641.806
ร310ร
ปริจาค

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยย่อย เรื่อง
การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหย
ของพืชตระกูลส้ม

Formulation of health products containing
volatile oil from *Citrus* species

ภายใต้ชุดโครงการวิจัย
เรื่อง การพัฒนาพืชสมุนไพรตระกูลส้ม
เพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ

18 พ.ค. 2549

ผู้วิจัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก
ทุนอุดหนุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประจำปี 2547

h 251706

บทคัดย่อภาษาไทย

ปัจจุบันมีการกล่าวอ้างสรรพคุณของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม อาทิเช่น ช่วยในการกระตุ้น ทำให้รู้สึกสดชื่น ช่วยชะลอความแก่ และลดความหมองคล้ำของสีผิว อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มที่มีคุณภาพ และให้ผลทางการรักษายังมีน้อย ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม ได้แก่ น้ำมันมะกรูด น้ำมันส้มเลือด และน้ำมันเกรฟฟรุท โดยทำการพัฒนาตำรับใช้ภายนอกในรูปของครีมทาผิว โลชันทาผิว เจลทาผิว และอิมัลเจลทาผิว ที่ความเข้มของน้ำมันหอมระเหย 0.25 – 20% โดยน้ำหนัก มีการประเมินคุณภาพของตำรับที่พัฒนาในส่วนของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณภาพด้านการใช้ การทดสอบความคงสภาพของตำรับในระยะสั้นและระยะยาว รวมทั้งทำการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายและอาสาสมัคร ผลการศึกษาพบว่าตำรับครีมทาผิวที่ความเข้มข้น 20% โดยน้ำหนัก และตำรับเจลทาผิวที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก มีระดับการประเมินคุณภาพของตำรับที่ดีที่สุด ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่ายและอาสาสมัคร และพบว่าตำรับดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีตลอดระยะเวลาหนึ่งปีครึ่งที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาหนึ่งปีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และระยะเวลาหกเดือนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

กล่าวโดยสรุป ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในการประยุกต์ใช้ทางเครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์สุขภาพที่พัฒนาขึ้นนี้มีศักยภาพที่จะนำไปทดลองผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ: น้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม ครีมทาผิวพืชตระกูลส้ม เจลทาผิวพืชตระกูลส้ม ผลิตภัณฑ์สุขภาพ

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Presently, the three main claimed activities of the essential oil of *Citrus* species (Rutaceae) are stimulating/refershing, anti-aging and whitening effects. However, there is a little quality health products containing essential oils from *Citrus* species in medicated cosmetic application. Therefore the main objective of this study was to develop the health products from essential oils of *Citrus* species, i.e. *Citrus hystrix (Kaffir lime oil)*, *Citrus reticulata (Mandarin red oil)*, *Citrus paradise (Grapefruit oil)*. Topical formulations from the essential oils of *Citrus* species were developed into four different dosage forms, i.e. cream, lotion, gel and emulgel at the concentration 0.25-20% w/w. The formulations were evaluated in terms of physicochemical properties and organoleptic feature. Stability studies of the formulations were evaluated at short term and long term stabilities. In addition, skin irritation test in rabbits and human volunteers were performed. The results showed that both 20%w/w topical cream and 5%w/w topical gel formulations had the best physicochemical properties and organoleptic feature as well as had no irritation to either rabbits or human volunteers. Furthermore, these formulations were found to be physically and chemically stable over periods of one and a half year at room temperature, one year at 25^{o}C and six months at 4^{o}C.

In conclusion, this study demonstrated the potential of health products containing essential oils from *Citrus* species in cosmetic application. In addition, these health products have strong potential to be further study in industrial scales.

Key words: *Citrus* oils, *Citrus* cream, *Citrus* gel, Health products

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ได้ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2547 ขอกราบขอบพระคุณที่ปรึกษาโครงการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรลักษณา แพรัตกุล ที่ช่วยแนะนำและให้คำปรึกษามาโดยตลอด ตลอดจนผู้ช่วยวิจัยทุกท่านที่ช่วยผลักดันให้งานวิจัยชิ้นนี้เสร็จลุล่วงไปด้วยดี

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ

กันยายน 2548

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
บัญชีตาราง	vii
บัญชีภาพประกอบ	xi
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์	14
วิธีการวิจัย	20
ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม	
1. สูตรตำรับอิมัลชัน	
1.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับอิมัลชัน	21
1.2 การพัฒนาสูตรตำรับอิมัลชัน	22
1.2.1 สูตรตำรับครีมทาผิว	22
1.2.2 สูตรตำรับโลชันทาผิว	27
1.3 การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลชัน	30
2. สูตรตำรับเจลทาผิว	
2.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับเจลทาผิว	34
2.2 การพัฒนาสูตรตำรับเจลทาผิว	35
2.3 การประเมินคุณภาพของตำรับเจลทาผิว	39
3. สูตรตำรับอิมัลเจลทาผิว	
3.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับอิมัลเจลทาผิว	39
3.2 การพัฒนาสูตรตำรับอิมัลเจลทาผิว	39

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว 41

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร

1. การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง 42

2. การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร 45

บทที่ 4 ผลการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

1. สูตรตำรับครีมทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับครีมทาผิว 49

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับครีมทาผิว 50

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับครีมทาผิว 52

ง. การประเมินค่า pH และชนิดของอิมัลชันของตำรับครีมทาผิว 53

2. สูตรตำรับโลชันทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับโลชันทาผิว 55

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับโลชันทาผิว 57

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพ และค่า pH ของตำรับโลชันทาผิว 59

ง. การประเมินชนิดของอิมัลชันของตำรับโลชันทาผิว 60

จ. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงคุณภาพ 61

3. สูตรตำรับเจลทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับเจลทาผิว 69

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับเจลทาผิว 71

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิว 74

ง. การประเมินค่า pH ของตำรับเจลทาผิว 76

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4. สูตรตำรับอิมัลเจลทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว 78

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับอิมัลเจลทาผิว 79

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว 81

ง. การประเมินค่า pH และชนิดของอิมัลเจล
ของตำรับอิมัลเจลทาผิว 82

**ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพ
จากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร**

2.1 ผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอม
ระเหยของพืชตระกูลส้มในกระต่าย 84

2.2 ผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอม
ระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร 97

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 102

เอกสารอ้างอิง 107

ภาคผนวก 110

ประวัติย่อผู้วิจัย 115

บัญชีตาราง

หน้า

ตารางที่ 3-1 องค์ประกอบของตำรับครีมน้ำมันมะกรูด Lot ที่ 1 24

ตารางที่ 3-2 องค์ประกอบของตำรับครีมน้ำมันมะกรูด Lot ที่ 2 26

ตารางที่ 3-3 องค์ประกอบของตำรับโลชันเบสที่พัฒนาสูตรตำรับ 28

ตารางที่ 3-4 องค์ประกอบของตำรับโลชันทาผิวน้ำมันหอมระเหย
จากพืชตระกูลส้ม 29

ตารางที่ 3-5 องค์ประกอบและหน้าที่ของสารแต่ละตัวในตำรับเจลทาผิว 36

ตารางที่ 3-6 องค์ประกอบของตำรับเจลทาผิวน้ำมันหอมระเหยจากน้ำมัน
มะกรูด 37

ตาราง 3-7 องค์ประกอบสูตรตำรับอิมัลเจลน้ำมันมะกรูด 39

ตารางที่ 4-1 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของครีมทาผิว 49

ตารางที่ 4-2 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกขณะทา)
ของครีมทาผิว 50

ตารางที่ 4-3 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกหลังทา)
ของครีมทาผิว 51

ตารางที่ 4-4 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว 52

ตารางที่ 4-5 ผลการประเมินค่า pH และ ชนิดของ emulsion ของตำรับครีมทาผิว 53

ตารางที่ 4-6 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของ
ตำรับโลชันทาผิว (เร่งโดยอุณหภูมิ) 55

ตารางที่ 4-7 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของตำรับโลชันทาผิว
(เร่งโดยแรงโน้มถ่วงของโลก) 56

ตารางที่ 4-8 ผลการประเมินคุณภาพด้านการใช้ของตำรับโลชันทาผิว 57

ตารางที่ 4-9 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพ และค่า pH ของโลชันทาผิว 59

ตารางที่ 4-10 ผลการประเมินชนิดของอิมัลชันของตำรับโลชันทาผิว 60

ตารางที่ 4-11 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของ
เจลทาผิวน้ำมันมะกรูด 69

บัญชีตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4-12 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด 70

ตารางที่ 4-13 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกขณะทา) ของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด 71

ตารางที่ 4-14 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกขณะทา) ของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด 72

ตารางที่ 4-15 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกหลังทา) ของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด 73

ตารางที่ 4-16 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกหลังทา) ของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด 73

ตารางที่ 4-17 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด 74

ตารางที่ 4-18 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด 75

ตารางที่ 4-19 ผลการประเมินค่า pH ของตำรับเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด 76

