารถนำมาทดสอบความสม่ำเสมอของน้ำหนักผงยาได้และเมื่อนำไปทดสอบการแตกตัวพบว่าไม่ผ่านมาตรฐานแสดงว่าอุณหภูมิและความชื้นมีผลต่อการคงสภาพของแคปซูล

เมื่อนำแคปซูลบรรจุผงบัวบกไปทดสอบหาปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 ชนิดคือ asiaticoside และ madecassoside สกัดโดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย ใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 600 วัตต์ นาน 20 วินาที พักไว้ 30 วินาที ทำทั้งหมด 4 รอบและหาปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 ชนิดโดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่าผงบัวบกที่ได้มีปริมาณสาร asiaticoside และ madecassoside 4.47 ± 0.08 และ 2.51 ± 0.08 มิลลิกรัม/กรัมของผงแห้งตามลำดับ

การทดสอบความคงตัวด้านเคมีโดยพิจารณาจากร้อยละของปริมาณสำคัญที่คงเหลือเมื่อเทียบกับสภาวะเริ่มต้น (%remaining) ดังแสดงในรูปที่ 1 พบว่าปริมาณคงเหลือของ asiaticoside ในแคปซูลบรรจุผงบัวบกที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (~30°C), 25°C และ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 มีแนวโน้มจะลดลงแต่ยังคงมีค่าอยู่ในช่วง ร้อยละ 90-110 ตลอดระยะเวลา 6 เดือนที่ทดสอบ แต่สาร madecassoside กลับพบว่าเมื่อเก็บไว้ในสภาวะเร่ง (45°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75) มีปริมาณคงเหลืออยู่นอกช่วงร้อยละ 90-110 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะบัวบกเป็นสมุนไพรที่มีองค์ประกอบทางเคมีจำนวนมากทั้ง terpenes, phenolic compounds, polyacetylenes group, alkaloids, carbohydrates, vitamin, mineral และ amino acid (Chong and Aziz, 2011) สารดังกล่าวอาจถูกสลายด้วยความชื้นหรือความร้อนได้เป็นสารชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติของการมีขี้ การละลายและสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นเดียวกับสาร madecassoside จึงอาจทำให้มีปริมาณสารดังกล่าวเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับความคงสภาพขององค์ประกอบทางเคมีในบัวบกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตาม ปริมาณคงเหลือของ madecassoside ที่เก็บที่อุณหภูมิ 25-30 °C นาน 6 เดือนและสภาวะเร่งนาน 3 เดือนพบว่ายังคงมีค่าปริมาณสารสำคัญคงเหลืออยู่ในช่วงร้อยละ 90-110



ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการควบคุมคุณภาพผงบวักและแคปซูลบรรจุผงบวัก

ปริมาณความชื้น (mean $\pm$ SD)	คุณภาพผงบวัก			คุณภาพแคปซูลบวักหลังผลิต	
	คุณสมบัติของการไหล(mean $\pm$ SD)			weight	disintegration
	%compressibility	Hausner ratio	angle of repose	variation*	time*
6.03 $\pm$ 0.29	16.8 $\pm$ 1.61	1.20 $\pm$ 0.02	15.13 $\pm$ 2.83	P	P

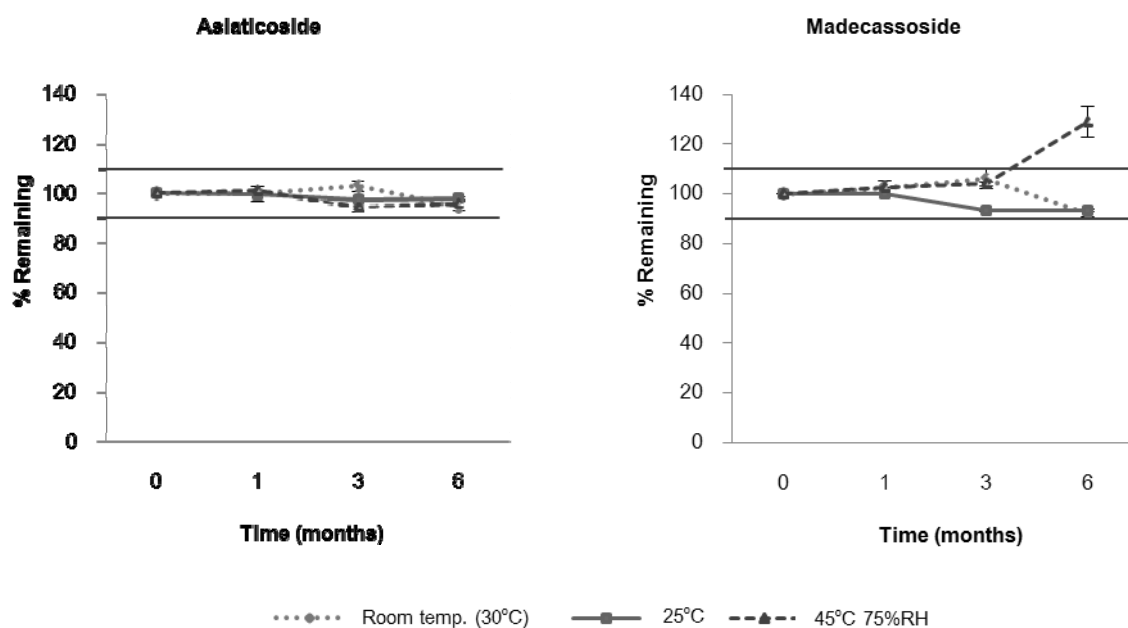
หมายเหตุ *P หมายถึง ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน USP 36