ตารางที่ 4-20 ผลการประเมินค่า pH ของตำรับเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด 76

ตารางที่ 4-21 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของอิมัลเจลทาผิว 78

ตารางที่ 4-22 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกขณะทา) ของอิมัลเจลทาผิว 79

ตารางที่ 4-23 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ (ความรู้สึกหลังทา) ของอิมัลเจลทาผิว 80

ตารางที่ 4-24 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว 81

ตารางที่ 4-25 ผลการประเมินค่า pH และชนิดของตำรับอิมัลเจลทาผิว 82

ตารางที่ 4-26a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 20% ครีมผลมะกรูด (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 85

บัญชีตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4-26b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 20% ครีมผลมะกรูด (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 86

ตารางที่ 4-27a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 20% ครีมใบมะกรูด (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 87

ตารางที่ 4-27b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 20% ครีมใบมะกรูด (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 88

ตารางที่ 4-28a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% เจลผลมะกรูด (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 89

ตารางที่ 4-28b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% เจลผลมะกรูด (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 90

ตารางที่ 4-29a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% เจลใบมะกรูด (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 91

ตารางที่ 4-29b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% เจลใบมะกรูด (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 92

ตารางที่ 4-30a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของอิมัลเจล EPL11 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:1) (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 93

ตารางที่ 4-30b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของอิมัลเจล EPL11 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:1) (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 94

ตารางที่ 4-31a ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของอิมัลเจล EPL19 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:9) (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง) 95

ตารางที่ 4-31b ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของอิมัลเจล EPL19 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:9) (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง) 96

บัญชีตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4-32 ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร ของ 20% ครีมผลมะกรูด 98

ตารางที่ 4-33 ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร ของ 20% ครีมใบมะกรูด 99

ตารางที่ 4-34 ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร ของ 5% Gel ผลมะกรูด 100

ตารางที่ 4-35 ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร ของ 5% Gel ใบมะกรูด 101

บัญชีภาพประกอบ

หน้า

รูปที่ 2-1 ลักษณะของผลมะกรูด ต้นมะกรูด และใบมะกรูด 10

รูปที่ 2-2 ลักษณะของ *Citrus reticulata* 11

รูปที่ 2-3 ลักษณะของ *Citrus paradisi* 12

รูปที่ 3-1 Solid phase microextraction (SPME) fiber และ SPME holder 18

รูปที่ 3-2 Gas Chromatography-Flame Ionization Detector 18

รูปที่ 3-3 Hand homogenizer 19

รูปที่ 3-4 การสกัดด้วยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) 33

รูปที่ 3-5 การเตรียมกระต่ายก่อนการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม 44

รูปที่ 3-6 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มในกระต่าย 44

รูปที่ 3-7a การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร 47

รูปที่ 3-7b การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร 47

รูปที่ 4-1 ตำรับครีมทาผิวจากน้ำมันมะกรูด 54

รูปที่ 4-2 ตำรับครีมทาผิวจากน้ำมันใบมะกรูด 54

รูปที่ 4-3 GC Chromatogram ของ SPME Fiber 61

รูปที่ 4-4 GC Chromatogram ของ Lotion base 62

รูปที่ 4-5 GC Chromatogram ของ Kaffir lime leaf oil lotion 63

รูปที่ 4-6 GC Chromatogram ของ Kaffir lime leaf oil 64

รูปที่ 4-7 GC Chromatogram ของ Grapefruit oil lotion 65

รูปที่ 4-8 GC Chromatogram ของ Grapefruit oil 66

รูปที่ 4-9 GC Chromatogram ของ Mandarin red oil lotion 67

รูปที่ 4-10 GC Chromatogram ของ Mandarin red oil 68

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4-11 ตำรับเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูด 77

รูปที่ 4-12 ตำรับเจลทาผิวจากน้ำมันใบมะกรูด 77

รูปที่ 4-13 ตำรับอิมัลเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด สัดส่วน 1:1 83

รูปที่ 4-14 ตำรับอิมัลเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด สัดส่วน 1:9 83

บทที่ 1
บทนำ

สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญมากของประเทศไทย และบางชนิดก็จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด ส้มโอ สมุนไพรเป็นหลักฐานทางภูมิปัญญาชาวบ้านที่สืบทอดกันมายาวนานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยการนำเอาสมุนไพรจากแหล่งธรรมชาติมาใช้เป็นยารักษาโรค ใช้เป็นอาหาร ใช้ในเครื่องสำอาง และใช้ประโยชน์ในทางเกษตรกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้ส่วนใหญ่ของประเทศมาจากสินค้าและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ดังนั้นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกพืชสมุนไพร การปรับปรุงสภาวะแวดล้อมในการปลูกพืชสมุนไพรจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตซึ่งนำไปสู่การเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่ง

ในปัจจุบันกระแสความตื่นตัวในการดูแลสุขภาพด้วยทางเลือกอื่น (การแพทย์ทางเลือก, Alternative medicine) นอกเหนือจากการแพทย์แผนปัจจุบัน (Allopathic medicine) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นทั่วโลกซึ่งสังเกตได้จากการกระจายของแนวคิดและรูปแบบการบำบัดรักษาด้วยทางเลือกอื่นๆ โดยผ่านทางสื่อมวลชน การขยายตัวของตลาดผลิตภัณฑ์สุขภาพ รวมทั้งคลินิกบริการ สำหรับประเทศไทยการแพทย์ทางเลือกได้รับความสนใจมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหย (Aromatherapy) น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่สกัดมาจากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ เปลือก ผล และราก ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช เช่น น้ำมันมะลิ สกัดจากดอก หรือ sandalwood oil สกัดมาจากเปลือกไม้ เป็นต้น รูปแบบของการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหยมีหลากหลาย เช่น การนวด การสูดดมน้ำมันหอมระเหยจากเตาเผา (burner) การใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สุขภาพต่างๆ เช่น ครีมล้างหน้า โลชันทาผิว ครีมบำรุงผิวหน้า ครีมอาบน้ำ เป็นต้น

น้ำมันหอมระเหยสามารถสกัดได้จากพืชสมุนไพรหลากหลายชนิด น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม (*Citrus* species) ก็เป็นหนึ่งในน้ำมันหอมระเหยที่มีประโยชน์มากมาย เช่น ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์สุขภาพ ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและน้ำหอม ใช้ในการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น เมื่อพิจารณาในแง่เศรษฐกิจพืชตระกูลส้มจัดเป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งในประเทศไทย เชื่อกันว่ามีกำเนิดในประเทศแถบตะวันออกเฉียงใต้ ทวีปเอเชียเจริญเติบโตได้ดีในเขตโซนร้อน หรือ กึ่งร้อน กึ่งหนาว ดังนั้นประเทศไทยถือว่ามีดินฟ้าอากาศที่เหมาะแก่การปลูกพืชตระกูลส้ม สามารถให้ผลผลิตสูงและทำรายได้แก่เกษตรกรไทยเป็นอย่างดี

โดยเฉพาะส้มเขียวหวาน พื้นที่ทั้งหมดของประเทศไทย 320,736,762 ไร่ คิดเป็นพื้นที่ทำการเกษตร 165,773,976 ไร่ ในปี 2539/40 มีการปลูกส้ม 221,520 ไร่

ปริมาณและมูลค่าสินค้าขาออกของพืชตระกูลส้ม[1-4]

ชนิด	2534		2535		2536		2537		2538	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
ส้ม	1,710	12,684	3,175	21,024	4,760	28,202	2,251	14,307	2,514	64,941
ส้มเขียวหวาน	643	5,290	601	4,890	810	6,111	709	6,237	434	4,241
ส้มโอ	7,039	66,624	5,889	71,854	5,083	53,159	3,985	67,813	4,776	56,122
มะนาวฝรั่งสด	27	1,196	10	363	214	1,360	94	1,580	82	2,480

ปริมาณ หน่วยเป็นเมตริกตัน มูลค่า หน่วยเป็นพันบาท

จังหวัดที่ปลูกส้มเขียวหวานมาก เช่น ปทุมธานี นครนายก สระบุรี ตราด เป็นต้น ส่วนในจังหวัดนครนายก มีพื้นที่ 1,326,250 ไร่ พื้นที่ทำการเกษตร 837,039 ไร่ โดยส้มจัดเป็นเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับ 4 ของจังหวัด รองจาก ข้าว กล้วยน้ำว้า และ มะม่วง ส่วนมะนาวก็เป็นพืชในตระกูลนี้อีกชนิดหนึ่งที่มีการปลูกกันมากกระจายอยู่ในจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศ เช่น เพชรบุรี ราชบุรี สุราษฎร์ธานี เป็นต้น

ปัญหาของเกษตรกรที่พบจากการปลูกพืชตระกูลส้มมีหลายประการ อาทิเช่น ด้านปัจจัยการผลิต ได้แก่ ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมีราคาสูงขึ้นส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ปัญหาการระบาดของโรคและแมลง ปัญหาราคาผลผลิตตกต่ำในช่วงที่มีผลผลิตออกมามากในบางฤดูกาล เกษตรกรขาดเทคโนโลยีการแปรรูปสินค้า ตลอดจนปัญหาของคุณภาพและปริมาณของผลผลิตไม่สม่ำเสมอ **จากปัญหาต่างๆ ของเกษตรกรที่เกิดขึ้นเหล่านี้ จึงเป็นแรงจูงใจให้คณะผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกพืชตระกูลส้มเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงสภาวะแวดล้อมในการปลูกให้เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มให้มีคุณภาพสม่ำเสมอ และมีปริมาณสูงซึ่งจะนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ และเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่งด้วย**

เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่จะมีกลิ่นหอมจึงนิยมนำไปใช้เป็นสารแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์สุขภาพ ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและน้ำหอม อย่างไรก็ตาม อุตสาหกรรมที่มีการใช้น้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ในประเทศยังคงต้องนำเข้าน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพจากต่างประเทศ

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันหอมระเหยของเรามีคุณภาพไม่ดีพอ วิธีการผลิตไม่เหมาะสม ต้นทุนการผลิตสูง ผลิตแล้วไม่คุ้มทุน จากปัญหาต่างๆ เหล่านี้ ทำให้คณะผู้วิจัยมุ่งหวังที่จะพัฒนาวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มให้มีประสิทธิภาพ สะดวก รวดเร็ว และต้นทุนต่ำ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพในปริมาณสูง

ปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการบำบัดรักษามากขึ้น ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มก็เป็นที่นิยมกันมาก เช่น lemon oil (จากมะนาว), orange oil (จากส้ม) หรือ bergamot oil (จากมะกรูด) น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ สารพวก monoterpene โดยเฉพาะอย่างยิ่ง limonene มีรายงานว่า limonene มีฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง หรือนำมาใช้เป็น skin enhancer ในรูปแบบของยาต่างๆ นอกจากนี้พบว่าส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลส้มมีฤทธิ์ในการรักษาที่แตกต่างกัน[3-4] ได้แก่ มะนาว ผลใช้แก้ไอ หวัด และช่วยเจริญอาหาร เปลือกราก-ต้น ใช้แก้ไข้ ผิวใช้แก้ท้องขึ้น ท้องเฟ้อ แก้ลมวิงเวียน ปวดท้อง จุกเสียดแน่น น้ำมันหอมระเหยช่วยทำให้สดชื่น กระปรี้กระเปร่า มีกำลังวังชา เป็นต้น ซึ่งจะพบได้ว่าสรรพคุณของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มมีหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามยังขาดข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจนที่สนับสนุนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ต่อระบบประสาท (ส่วนกลางและส่วนปลาย) ฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต่อระบบหายใจ รวมทั้งผลต่อภาวะทางอารมณ์และจิตใจในมนุษย์ **ดังนั้นจากเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร ซึ่งน่าจะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการใช้น้ำมันหอมระเหยในการบำบัดรักษาโรค (aromatherapy)**

ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในแง่ของการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหย (aromatherapy) มีหลายรูปแบบ ได้แก่ น้ำมันนวด (massage oil) ครีมอาบน้ำ แชมพู ลูกกลิ้งทาตัว โลชันทาผิว หรือที่นิยมกันมากในขณะนี้คือ ในรูปของน้ำมันสูดดม มีรายงานว่าผลิตภัณฑ์สุขภาพเหล่านี้ส่วนใหญ่มีราคาค่อนข้างสูง และเป็นสินค้านำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งในความเป็นจริงแล้ว ถ้าเราสามารถผลิตน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพได้มาตรฐานแล้ว เพื่อให้เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ครบวงจร **เราควรนำน้ำมันหอมระเหยเหล่านั้นมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีคุณภาพเพื่อทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งยังเป็นการสร้างงานให้แก่เกษตรกรในการเข้าร่วมโครงการหนึ่งหมู่บ้านหนึ่งผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นการตอบสนองนโยบายเร่งด่วนของรัฐบาลด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จะมีการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม**

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยนอกจากจะทำการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ในแง่การปลูกพืช การสกัดน้ำมันหอมระเหย การควบคุมคุณภาพทั้งวัตถุดิบและน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหย การทดสอบ

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและความเป็นพิษแล้ว **เพื่อที่จะให้เป็นงานวิจัยที่ครบวงจรและเกิดประโยชน์สูงสุด จึงมีการศึกษาทางสังคมศาสตร์ในแง่ของทัศนคติ ความพึงพอใจ ตลอดจนการยอมรับในการใช้ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มที่พัฒนาขึ้นมา รวมถึงการตลาดของผลิตภัณฑ์ และที่สำคัญคือการศึกษาต้นทุนที่ใช้ในการผลิต การจัดสรรการกระจายของต้นทุน และการคำนวณจุดคุ้มทุนของผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการตลาด การพิจารณาทางเลือกที่เหมาะสมในการลงทุนและพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคต่อไป**

กล่าวโดยสรุป ชุดโครงการพัฒนาพืชสมุนไพรตระกูลส้มเพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ (Development *Citrus* species for health products industry) ประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อย (Sub – Program) 5 โครงการดังนี้

1.1 การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกพืชตระกูลส้ม

Analysis of volatile oil from *Citrus* species and study of influent factors for *Citrus* species production

1.2 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม

Pharmacological study of volatile oil from *Citrus* species

1.3 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

Formulation of health products containing volatile oil from *Citrus* species

1.4 การศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

A marketing feasibility study of health products containing volatile oil from *Citrus* species

1.5 การศึกษาติดตามต้นทุนของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มเพื่อวัตถุประสงค์เชิงอุตสาหกรรม

Cost monitoring of health products containing volatile oil from *Citrus* species for manufacturing purposes

หมายเหตุ: รายงานวิจัยเล่มนี้เป็นรายงานวิจัยของโครงการวิจัยย่อยที่ 3

วัตถุประสงค์หลักของชุดโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยของธาตุอาหารที่มีผลต่อการปลูกพืชตระกูลส้ม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำมันหอมระเหยให้มีคุณภาพได้มาตรฐาน

2. เพื่อศึกษาวิเคราะห์ และเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลส้มโดยวิธีการสกัดต่างๆ

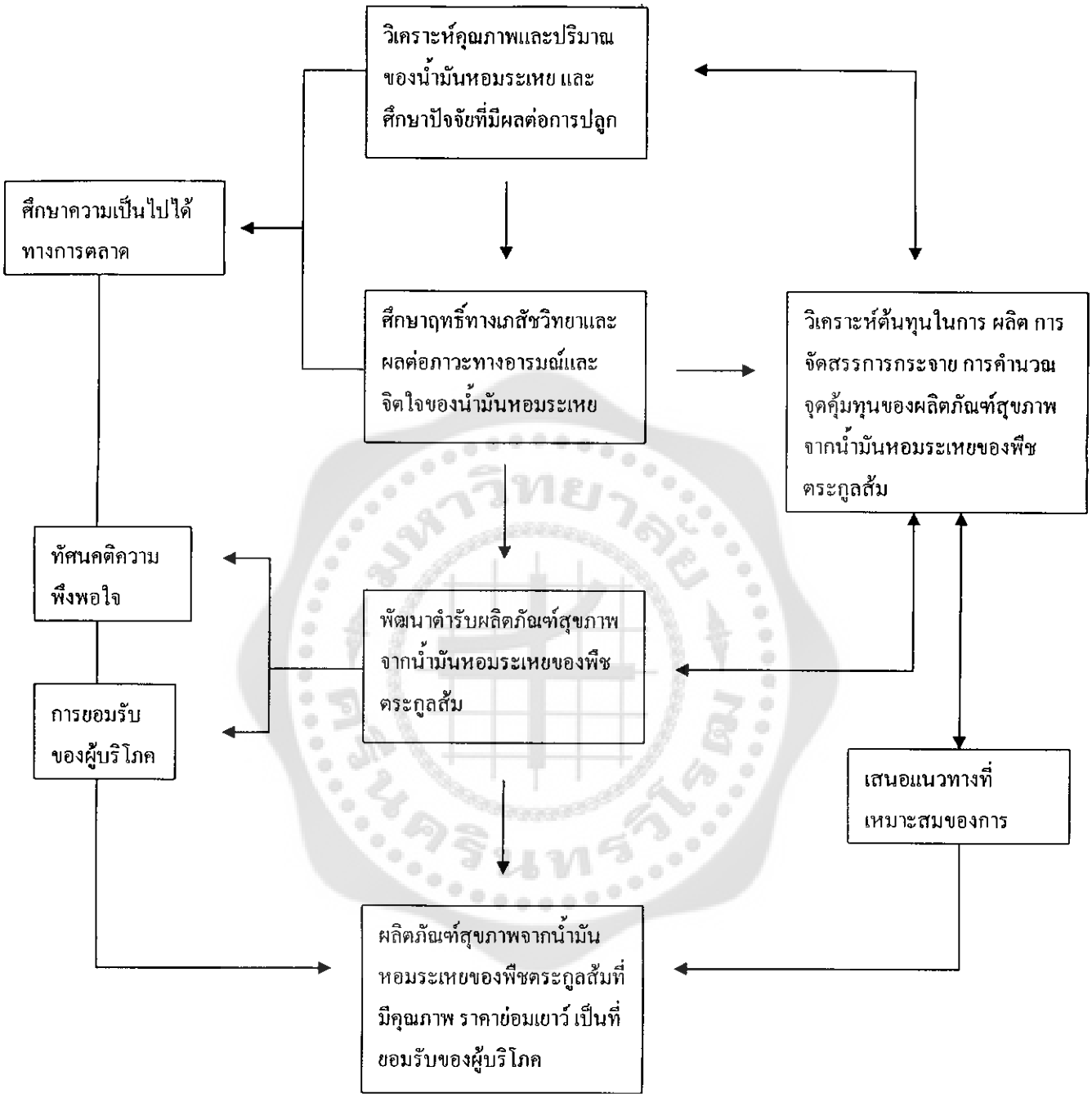
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ผลต่อภาวะทางอารมณ์และจิตใจของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มในรูปผลิตภัณฑ์จากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร

4. เพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

5. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

6. เพื่อศึกษาต้นทุนที่ใช้ในการผลิต การจัดสรรการกระจายของต้นทุน และการคำนวณจุดคุ้มทุนของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม พร้อมทั้งเสนอทางเลือกที่เหมาะสมของการลงทุนผลิตผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

ทฤษฎีหรือกรอบแนวความคิด (Conceptual Framework) ของชุดโครงการวิจัย



บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง (Reviewed Literature)

พืชตระกูลส้มเป็นพืชที่พบอยู่ทั่วไปในประเทศไทย และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญคือ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว มะกรูด เป็นต้น มีรายงานว่าส้มเขียวหวาน และส้มโอเป็นพืชที่นิยมปลูกเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ในเขตจังหวัดปทุมธานี และนครนายก ส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลนี้คือ สารประกอบพวก monoterpene ซึ่งส่วนใหญ่เป็น limonene จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่า limonene มีฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง[5-6] และจากการศึกษาส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากส่วนผลของต้น *Anethum graveolens* ซึ่งมีฤทธิ์ในการขับปัสสาวะ พบว่ามี limonene, dillapiole และ carvone[7] เป็นส่วนประกอบหลักอยู่ถึง 79% นอกจากนี้ได้มีการนำ limonene มาใช้เป็นสารช่วยเพิ่มการซึมผ่านยาทางผิวหนัง[8-20] โดยสามารถเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของ propanolol ที่เตรียมในรูป hydrogel patch และจากรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัตินี้อีกมากมาย โดยเชื่อว่า limonene สามารถเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของยาโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชั้นหนังกำพร้า (stratum corneum) โดยเพิ่ม lipid fluidity ทำให้เพิ่มการ partition ของยาผ่านทางผิวหนัง และเชื่อว่า limonene จะไปขจัด ceramides ออกจาก cornified cells ทำให้การซึมผ่านของยาทางผิวหนังเป็นไปได้ดีขึ้น จากรายงานการศึกษาวิจัยเพื่อนำ limonene มาใช้ในตำรับยาทางผิวหนังกันอย่างแพร่หลายย่อมแสดงว่าการนำส่งยาผ่านทางผิวหนังน่าจะเป็นวิถีทางหนึ่งในการนำส่ง limonene เข้าสู่ร่างกาย และในผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อนำส่งยาผ่านทางผิวหนังและมีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบอยู่ในตำรับด้วยจะสามารถเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของ limonene มากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่เข้าสู่ร่างกายโดยการนวดมีปริมาณสูงกว่าการให้โดยการรับประทานร่วมกับอาหารและการสูดดม นอกจากนี้การนวดยังเป็นการเพิ่มอุณหภูมิให้กับผิวหนังบริเวณนั้น ซึ่งเป็นผลให้ค่า apparent penetration rate ของ limonene บนผิวหนังบริเวณดังกล่าวสูงขึ้น

ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยคือ น้ำมันหอมระเหยสามารถระเหยได้ง่าย ซึ่งอาจส่งผลในเรื่องของความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ และอาจเกิดการเสื่อมสลายโดยปฏิกิริยา photo-oxidation จากปัญหาดังกล่าวอาจเป็นตัวบ่งชี้ว่าการที่จะนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ประโยชน์อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่สามารถลดการระเหยของน้ำมันหอมระเหย ป้องกันการเสื่อมสลายของน้ำมันหอมระเหย

โดยปฏิกิริยา oxidation ได้ ตลอดจนสามารถนำส่งน้ำมันหอมระเหยผ่านทางผิวหนังได้ และควรเป็นผลิตภัณฑ์ที่สะดวกต่อการนำไปใช้

การเตรียมในรูปแบบอิมัลชันเป็นรูปแบบหนึ่งที่นิยมใช้ในการเตรียมยาที่ตัวยาสำคัญเป็นของเหลว และเป็นรูปแบบที่สะดวกต่อการนำส่งยาผ่านทางผิวหนังโดยการนวด นอกจากนี้รูปแบบยาเตรียมเป็นการนำวัฏภาคภายในมากระจายตัวอยู่ในวัฏภาคภายนอกโดยอาศัยสารทำอิมัลชัน (emulsifier) ซึ่งจะดูดซับอยู่บริเวณรอยต่อระหว่างวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกเป็นตัวทำให้ระบบมีความคงสภาพอยู่ได้ ดังนั้นถ้าสามารถเตรียมอิมัลชันให้น้ำมันหอมระเหยละลายอยู่ในวัฏภาคภายในของระบบ มันจะถูกล้อมรอบด้วยชั้นของสารทำอิมัลชันและวัฏภาคภายนอก ซึ่งจะเป็นการลดการระเหยของน้ำมันหอมระเหยได้ดีกว่าที่จะเก็บไว้ในน้ำมันหอมระเหย และในการเตรียมเป็นอิมัลชันสามารถเติมสารประเภท true-antioxidant ลงไปในตำรับเพื่อป้องกันปัญหาการเกิด photo-oxidation ของน้ำมันหอมระเหยได้ด้วย

ในปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการบำบัดรักษา (aromatherapy) มากขึ้น โดยสังเกตจากผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ น้ำมันนวด (massage oil) ครีมอาบน้ำ แชมพู ลูกกลิ้งทาตัว โลชันทาผิว เจลทาผิวหรือที่นิยมกันมากในขณะนี้คือ ในรูปของน้ำมันสูตดม ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ส่วนใหญ่มีราคาค่อนข้างสูงและเป็นสินค้านำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งรูปแบบของผลิตภัณฑ์เป็นแบบที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะด้าน และไม่สะดวกต่อการเก็บรักษา และการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นความมุ่งหวังของการศึกษาวิจัยนี้คือ **พัฒนารูปแบบการนำส่งยาในรูปน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มให้อยู่ในรูปที่ใช้ง่าย สะดวกในการเก็บรักษา และเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีคุณภาพ โดยพัฒนาเป็นตำรับอิมัลชัน ได้แก่ ครีมทาผิว โลชันทาผิว เจลทาผิว และอิมัลเจลทาผิว**

เป็นที่ทราบกันว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มมีมากมายหลายชนิด งานวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มที่มีการใช้กันในการบำบัดรักษาด้วยน้ำมันหอมระเหย (aromatherapy) หรือใน medical spa มา 3 ชนิด ได้แก่ Kaffir lime oil เป็นน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด *(Citrus hystrix* DC.) Mandarin red oil เป็นน้ำมันหอมระเหยจากส้มเลือด *(Citrus reticulata)* และ Grapefruit oil เป็นน้ำมันหอมระเหยจาก *Citrus paradisi*

Kaffir Lime Oil จากมะกรูด *(Citrus hystrix DC.)*[3-4, 21-22]

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix DC.*

ชื่อสามัญ Leech Lime, Mauritius Papeda, Kaffir Lime, Porcupine Orange

ชื่อวงศ์ Rutaceae

ชื่อท้องถิ่น ภาคเหนือ เรียก มะขูด, มะขุน

ภาคใต้ เรียก ส้มกรูด, ส้มมั่วผี

เขมร เรียก โกร้ยเขียด

กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน เรียก มะขู

ลักษณะทั่วไป

มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แตกกิ่งก้าน ลำต้นและกิ่งมีหนามแข็ง ใบ เป็นใบประกอบที่มีใบย่อยใบเดียว สีเขียวหนา มีลักษณะคอดกิ่วที่กลางใบเป็นตอนๆ มีก้านแผ่ออกใหญ่เท่ากับแผ่นใบ ทำให้เห็นใบเป็น 2 ตอน ใบสีเขียวแก่ค่อนข้างหนา มีกลิ่นหอมมากเพราะมีต่อมน้ำมันอยู่ ดอกออกเป็นกระจุก 3 – 5 ดอก กลีบดอกสีขาว ร่วงง่าย ผล มีหลายแบบแล้วแต่พันธุ์ผลเล็กเท่ามะนาว ผิวขรุขระน้อยกว่าและไม่มีจุกที่หัว