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความคงตัวของแคปซูลบรรจุผงบวักเมื่อเก็บไว้ในสภาวะต่างๆ นาน 6 เดือน

ระยะเวลา(เดือน)	สภาวะ	weight variation*	disintegration time*
0	เริ่มต้น	P	P
1	อุณหภูมิห้อง (~30°C)	P	P
	25°C	P	P
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75%	P	P
3	อุณหภูมิห้อง (~30°C)	P	P
	25°C	P	P
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75%	P	P
6	อุณหภูมิห้อง (~30°C)	P	P
	25°C	P	P
	45°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75%	N/A	F

หมายเหตุ *P หมายถึง ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน USP 36, F หมายถึง ไม่ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน USP 36

N/A หมายถึง ไม่สามารถทดสอบได้



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละปริมาณสาร asiaticoside และ madecassoside ที่คงเหลือในสภาวะต่างๆ เมื่อเทียบกับกับตอนเริ่มต้น ณ เวลา 1, 3 และ 6 เดือน



สรุปผลการวิจัย

สมุนไพรบวบกที่ได้จากจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อนำมาอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีคุณสมบัติการไหลที่ดีและปริมาณความชื้นผ่านตามข้อกำหนดเมื่อนำไปบรรจุเป็นแคปซูลพบว่าความแปรปรวนของน้ำหนักและระยะเวลาในการแตกตัวของแคปซูลบรรจุผงบวบกผ่านตามมาตรฐาน USP36

การทดสอบความคงตัวของปริมาณสารสำคัญในแคปซูลบรรจุผงบวบกเมื่อเก็บไว้ใน 3 สภาวะได้แก่ อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30°C) อุณหภูมิ 25°C และสภาวะเร่ง (อุณหภูมิ 45°C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75) นาน 6 เดือน พบว่าปริมาณสาร asiaticoside เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น ส่วนสาร madecassoside เปลี่ยนแปลงเกินช่วงที่กำหนดเมื่อเก็บไว้ในสภาวะเร่ง นาน 6 เดือน และลักษณะทางกายภาพพบว่าที่สภาวะเร่งแคปซูลบรรจุผงบวบกเสื่อมสภาพเนื่องจากอุณหภูมิและความชื้น ดังนั้นแคปซูลบรรจุผงบวบกที่ผลิตขึ้นควรเก็บไว้ในอุณหภูมิ 25-30°C

อย่างไรก็ตามการวิจัยในครั้งนี้ศึกษาเฉพาะความคงตัวด้านกายภาพและความคงตัวด้านเคมี ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานสมุนไพรไทยเพิ่มเติม เพื่อให้ผ่านตามข้อกำหนดของ Thai herbal pharmacopoeia และควรมีการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียและรา เพื่อเป็นการทดสอบความคงตัวทางจุลชีพและเป็นแนวทางในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม ประจำปีงบประมาณ 2558 ของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ผู้วิจัยขอขอบคุณผอ. โอกาสนี้และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนด้านวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

References

- Chong NJ and Aziz Z.A systematic review on the chemical constituents of *Centella asiatica*. *RJPBCS* 2011; 2(3): 445-459.
- JareeBansiddhi. Useful herb (3) *Centella asiatica* (Linn.) Urban. Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences. Nonthaburi, 2550:1-60.
- Marquart FX, Bellon G, Gillery P, et al. Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from *Centella asiatica*. *Connective Tissue Res* 1990; 24:107-20.
- Kashmira JG, Jagruti AP, and Anuradha KG. Pharmacological Review on *Centella asiatica* : A Potential Herbal Cure-all. *Indian J Pharm Sci* 2010;72(5): 546-556.
- Supplement to Thai Herbal Pharmacopoeia 2004. Department of Medical Sciences. Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand. 9-17.
- The united states Pharmacopoeia Convention. United State Pharmacopoeia. New York: Volume 36; 2013.
- Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Effect of *Centella asiatica* on cognition and oxidative stress in an intracerebro-ventricular streptozotocin model of Alzheimer's disease in rats. *ClinExpPharmacol Physiol* 2003; 30: 336-42.



ผลของแอลกอฮอล์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของ ตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

จิตาภา เงินกระโทก¹, ปริตรา วรชื่น¹, วริษฐา ศิลาอ่อน^{2*}, อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ²

บทคัดย่อ

ผลของแอลกอฮอล์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก
ที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

จิตาภา เงินกระโทก¹, ปริตรา วรชื่น¹, วริษฐา ศิลาอ่อน^{2*}, อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ²