การปลูก มะกรูดปลูกได้ดีในดินทุกชนิด ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด

ส่วนที่ใช้เป็นยา ผิว ผล ราก ใบ น้ำมะกรูด

สรรพคุณทางยา

ผิว รสปร่า หอมร้อน สรรพคุณแก้ลมหน้ามืด แก้วิงเวียน บำรุงหัวใจ ขับลมลำไส้ ขับระดู แก้ปวดท้อง ท้องอืดเฟ้อ

ผล รสเปรี้ยว มีสรรพคุณเป็นยาขับเสมหะ แก้ไอ แก้น้ำลายเหนียว ฟอกโลหิต แก้ปวดท้อง ใช้สระผมทำให้ผมดกดำ เงางาม และช่วยขจัดรังแค

ราก รสเย็นจืด แก้ไข้ร้อนในกระหายน้ำ แก้หวัด แก้พิษฝีภายใน ละลายเสมหะ แก้ลมจุกเสียด แก้ไข้กำเดา ถอนพิษผิดสำแดง

ใบ รสปร่าหอม แก้ไอ ขับเสมหะในลำคอ แก้อาเจียนเป็นโลหิต แก้ช้ำใน ขับลมลำไส้ และดับกลิ่นคาว มีสารต้านมะเร็ง

ส่วนประกอบในน้ำมะกรูด

มีกรดซิตริก (citric acid) เป็นสารหลัก คาร์โบไฮเดรต เส้นใย โปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 ไนอาซิน วิตามินซี

องค์ประกอบ

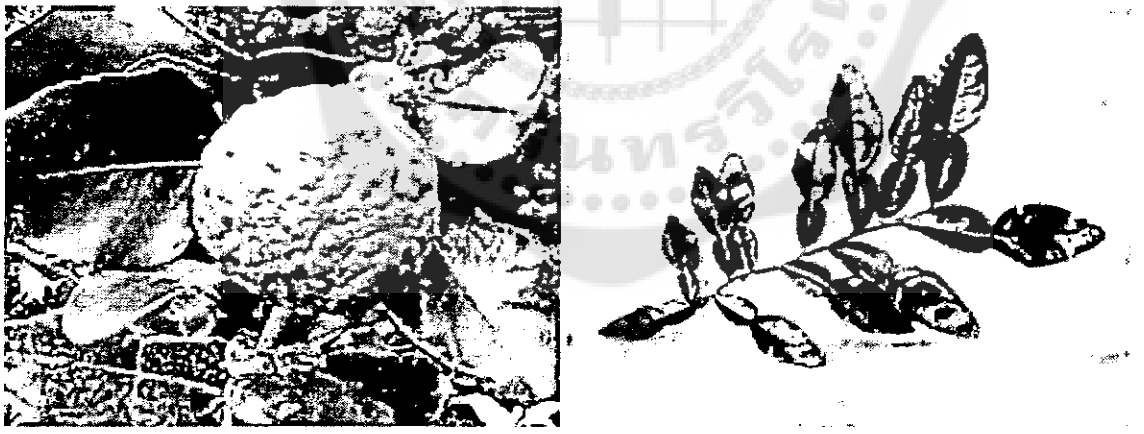
ascorbic acid, aviprin, borneol, caldinene, calamenene, calcium oxalate, camphene, caryophyllene, citronellal, citronellic acid, citronellol, citronellol acetate, cubenol, diosmin, elemol, elemin, geranial, geraniol, germacrene D, hesperidin, indole, limonene-4-ol, limonene, linalool, menthone, myrcene, neral, nerol, perillaldehyde, phellandrene, phytol, Pinine, rutin, sabinene, safrole, terpinene, terpineol, terpinolene, terpinolene, umbelliferone

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ต้านบิด ต้านการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูก กระตุ้นมดลูก ทำให้แท้ง ต้านการบีบตัวกล้ามเนื้อลำไส้ ลดความดันโลหิต ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ฆ่าเห็บ เหา ไล่ยุง แมลง ต้านการก่อกลายพันธุ์

การทดสอบความเป็นพิษ

พบว่าสารที่ได้จากการสกัดใบมะกรูดด้วยแอลกอฮอล์และน้ำ เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังหนูถีบจักร ในขนาด 10 กรัม/กิโลกรัม ไม่พบพิษเกิดขึ้น



รูปที่ 2-1 ลักษณะของผลมะกรูด ต้นมะกรูด และใบมะกรูด[21]

Mandarin Red Oil จากส้มเลือด *(Citrus reticulata)*[21-22, 34]

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus reticulata*

ชื่อวงศ์ Rutaceae

วิธีการสกัด วิธีบีบ (cold expression) จากเปลือก หรือการสกัดด้วยไอน้ำ (steam distillation) จาก เปลือกผล ใบและกิ่ง

สารสำคัญ 70% Limonene และ 20% gamma-Terpinene

ประโยชน์ เป็นผลไม้ที่ชาวจีนแมนดารินส่งเป็นเครื่องบรรณาการให้กับประเทศอื่น ประเทศฝรั่งเศสนำมารักษาอาการปวดท้อง เป็นน้ำมันที่มีความปลอดภัยสูงในหญิงมีครรภ์ และใช้ในการผ่าตัดร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มชนิดอื่นๆ

Aroma Fresh, nutty scent

Strength Fairly strong

ข้อมูลความเป็นพิษ มีรายงานว่าไม่พบ phototoxicity

Oral toxicity: Rodent $LD_{50} > 5g/kg$

Skin irritation: very mildly irritant

Sensitisation: ไม่พบการก่อการแพ้ที่ความเข้มข้น 1 -30%

รูปที่ 2-2 ลักษณะของ *Citrus reticulata*[35]

Grapefruit Oil จาก *Citrus paradisi)*[21-22, 34]

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus paradisi*

ชื่อวงศ์ Rutaceae

วิธีการสกัด วิธีบีบ (cold expression) จากเปลือก หรือการสกัดด้วยไอน้ำ (steam distillation) จาก เปลือกผล ใบและกิ่ง

สารสำคัญ 90% Limonene, 0.5% Linalool, 1.8% Aldehyde (Octanal, Decanal)

ประโยชน์ น้ำมันชนิดนี้มีปริมาณวิตามินซีสูงมักถูกนำมาใช้ป้องกันการติดเชื้อ สำหรับวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจะต่างจากน้ำมันหอมระเหยตัวอื่นๆ

Aroma Strong, acidic, citrus scent

Strength Strong

ข้อมูลความเป็นพิษ Fuorocumarins including Bergapten ทำให้เกิด phototoxicity

Oral toxicity: Rodent $LD_{50} > 5g/kg$

Skin irritation: very mildly irritant

Sensitisation: ไม่พบการก่อการแพ้ที่ความเข้มข้น 1 -30%

รูปที่ 2-3 ลักษณะของ *Citrus paradisi*[36]

วัตถุประสงค์หลักของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

2. เพื่อประเมินความคงสภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

3. เพื่อทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มที่มีคุณภาพและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

2. เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ผลิตและจำหน่ายน้ำมันหอมระเหย อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและน้ำหอม เพื่อประโยชน์การเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์และเพิ่มรายได้ให้แก่ประเทศอีกทางหนึ่ง

3. เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรไทยอื่นๆ ต่อไป

หน่วยงานที่จะนำผลงานวิจัยไปใช้

-อุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง (ผลิตภัณฑ์สุขภาพ)

-สถาบันแพทย์แผนไทย กระทรวงสาธารณสุข

-ผู้ผลิตและจำหน่ายน้ำมันหอมระเหย

-แพทย์ เภสัชกร บุคลากรทางการแพทย์ ประชาชน และนิสิต-นักศึกษา

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์

ก. สำหรับการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหย

สารเคมี

1. Kaffir lime leaf oil
2. Kaffir lime oil
3. Grapefruit oil (Thai-China Flavoring and Fragrances industry CO.,LTD. 725-5065)
4. Mandarin red oil (Make Scents E011)
5. Stearyl alcohol (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
6. Cetyl alcohol (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
7. Liquid paraffin (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
8. Cetomacrogol 1000 (Lot.No. CD12280022/ B.P. grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
9. Propylene glycol (Commercial grade/ บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด)
10. Methyl paraben (Lot.No. LK2313/ U.S.P. grade/ บริษัท P.C.drug จำกัด)
11. Propyl paraben (Lot.No. LI1013/ U.S.P. grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
12. Butylated Hydroxyanisole (Lot.No. 421807/1/ Analytical reagent grade/ บริษัท Fuka จำกัด)
13. Butylated Hydroxytoluene (Lot.No. 00630/ Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)
14. Distilled water
15. Germaben II
16. Edicol Ponceau 4R (Food grade/ บริษัท สหชัย เคมีคอล จำกัด)
17. Chloroform (Analytical reagent grade/ บริษัท Carlo erba reagent จำกัด)
18. Methanol (HPLC grade/ บริษัท Carlo erba reagent จำกัด)
19. Sodium alginate
20. Polyvinyl alcohol
21. Calcium chloride
22. Linalyl acetate (บริษัท Aldrich chemical company จำกัด)

23. Linalool (บริษัท Aldrich chemical company จำกัด)
24. Limonene (บริษัท Aldrich chemical company จำกัด)
25. Citronellal (บริษัท Aldrich chemical company จำกัด)
26. Terpineol (บริษัท Aldrich chemical company จำกัด)
27. Nitrogen gas/ Helium gas/ Air

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Electrical balance (Sartonious/ บริษัท Scientific promotion จำกัด)
2. Hot Plate with Magnetic Stirrer (Jenway 1000)
3. Beaker 50 ml, 100 ml, 250 ml, 600 ml
4. pH meter (Per pH ecT Log R meter model 320/ บริษัท Science tech จำกัด)
5. Water bath
6. Stirring rods
7. Thermometer
8. Dropper
9. Spatula
10. Slide
11. Cover slip
12. กล้องจุลทรรศน์
13. กล้องถ่ายรูป
14. ฟิล์มถ่ายรูป Kodak 200
15. ภาชนะบรรจุ เช่น ขวดแก้วปากกว้างขนาดบรรจุ 30 กรัม
16. Separating funnel
17. Solid phase extraction (SPE) C-18 (SUPELCO)
18. Solid phase microextraction (SPME) fiber (SUPELCO) (รูปที่ 3-1)
19. Solid phase microextraction (SPME) Holder (SUPELCO) (รูปที่ 3-1)
20. Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (บริษัท Perkin Elmer) (รูปที่ 3-2)
21. GC Column PE-wax (บริษัท Perkin Elmer)
22. Cylinder 10 ml
23. Micropipette SOCOREX 1000, GILSON P200, GILSON P20, GILSON P2
24. Syringe
25. ลูกยาง

26. ISOLUTE™ LC18 Solid Phase Extraction Columns

27. Vials

28. กระดาษทิชชู

29. กระดาษกรอง

30. นาฬิกาจับเวลา

31. Sieve No.16

32. Syringe 5 mL

33. Needle No. 18

34. Petri dish

35. Magnetic stirrer

36. Magnetic bar

37. Stereoscopic Zoom Microscope

38. Hand homogenizer (รูปที่ 3-3)

ข. สำหรับการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง และในอาสาสมัคร

สารเคมี

1. Kaffir lime leaf oil

2. Kaffir lime oil

3. Sweet almond oil (บริษัท Make scent จำกัด)

4. Stearyl alcohol (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)

5. Cetyl alcohol (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)

6. Liquid paraffin (Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)

7. Cetomacrogol 1000 (Lot.No. CD12280022/ B.P. grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)

8. Propylene glycol (Commercial grade/ บริษัท วันรัต (หน่ำเซียน) จำกัด)

9. Methyl paraben (Lot.No. LK2313/ U.S.P. grade/ บริษัท P.C.drug จำกัด)

10. Propyl paraben (Lot.No. LI1013/ U.S.P. grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด

11. Butylated Hydroxyanisole (Lot.No. 421807/1/ Analytical reagent grade/ บริษัท Fuka จำกัด)

12. Butylated Hydroxytoluene (Lot.No. 00630/ Commercial grade/ บริษัท P.C.Drug จำกัด)

13. Edicol Ponceau 4R (Food grade/ บริษัท สหชัย เคมีคอล จำกัด)

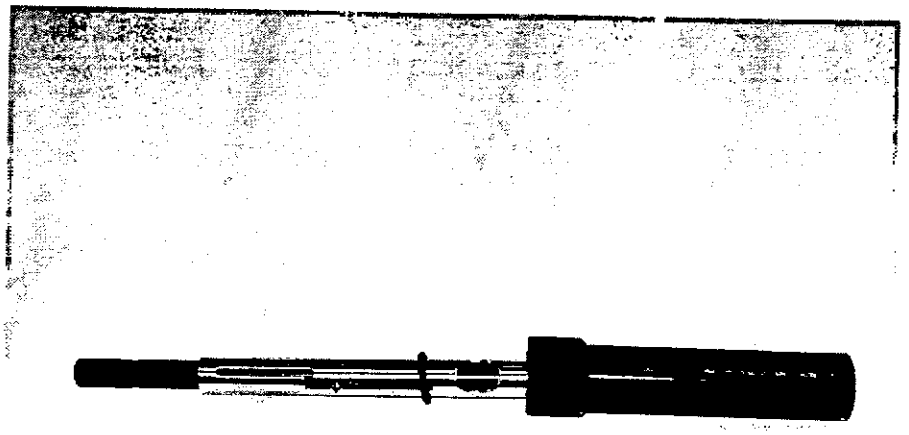
14. Normal saline solution

สัตว์ทดลอง

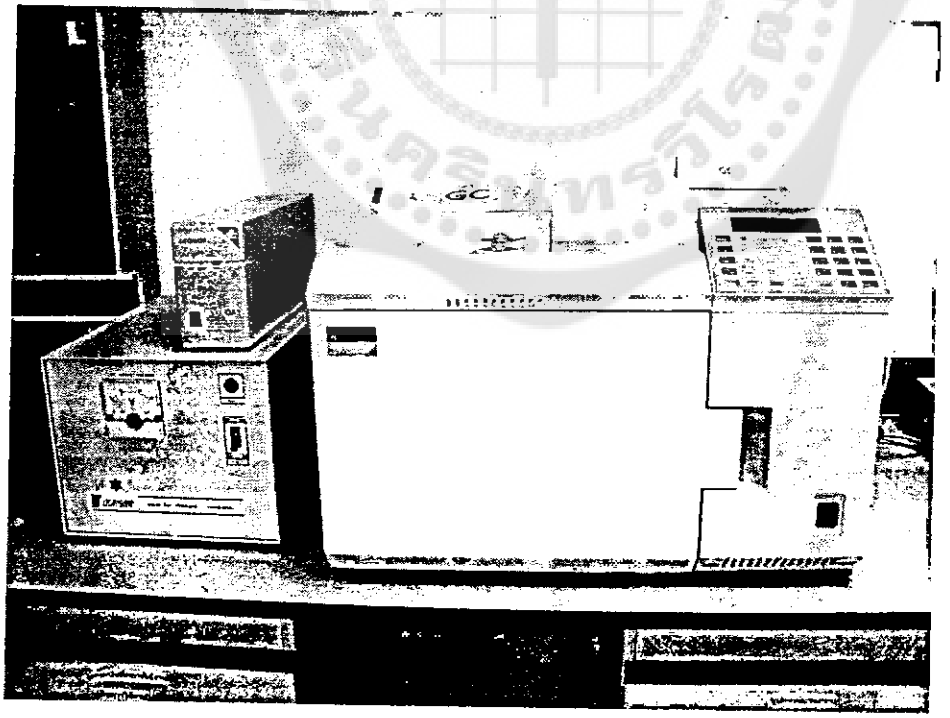
1. กระต่ายสีขาวพันธุ์ albino เพศผู้และเมีย น้ำหนักประมาณ 2-3 กิโลกรัม