บทนำ: การมาสก์หน้ากำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะพัฒนาตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก โดยนำสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์มาผสมกับโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อฟิล์ม เมื่อแห้งอย่างสมบูรณ์สามารถลอกออกได้ โดยในศึกษาจะใช้แอลกอฮอล์เป็น Drying accelerator เพื่อลดระยะเวลาในแห้งของฟิล์ม งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของแอลกอฮอล์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับพื้นและคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก วิธีการดำเนินการวิจัย: เตรียมตำรับพื้นโดยเติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15 %w/w ลงในสารละลายที่ประกอบด้วย PVA และ Glycerine ความเข้มข้น 15 และ 6 %w/w ตามลำดับ และเตรียมตำรับมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 %w/w ตามลำดับ รวมถึงมีการเติมสารช่วยทางเภสัชกรรมที่จำเป็นในสูตรตำรับ ได้แก่ สารเพิ่มความหนืด สารต้านออกซิเดชันและสารกันบูด ทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ หา Drying time และคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ได้ ผลการศึกษาวิจัย: ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นในตำรับพื้นมีผลทำให้ตำรับมี pH ลดลงเล็กน้อย Drying time ลดลง (ต่ำสุด 45 นาที) ความหนืดเพิ่มขึ้น (สูงสุด 335.6 cP) และเมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ลงในตำรับปริมาณที่เพิ่มขึ้นพบว่า pH ไม่เปลี่ยนแปลง ตำรับมีสีเขียวยิ่งขึ้น Drying time ลดลง (ต่ำสุด 30 นาที) และความหนืดลดลง เมื่อนำแผ่นฟิล์มที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติเชิงกล พบว่า ตำรับที่เติมสารสกัดบัวบก มีค่า Tensile strength และ Elongation at break เพิ่มขึ้น แต่ค่า Adhesion strength ลดลงเมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้เติมสารสกัดบัวบก สรุปผลการวิจัย: ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นมีผลลด Drying time ที่ 37°C และเพิ่มความหนืดของตำรับพื้น แต่เมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ ทำให้ความหนืดของตำรับลดลงและทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่มีแรงยึดเกาะลดลงเมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้เติมสารสกัดบัวบก

คำสำคัญ: มาสก์พอกหน้าชนิดลอกออก สารสกัดบัวบก แอลกอฮอล์

Abstract

The influence of alcohol concentration on physical property and mechanical property of facial peel off mask contained the ethanolic extract of *Centella asiatica* (Linn.) Urban.

Jidapha Ngoenkratok¹, Paritra Worachuen¹, Warisada Silaon^{2*}, Utsana Puapernpoonsiri²

Introduction: Nowadays, the facial mask was very popular. Researchers were interested to develop the facial peel off mask which composed of the ethanolic extract of *Centella asiatica* (Linn.) Urban and the polymer which had film former property then formed easily removable film. Alcohol was used as drying accelerator for reduce drying time. This study aimed to present the influence of alcohol concentration on physical property of the base formulation and mechanical property of facial peel off mask contained the ethanolic extract of *Centella asiatica* (Linn.) Urban.

Methods: The base formulation was prepared from 95% ethanol in a concentration of 0, 2, 6, 10, 12 and 15 %w/w, respectively, and the solution that composed of polyvinyl alcohol and glycerine in a concentration of 15 and 6 %w/w,



respectively. Then prepared the facial peel off mask contained the ethanolic extract of *Centella asiatica* (Linn.) Urbanin a concentration 0, 1, 2 and 4 %w/w, respectively. The pharmaceutical necessities such as thickening agent, antioxidant and preservative were also added to the formulation. The base formulation and the facial peel off mask contained the ethanolic extract of *Centella asiatica* (Linn.) Urban. The tested physical property, drying time and mechanical property of the dried film. **Result:** Increasing the 95% ethanol concentration lead to slightly decrease in pH, drying time (minimum 45 minute) and increase viscosity (maximum 335.6 cP). When ethanolic *Centella asiatica* (Linn.) Urban extract were added, the formulation was green solution, no change in pH, decrease drying time (minimum 30 minute) and viscosity. Mechanical property of the dried film containing extract had increase tensile strength and elongation at break but adhesion strength was more decrease than the dried film of base formulation. **Conclusion:** The alcohol concentration influence on physical property of decrease drying time at 37°C, increase viscosity of the base formulation. When the ethanolic *Centella asiatica* (Linn.) Urban extract were added, viscosity was decrease and the dried film containing extract was slightly increase strength but adhesion strength was more decrease than the dried film of base formulation.

Key word: Facial peel off mask, *Centella asiatica* (Linn.) Urban extract, Alcohol

¹ นักศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

² อาจารย์ประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

* **Corresponding author:** Warisada Sila-on Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand 34190 Tel 045-353632 Fax 045-353626 e-mail: warisada@yahoo.com

บทนำ

การมาสก์หน้ามีมาตั้งแต่สมัยโบราณกาล (Wilkinson & Moore, 1982) และกำลังได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากการมาสก์หน้าจะเป็นการเก็บกักความชื้นไม่ให้ระเหยออกจากผิวหนัง จึงเป็นตัวช่วยให้ผิวชุ่มชื้นและอึดใ้ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากผิวหนังของคนเรานั้นจะมีการสูญเสียความชื้นอยู่ตลอดเวลาจึงทำให้ประสบกับปัญหาผิวหนังแห้ง รอยหย่อนคล้อย เกิดริ้วรอยได้ง่าย (พงศกรพัฒน์ อนุโณทยานันท์, 2554)

คณะผู้วิจัยได้ตระหนักถึงปัญหาข้างต้นจึงมีความสนใจที่จะพัฒนามาสก์ลอกหน้าชนิดลอกออก (Peel-off facial masks) โดยนำสารสำคัญจากธรรมชาติที่สนใจมาผสมกับโพลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อฟิล์ม (film-forming polymers) ซึ่งเมื่อแห้งอย่างสมบูรณ์จะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า Cohesive Plastic Layer และสามารถลอกออกได้โดยไม่ทิ้งสารตกค้างไว้บนผิวหนัง (DeNaverre, 1975) ซึ่งก่อนหน้านี้มีการศึกษาของ Beringsh และคณะได้ทำการออกแบบสูตรตำรับ Green

Clay และ Aloe Vera Peel-Off Facial Mask โดยศึกษาคุณสมบัติของ Cereal alcohol-EtOH (Drying accelerator) ในความเข้มข้นต่างๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ และ Drying time ของตำรับ พบว่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นในตำรับเป็นปัจจัยที่ทำให้ Drying time ลดลง โดยมีค่าประมาณ 10%w/w และพบว่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในตำรับที่มากกว่า 10%w/w จะไม่มีผลลด Drying time แต่ส่งผลทำให้ Drying time นานขึ้นกว่าเดิม

คณะผู้วิจัยจึงนำ 95% Ethanol มาใช้เป็น Drying accelerator ของสูตรตำรับและเติมสารสกัดบัวบกที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ใช้เป็นสารสำคัญในตำรับซึ่งประกอบด้วยสารในกลุ่มไตรเทอพินอยด์ไกลโคไซด์ (Triterpenoid glycoside) ได้แก่ สารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) มีฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน, ฤทธิ์ช่วยเร่งการสร้างคอลลาเจน (จันทร์พร ทองเอกแก้ว, 2556) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสิวได้อีกด้วย (นุศวัต พงนานุกิจ และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553)



งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ คือ ศึกษาผลของแอลกอฮอล์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับพื้นและคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มมาสก์พอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

วิธีการดำเนินการวิจัย

1.อุปกรณ์ และสารเคมี

Polyvinyl alcohol)Sigma-Aldrich Co.,USA,(
Glycerine (P.C. Drug center Co., Ltd., Thailand),
95% Ethanol, Xanthan gum, Disodium EDTA,
Paraben concentration, Plastic plate)6x9.5 cm(, Hot
plate stirrer (GIBTHAI Co., Ltd., Thailand), Sonicator
Branson 5210ลิทริฟรอสโซซิเอท จำกัด.บ) , ประเทศ
ไทย(, Water bath shaker SW23) Julabo
LABORTECHNIK GMBH, Germany(, เครื่องวัดความ
หนืด รุ่น HAAke MARS III) LMS instruments,
Germany(, pH test strip, Texture Analyzer (LLOYD
instrument, USA)

2.พืชและสารสกัด

การเตรียมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ โดย
ชั่งน้ำหนักบัวบกสด 5 กิโลกรัม ตัดส่วนรากออกไปแล้ว
ล้างด้วยน้ำให้สะอาดนำไปตากแดดให้แห้ง แล้วนำไปอบ
ในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปบดลด
ขนาดด้วยเครื่องบด ปริมาณที่ได้สุดท้าย คือ ผงบัวบก
229.39 กรัม นำผงบัวบกที่ได้มาแช่ใน 95% Ethanol ตั้ง
ทิ้งไว้ จนสีผงบัวบกเปลี่ยนเป็นไม่มีสี นำมากรองและ
ระเหยแห้ง ได้เป็น Crude extract 61.05 กรัม

3.การเตรียมตำรับมาร์กพอกหน้าชนิดลอกออกที่มี ส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

3.1 การเตรียมตำรับพื้น

ค่อยๆโปรย PVA ละลายลงในน้ำร้อน ที่
อุณหภูมิ 80 °C คนจนกระทั่งได้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้น
เติม Glycerine และเติม 95% Ethanol คนอย่างรวดเร็ว
จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปิด Paraffin film แล้ว
นำไปใส่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในตำรับพื้น

ตำรับ ที่	PVA (%w/w)	Glycerine (%w/w)	95% Ethanol (%w/w)
1	15	6	0
2	15	6	2
3	15	6	6
4	15	6	10
5	15	6	12
6	15	6	15

3.2 การเตรียมตำรับมาร์กพอกหน้าชนิด ลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

ค่อยๆโปรย PVA ละลายลงในน้ำร้อน ที่
อุณหภูมิ 80 °C คนจนกระทั่งได้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้น
เติม Xanthan gum, Glycerine, 95% Ethanol, สารสกัด
บัวบกในแอลกอฮอล์, disodium EDTA และ Paraben
concentration คนสารละลายอย่างรวดเร็วจนสารละลาย
เป็นเนื้อเดียวกัน ปิด Paraffin film แล้วนำไปใส่
ฟองอากาศด้วยเครื่อง Sonicator

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบในตำรับมาร์กพอกหน้า ชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

สารเคมี	ความเข้มข้นในตำรับที่ (%w/w)			
	1	2	3	4
PVA	15	15	15	15
Glycerine	6	6	6	6
95%Ethanol	15	15	15	15
Xanthan gum	1	1	1	1
สารสกัดบัวบก	0	1	2	4
Purified water to	100			

4. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับ

วัด pH ด้วย pH test strip สังเกตสี/ความใส
และวัดความหนืดของตำรับที่ได้ แล้วบันทึกผล

5. ทดสอบหา Drying time

เทสารละลายที่เตรียมได้ลงบน Plastic plate
ปริมาณ 3 กรัม ชั่งน้ำหนักเริ่มต้น และนำไปทดสอบหา
Drying time โดยใช้เครื่อง Water bath shaker ที่
อุณหภูมิ 37 °C นำออกมาชั่งน้ำหนักทุก 15 นาที จน
แผ่นฟิล์มสามารถลอกออกได้ บันทึกผล



6. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ได้

เทสสารละลายที่เตรียมได้ลงบน Plastic plate ปริมาณ 3 กรัม นำไปอบใน Hot air oven อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดความหนาของแผ่นฟิล์มที่ได้ หลังอบ ตัดแผ่นฟิล์มให้ได้ขนาด 0.6x4 cm เพื่อนำไปวัด Tensile strength และ Elongation at break และตัดให้ได้ขนาด 2x5 cm เพื่อนำไปวัด Adhesion strength ด้วยเครื่องด้วยเครื่อง Texture Analyzer บันทึกผล