เครื่องมือและอุปกรณ์

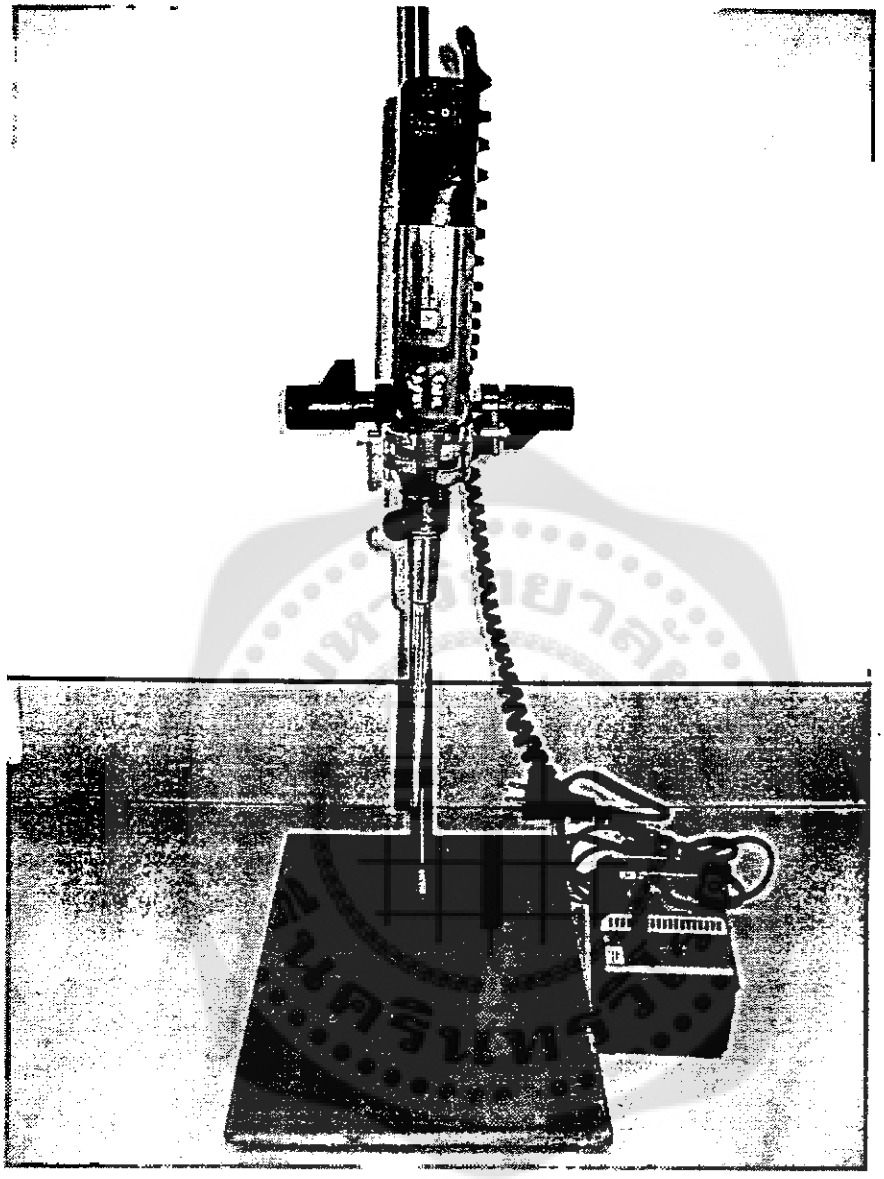
1. กระบอกเข็มฉีดยาขนาด 1 ml
2. เข็มฉีดยาเบอร์ 25
3. เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง
4. บีกเกอร์ขนาด 500 ml หรือ 1000 ml
5. กรงเลี้ยงกระต่าย
6. กล่องกระดาษ
7. ปัตตาเลียน
8. กรรไกร ผ้าก๊อซ พลาสเตอร์ สำลี
9. หลอดไฟ UV
10. กระดาษทิชชู
11. M-Wrap
12. 3 M Micropore
13. vial สีชา
14. Micropipette apparatus (Socorex)



รูปที่ 3-1 Solid phase microextraction (SPME) fiber และ SPME holder



รูปที่ 3-2 Gas Chromatography-Flame Ionization Detector



รูปที่ 3-3 Hand homogenizer

วิธีการวิจัย

วิธีการวิจัยในงานวิจัยนี้ แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม แบ่งเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

1.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

1.2 การพัฒนาสูตรตำรับ

1.3 การประเมินคุณภาพของตำรับ

1.3.1 การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

1.3.2 การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

1.3.3 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพที่พัฒนาในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ตำรับอิมัลชัน (ครีมทาผิว และโลชันทาผิว) ตำรับเจล และตำรับอิมัลเจล

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร แบ่งเป็นขั้นตอนย่อยดังนี้

2.1 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง

2.2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

เนื่องจากงานวิจัยทำการพัฒนาตำรับหลายรูปแบบ ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ดียิ่งขึ้นจะขอกล่าวถึงวิธีการวิจัยของแต่ละสูตรตำรับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. สูตรตำรับอิมัลชัน (ครีมทาผิว และโลชันทาผิว) แบ่งได้ 3 ส่วนดังนี้

1.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับอิมัลชัน (Preformulation study)

1.2 การพัฒนาสูตรตำรับอิมัลชัน

1.3 การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลชัน

1.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับอิมัลชัน (Preformulation study) [23-25]

อิมัลชันเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อยสองชนิดที่ไม่สามารถละลายซึ่งกันและกัน (immiscible) เช่น น้ำกับน้ำมัน ดังนั้นถ้าต้องการให้สารดังกล่าวเข้ากันได้ต้องอาศัยสารที่เรียกว่า สารทำอิมัลชัน (Emulsifier) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ในการผสมผสานวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งชนิดของอิมัลชันตามวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกจะแบ่งได้ 3 ชนิดคืออิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil emulsion) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) และอิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) ถ้าแบ่งชนิดของอิมัลชันตามความหนืดของอิมัลชันจะแบ่งได้ 2 ชนิดคือครีม และโลชัน ความแตกต่างระหว่างครีมและโลชันคือ ครีมเป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง ลักษณะกึ่งแข็ง เนื่องจากครีมมีวัฏภาคภายในประมาณ 35-75% ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ครีมได้แก่ ครีมทาผิว ครีมบำรุงผิว ครีมทาหน้า ครีมกันแดด ครีมโกนหนวด เป็นต้น สำหรับโลชันเป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ ลักษณะเหลว เนื่องจากโลชันมีวัฏภาคภายในไม่เกิน 35% โลชันเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้ทาผิวบริเวณกว้าง ทาแล้วไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี เช่น โลชันทาผิว โลชันทากันแดด เป็นต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ต้องการตำรับอิมัลชันชนิด water in oil เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทาแล้วกระจายตัวดี ล้างออกง่าย และเป็นที่นิยมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง **และจะทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทั้งสูตรตำรับครีมทาผิวและโลชันทาผิว**

โดยทั่วไปองค์ประกอบพื้นฐานในสูตรตำรับอิมัลชันที่ใช้กับผิวหนัง ได้แก่

1. สารทำอิมัลชัน (Emulsifiers) เป็นสารที่ทำหน้าที่ในการผสมผสานวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชนิดของสารทำอิมัลชันที่ใช้มีหลากหลาย การเลือกใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของอิมัลชันว่าเป็น oil in water หรือ water in oil เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ต้องการอิมัลชันชนิด water in oil ซึ่งสารทำอิมัลชันที่ใช้ในอิมัลชันชนิด water in oil มีทั้งชนิดที่มีประจุ และไม่มีประจุ **ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้สารทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุ (nonionic emulsifier)** เนื่องจากโมเลกุล

ของสารทำอิมัลชันชนิดนี้จะมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำทำให้ค่า HLB (hydrophilic lipophilic balance) มีช่วงกว้างตั้งแต่ 1-18 จึงมีประโยชน์มาก ตัวอย่างสารทำอิมัลชันในกลุ่มนี้ได้แก่ กลุ่ม polyglycol esters กลุ่ม polyalkoxylates เป็นต้น

2. สารเพิ่มความชุ่มชื้น (Humectants) เป็นสารที่สามารถดูดความชื้นจากบรรยากาศมาเก็บไว้ในตัว ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำจากเนื้ออิมัลชัน โดยทั่วไปใช้ในความเข้มข้น 2-20% ได้แก่ glycerin, sorbitol หรือ propyleneglycol

3. สารปกป้องการสูญเสียน้ำจากผิว/สารช่วยหล่อลื่นผิวให้อ่อนนุ่ม (Emollients) ได้แก่ fatty acid, fatty alcohol, wax, sterols หรือน้ำมันต่างๆ

4. สารช่วยทำอิมัลชัน (Auxillary emulsifying agents) หรือสารเพิ่มความหนืด จะช่วยให้อิมัลชันมีความคงสภาพมากขึ้น ทำให้เนื้ออิมัลชันหนาแน่นขึ้น สารในกลุ่มนี้ได้แก่ acacia, tragacanth, carbopol หรือ methylcellulose เป็นต้น

5. สารกันบูด (Preservatives) เป็นสารที่ยับยั้งหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ช่วยป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพ ได้แก่ กลุ่ม paraben, benzoic acid, phenolics เป็นต้น

6. สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants) องค์ประกอบบางตัวในสูตรตำรับอาจมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของผลิตภัณฑ์ สารต้านออกซิเดชันจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยานี้ได้ สารในกลุ่มนี้ได้แก่ alpha-tocopherol, butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA) เป็นต้น

7. สารแต่งสี (Coloring agents) ช่วยเพิ่มความสวยงาม ความน่าใช้ของผลิตภัณฑ์ การแต่งสีควรเลือกแต่งสีวัฏภาคภายนอก เช่น อิมัลชันชนิด water in oil ควรใช้สีที่ละลายน้ำ และควรเลือกสีที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังด้วย

8. สารแต่งกลิ่น (Flavoring agents) กลิ่นจะมีส่วนช่วยในการดึงดูดผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ และยังมีผลในด้านจิตวิทยาของผู้ใช้ด้วย สารแต่งกลิ่นที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำหอม หรือน้ำมันหอมระเหย ปัญหาที่ต้องระวังคือความเข้ากันไม่ได้ของสารแต่งกลิ่นกับสารอื่นๆ ในสูตรตำรับ เช่น สารทำอิมัลชันที่มีประจุลบอาจทำปฏิกิริยากับสารน้ำหอมบางชนิด ทำให้ความหนืดของอิมัลชันเปลี่ยนไป ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ลดลง เป็นต้น