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับพื้น

ตำรับ ที่	ปริมาณ 95% Ethanol (%w/w)	pH	สี/ความใส	drying time ที่ 37 °C (นาที)	ค่าความหนืด (cP)
1	0	6.1	ใส	75	74.93
2	2	6.1	ใส	60	91.77
3	6	6.1	ใส	60	92.36
4	10	6.1	ใส	60	100.8
5	12	5.9	ใส	60	307
6	15	5.9	ใส	45	335.6

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเติม 95% Ethanol ปริมาณที่เพิ่มขึ้น ทำให้ตำรับมี pH ลดลง ประมาณ 5.9-6.1 และค่าความหนืดของตำรับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสัดส่วนของน้ำในตำรับที่ลดลงและมีการระเหยของ Ethanol ไปบางส่วน นอกจากนี้พบว่าสัดส่วนของ 95% Ethanol ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยลด Drying time ที่ 37°C โดยต่ำสุดอยู่ที่ 45 นาที (95% Ethanol ปริมาณ 15 %w/w แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ (Ethanol ในตำรับเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลลด Drying time แต่มีความสัมพันธ์แบบ Nonlinear relationship)Berings et al, 2013และหากใส่ (Ethanol มากเกินไปจะทำให้ PVA ในตำรับจับกันเป็นก้อนสีขาวได้และอาจทำให้เกิดการคายเคืองต่อผิวหนัง

ผลการศึกษาวิจัย

จากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับพื้น เมื่อเติม 95% Ethanol ความเข้มข้น 0, 2, 6, 10, 12 และ 15 % w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA และ Glycerine ความเข้มข้น 15 และ 6 %w/w ตามลำดับ ได้ผลดังตารางที่ 1

จากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของตำรับมาร์กพอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก เมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ 0, 1, 2 และ 4 %w/w ตามลำดับ ลงในสารละลายที่มี PVA, Glycerine, 95% Ethanol, Xanthan gum, disodium EDTA และ Paraben concentration ความเข้มข้น 15, 6, 15, 1, 0.1 และ 1 %w/w ตามลำดับ ได้ผลดังตารางที่ 2 ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ ปริมาณที่เพิ่มขึ้น pH ไม่เปลี่ยนแปลง ตำรับมีสีเขียวเข้มขึ้น Drying time ลดลง (ต่ำสุด)30นาทีและค่าความหนืด (ลดลง อาจเนื่องมาจากผลของแอลกอฮอล์ที่ใช้สกัดบัวบก ทำให้ในตำรับมีปริมาณแอลกอฮอล์มากขึ้นจนไปรบกวนการพองตัวของ PVA



ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับมาร์กพอกหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

ตำรับ ที่	ปริมาณ สารสกัดบัวบกใน แอลกอฮอล์ (%w/w)	pH	สี/ความใส	drying time ที่ 37 °C (นาที)	ค่าความหนืด (cP)
1	0	5.9	สีเหลือง/ขุ่น	30	781
2	1	5.9	สีเขียวเข้ม	35	1,085
3	2	5.9	สีเขียวเข้ม	35	478.5
4	4	5.9	สีเขียวเข้ม	30	308.6

ตารางที่ 5 คุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้

ตำรับ ที่	ปริมาณ สารสกัดบัวบกใน แอลกอฮอล์ (%w/w)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Adhesion Strength (N/m)
1	0	2.561±0.281	26.533±4.406	2.565±0.352
2	1	3.915±0.584	31.2±7.663	1.512±0.075
3	2	3.409±0.481	26±1.833	1.773±0.767
4	4	3.273±0.450	30.133±4.805	1.5±0.163

จากการทดสอบคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ได้ ดังตารางที่ 3 ตำรับที่เติมสารสกัดบัวบก มีค่า Tensile strength และ Elongation at break เพิ่มขึ้น แต่ค่า Adhesion strength ลดลงเมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้เติมสารสกัดบัวบก

สรุปได้ว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นมีผลลด Drying time ที่ 37°C และเพิ่มความหนืดของตำรับพื้น แต่เมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ ทำให้ความหนืดของตำรับลดลง และทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่มีแรงยึดเกาะลดลงเมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้เติมสารสกัดบัวบก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อส่งเสริมสมรรถนะหลักและการพัฒนาคณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปี 2557 และทุนสนับสนุนจากโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

- นุศวดี พจนานุกิจ, สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดขมมันชันและใบบัวบก. Naresuan University Journal 2553:1-8.
- จันทร์พร ทองเอกแก้วสมุนไพรมากคุณประโยชน์ :บัวบก. Centella asiatica (Linn.) Urban: A Very Useful Herb. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 2556:3:70-5.
- Beringhs AOR, Rosa JM, Stulzer HK, Budal RM and Sonaglio D. Green Clay and Aloe Vera



Peel-Off Facial Masks: Response Surface
Methodology Applied to the Formulation
Design. AAPSP PharmSciTech 2013;14:445-
55.

DeNaverre MG. The chemistry and manufacture of
cosmetics. 2nd ed. Orlando: ontinenta, 1975.

Pichayakorn W, Boonme P and Taweepreda W.
Preparation of Peel-off Mask from
Deproteinized Natural Rubber Latex.
Advanced Materials Research 2013;747
:95-8.

Rowe RC, Sheskey PJ and Quinn MC. Handbook of
Pharmaceutical Excipients. 6th ed.
Washington, DC: American Pharmaceutical
Association, 2009.



ผลของปริมาณเอทานอลต่อลักษณะทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของ ตำรับมาร์กหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์

จิตาภา เงินกระโทก, ปรีตรา วรชื่น, อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ และวริษฐา ศิลาอ่อน
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อำเภอวารินชำราบ, จังหวัดอุบลราชธานี, 34190

บทนำ

การมาร์กหน้าเพื่อการฟื้นฟูสภาพผิวเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะพัฒนาตำรับมาร์กหน้าชนิดลอกออกโดยนำสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ มาผสมกับพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อฟิล์ม เมื่อแห้งอย่างสมบูรณ์สามารถลอกออกได้ และใช้ 95% เอทานอล เป็นตัวเร่งการทำแห้งเพื่อลดระยะเวลาในแห้งของฟิล์ม

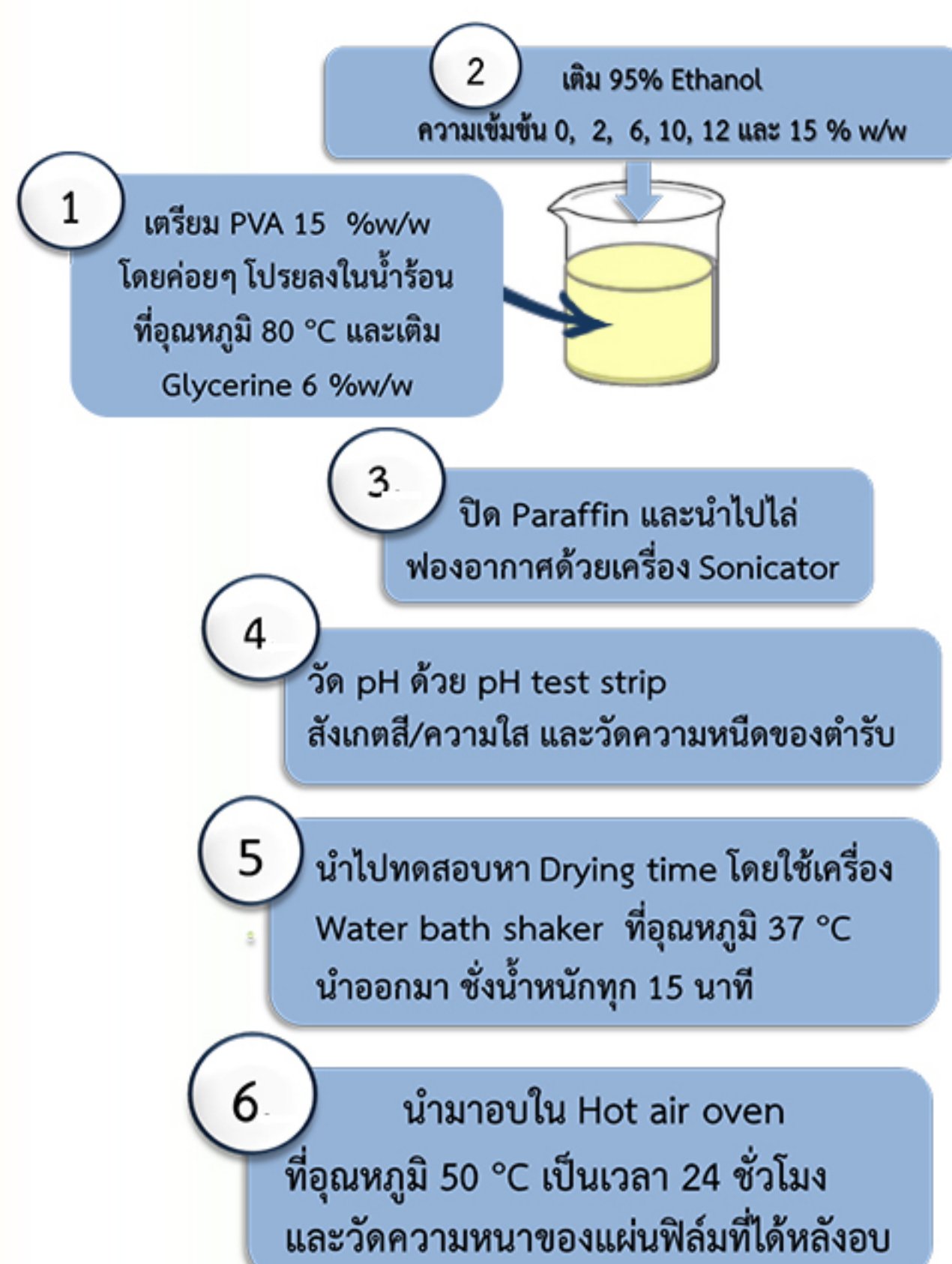
วัตถุประสงค์

ศึกษาผลของเอทานอลต่อลักษณะทางกายภาพของตำรับพื้นและคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มมาร์กหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

วิธีการดำเนินการวิจัย

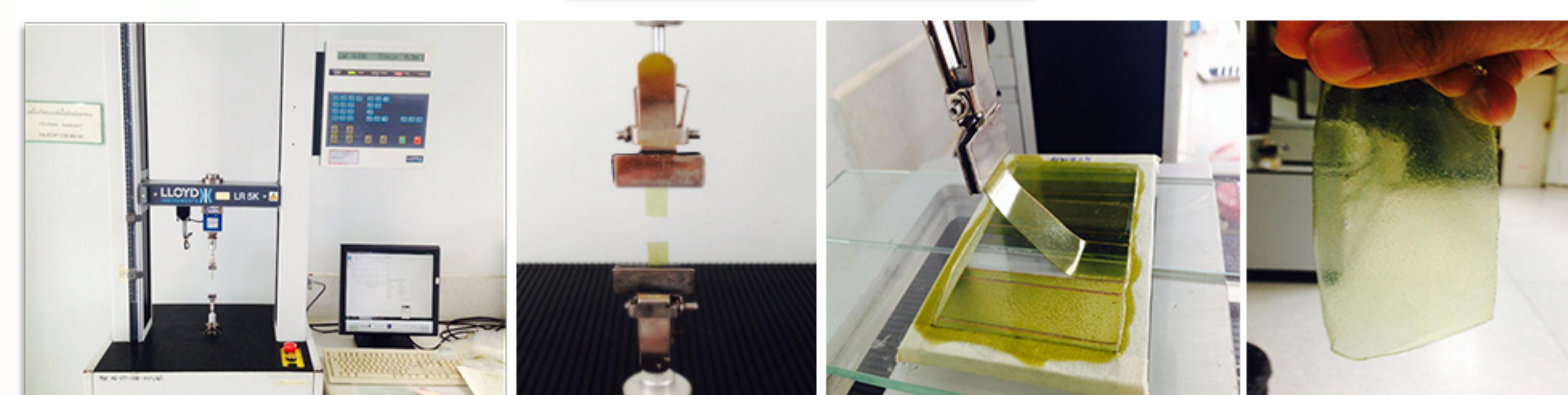
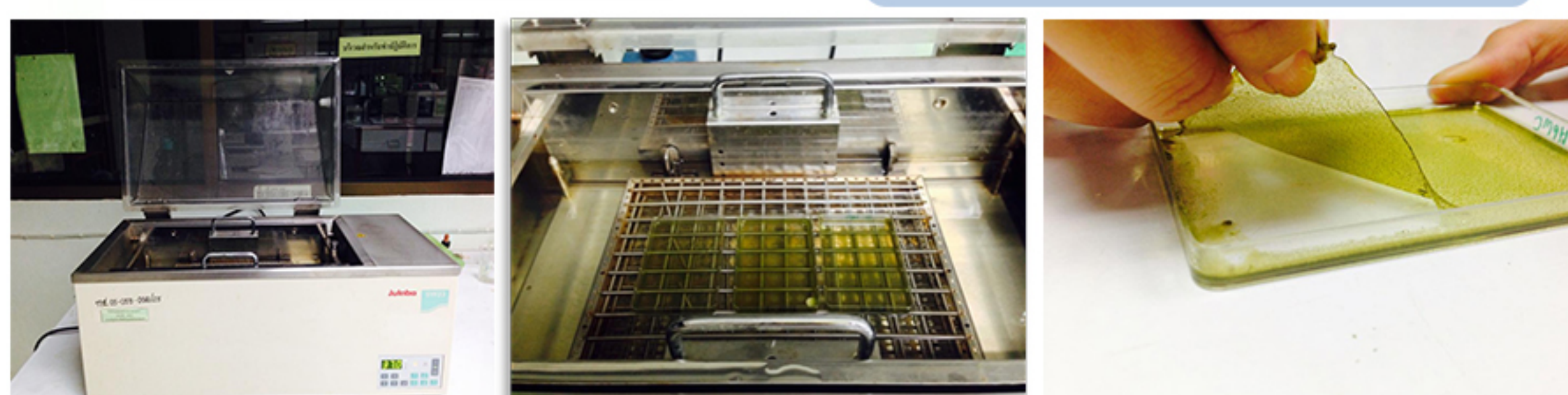
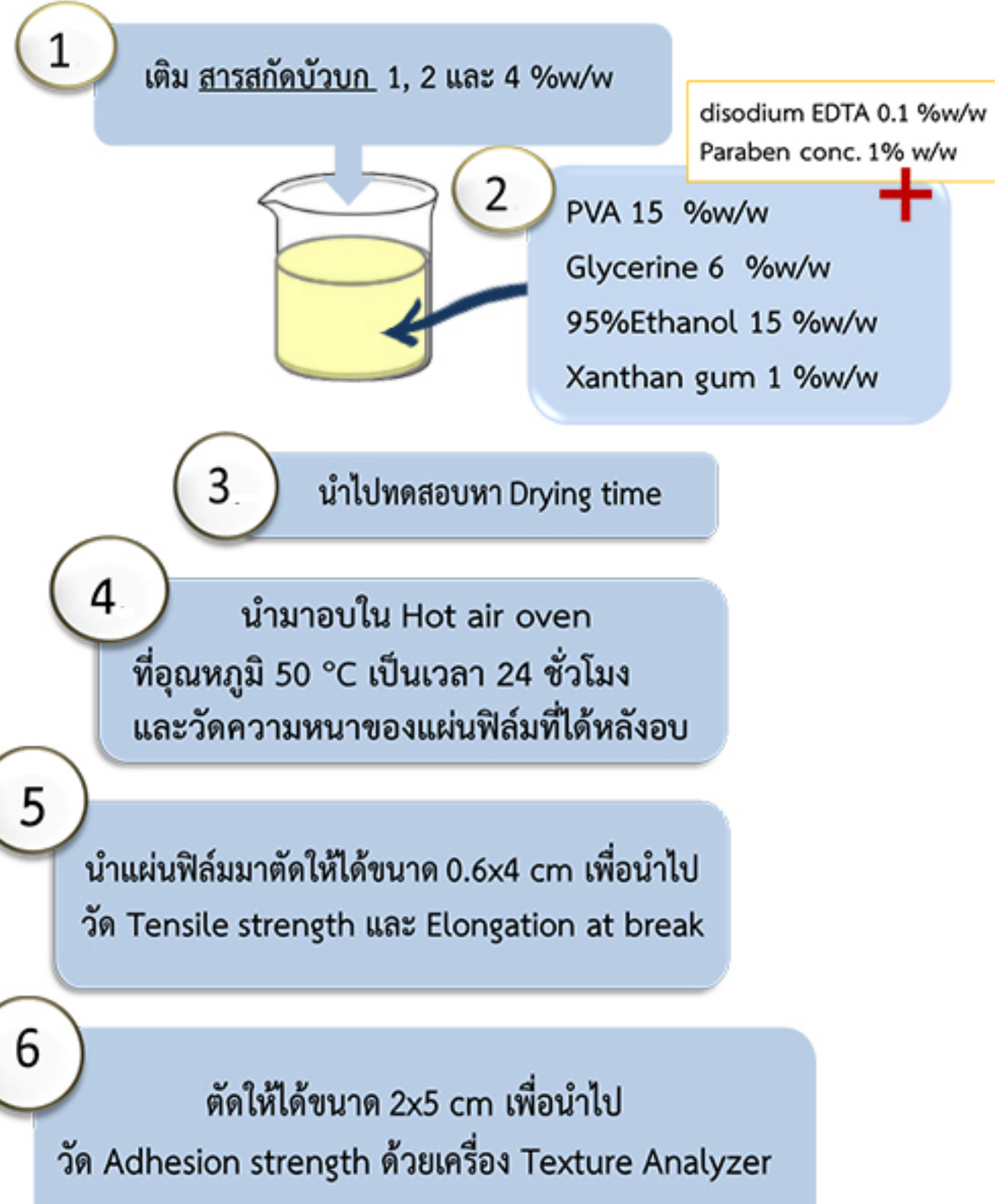
การเตรียมตำรับมาร์กหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

1.1 การเตรียมตำรับพื้น



1.2 การเตรียมตำรับมาร์กหน้า

ชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก



ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในตำรับพื้น

ตำรับที่	PVA (%w/w)	Glycerin (%w/w)	95% Ethanol (%w/w)
1	15	6	0
2	15	6	2
3	15	6	6
4	15	6	10
5	15	6	12
6	15	6	15

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบในตำรับมาร์กหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

สารเคมี	ความเข้มข้นในตำรับที่ (%w/w)			
	1	2	3	4
PVA	15	15	15	15
Glycerine	6	6	6	6
95% เอทานอล	15	15	15	15
Xanthan gum	1	1	1	1
สารสกัดบัวบก	0	1	2	4
Purified water to	100			

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพของตำรับพื้น

ตำรับที่	ปริมาณ 95% เอทานอล (%w/w)	pH	สี/ความใส	เวลาการทำแห้ง ที่ 37 °C (นาที)	ความหนืด (cP)
1	0	6.1	ใส	75	74.93
2	2	6.1	ใส	60	91.77
3	6	6.1	ใส	60	92.36
4	10	6.1	ใส	60	100.80
5	12	5.9	ใส	60	307.00
6	15	5.9	ใส	45	335.60

ตารางที่ 4 ลักษณะทางกายภาพของตำรับมาร์กหน้าชนิดลอกออกที่มีส่วนผสมของสารสกัดบัวบก

ตำรับที่	ปริมาณ สารสกัดบัวบกใน แอลกอฮอล์ (%w/w)	pH	สี/ความใส	เวลาการทำแห้ง ที่ 37 °C (นาที)	ความหนืด (cP)
1	0	5.9	สีเหลือง/ขุ่น	30	781.00
2	1	5.9	สีเขียวเข้ม	35	1,085.00
3	2	5.9	สีเขียวเข้ม	35	478.50
4	4	5.9	สีเขียวเข้ม	30	308.60

ตารางที่ 5 คุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม

ตำรับที่	ปริมาณ สารสกัดบัวบกใน แอลกอฮอล์ (%w/w)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Adhesion Strength (N/m)
1	0	2.56±0.28	26.53±4.41	2.57±0.35
2	1	3.92±0.58	31.20±7.66	1.51±0.08
3	2	3.41±0.48	26.00±1.83	1.77±0.77
4	4	3.27±0.45	30.13±4.80	1.50±0.16

สรุปผลการทดลอง

ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นมีผลลดเวลาการทำแห้งของแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 37°C และเพิ่มความหนืดของตำรับพื้น เมื่อเติมสารสกัดบัวบกในแอลกอฮอล์ ทำให้ความหนืดของตำรับลดลง และทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่มีแรงยึดเกาะลดลงเมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้เติมสารสกัดบัวบก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อส่งเสริมสมรรถนะหลักและการพัฒนา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปี 2557 และทุนสนับสนุน จากโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ประจำปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา อนุลักขณาภรณ์. สมุนไพรบัวบก(3)บัวบก. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. นนทบุรี, 2550:1-60.
- Beringhs AOR, Rosa JM, Stulzer HK, Budal RM and Sonaglio D. Green Clay and Aloe Vera Peel-Off Facial Masks: Response Surface Methodology Applied to the Formulation Design. AAPS PharmSciTech 2013;14:445-55.