1.2 การพัฒนาสูตรตำรับอิมัลชัน

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทั้งครีมทาผิว และโลชันทาผิว เพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ดียิ่งขึ้นจะขอกล่าวถึงวิธีการวิจัยของแต่ละสูตรตำรับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1.2.1 สูตรตำรับครีมทาผิว

ก. คุณสมบัติของสารต่าง ๆ ในตำรับครีมทาผิว

1. Cetomacrogol 1000 (Polyoxyethylene alkyl esters) เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น non ionic surfactant ในตำรับนิยมใช้ในเภสัชภัณฑ์ที่ใช้ภายนอกร่างกาย สามารถใช้ได้กับอิมัลชันทุกประเภท ทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ดี สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน และไม่ละลายในน้ำ จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

2. Cetyl alcohol เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น auxillary emulsifying agent ในตำรับจะมีผลช่วยให้ตำรับมีความคงตัวสูงขึ้น เพิ่มความนุ่มของเนื้อครีม ทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ดี ละลายได้ดีในน้ำมัน จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

3. Stearyl alcohol เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น auxillary emulsifying agent ในตำรับจะมีผลช่วยให้ตำรับมีความคงตัวสูงขึ้นโดยใช้กลไกการเพิ่มความหนืด ช่วยให้เนื้อครีมหนาแน่นขึ้น ทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ดี ละลายได้ดีในน้ำมัน จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

4. Liquid Paraffin เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น emollient ในตำรับ ช่วยให้เนื้อครีมเบาขึ้น ละลายได้ดีในน้ำมัน จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

5. Propylene glycol เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น humectant ในตำรับ ละลายได้ดีในน้ำ จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำ

6. Butylated Hydroxy Anisole เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น antioxidant ในตำรับ ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีใน Propylene Glycol กำหนดให้ใช้ในตำรับได้ไม่เกิน 0.02%w/w จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำ

7. Butylated Hydroxy Toluene เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น antioxidant ในตำรับ ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีในน้ำมันหรือสารที่ไม่มีขั้ว กำหนดให้ใช้ในตำรับได้ไม่เกิน 0.5%-1% จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำมัน

8. Methylparaben เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น preservatives ในตำรับ ละลายได้ดีใน propylene glycol ละลายในน้ำได้น้อยมาก มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ในช่วงกว้าง การใช้ร่วมกับ propylparaben จะช่วยให้สามารถมีฤทธิ์เป็น preservatives ได้ในช่วง pH ที่กว้างขึ้น จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำ

9. Propylparaben เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็น preservatives ในตำรับ ละลายได้ดีใน propylene glycol ละลายในน้ำได้น้อยมาก มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ในช่วงกว้าง การใช้ร่วมกับ methylparaben จะช่วยให้สามารถมีฤทธิ์เป็น preservatives ได้ในช่วง pH ที่กว้างขึ้น จัดอยู่ในวัฏภาคน้ำ

ข. การกำหนดปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในตำรับครีมทาผิว

เนื่องจากผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดจากน้ำมันมะกรูดที่ความเข้มข้น 20% ให้ผลทางเภสัชวิทยา (รายละเอียดในโครงการวิจัยย่อยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืช

ตระกูลส้ม) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยว่าการใช้น้ำมันนวดจากน้ำมันดอกกระดังงา[26] น้ำมันนวดจาก sandalwood oil[26] และน้ำมันนวดสูตรผสมระหว่าง bergamot oil กับ lavender oil[28] ที่ความเข้มข้น 20% จะเห็นผลทางเภสัชวิทยา ดังนั้นตำรับครีมที่เตรียมเป็น o/w emulsion ที่มีน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูด และจากใบมะกรูด 20% w/w

ค. การพัฒนาสูตรตำรับครีมทาผิว

ทำการพัฒนาสูตรตำรับครีมจากน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูดและใบมะกรูดในความเข้มของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 20% w/w ดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 องค์ประกอบของตำรับครีมน้ำมันมะกรูด Lot ที่ 1

องค์ประกอบ	ตำรับ 1 (g.)	ตำรับ 2 (g.)	ตำรับ 3 (g.)
Cetomacrogol 1000	**10.00**	**5.00**	**7.00**
Stearyl alcohol	3.00	3.00	3.00
Cetyl alcohol	7.00	7.00	7.00
Light Liquid Paraffin	5.00	5.00	5.00
Propyleneglycol	10.00	10.00	10.00
Methylparaben	0.50	0.50	0.50
Propylparaben	0.10	0.10	0.10
Butylated Hydroxy Toluene	1.00	1.00	1.00
Butylated Hydroxy Anisole	0.02	0.02	0.02
Kaffir Lime oil	**20.00**	**20.00**	**20.00**
Water qs. To	100.00	100.00	100.00

จากสูตรตำรับตารางที่ 3-1 ส่วนของ**วัฏภาคน้ำ** (Water phase) ประกอบด้วย Water, Propyleneglycol, Methylparaben, Propylparaben และ BHA ส่วน**วัฏภาคน้ำมัน** (Oil phase) ประกอบด้วย Cetomacrogol 1000, Stearyl alcohol, Cetyl alcohol, Light Liquid Paraffin, BHT และน้ำมันมะกรูด (Kaffir Lime Oil)

วิธีการเตรียมครีมชนิด o/w emulsion

ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้วิธีเตรียมแบบ**กลับวัฏภาค (phase inversion technique)** เพื่อเพิ่มความคงตัวของตำรับและทำให้อนุภาคอิมัลชันที่ได้มีขนาดเล็ก โดยมีขั้นตอนในการการเตรียมดังต่อไปนี้

1. ละลาย Propylparaben, Methylparaben, Butylated Hydroxy Anisole ใน Propylene glycol ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ **water phase** แล้วตั้งรอไว้
2. นำส่วนที่เป็น **oil phase** ซึ่งประกอบด้วย Stearyl alcohol, Cetyl alcohol, Liquid paraffin, Cetomacrogol 1000, Butylated Hydroxy Toluene มาหลอมรวมกันบน Hot Plate โดยให้ความร้อนจนได้อุณหภูมิถึง**ประมาณ 65°C**
3. นำส่วนประกอบหลักของ water phase ซึ่งได้แก่ น้ำมาให้ความร้อนบน Hot Plate จนได้**อุณหภูมิถึง 70°C**
4. นำ water ที่ได้เทลงไปผสมในส่วน oil phase **พร้อมทั้งคนอย่างเร็วและแรงจนขึ้นเป็นเนื้อครีม**
5. เมื่อครีมเย็นตัวจนถึงอุณหภูมิประมาณ 50°C ให้ค่อย ๆ เทสารละลายของ Propylene Glycol ลงไปผสม พร้อมทั้งคนให้เข้ากัน
6. เมื่อครีมเย็นตัวลงจนถึงอุณหภูมิประมาณ **40 °C** ให้ค่อย ๆ เท Kaffir Lime oil ลงไปผสม พร้อมทั้งคนอย่างแรงให้เข้ากัน จนอุณหภูมิลดลงถึงประมาณ **35 – 37 °C**
7. ตั้งครีมทิ้งไว้ให้เย็นตัว เทใส่ภาชนะบรรจุที่ทึบ เพื่อป้องกันการเสื่อมสลาย/เพื่อเพิ่มความคงตัวของน้ำมันมะกรูด (Kaffir Lime Oil) ในตำรับ

เนื่องจากสูตรตำรับที่ 1 ก่อให้เกิดครีมที่เหลวและมีความมันมากทำให้เหนอะหนะ จึงได้ทำการทดลองลดปริมาณ Cetomacrogol 1000 ลงตามสูตรตำรับที่ 2 และ 3 ซึ่งปรากฏว่าการลดปริมาณ True Emulsifier ทำให้ไม่ก่อให้เกิด Emulsion (เกิด creaming หลังจากตั้งทิ้งไว้ 3-4 ชั่วโมง) ส่วนสูตรตำรับที่ 1 ไม่คงตัวเมื่อผ่านการทำ Freeze – Thaw ครั้งที่ 1 ดังนั้นจากผลการไม่คงตัวของครีมสูตรตำรับที่ 1 – 3 (ตารางที่ 3-1) สันนิษฐานได้ว่าความไม่คงตัวดังกล่าวอาจเนื่องมาจากตำรับมีความหนืดต่ำมากทำให้ความคงตัวไม่ดีพอ อีกทั้งต้องใช้ True Emulsifier จำนวนมากจึงจะก่อให้เกิดครีมได้ ดังนั้นจึงได้ปรับสัดส่วนของ stearyl alcohol และ cetyl alcohol ซึ่งทำหน้าที่เป็น auxillary emulsifying agent ในตำรับ และยังช่วยให้ตำรับมีความคงตัวสูงขึ้นโดยใช้กลไกการเพิ่มความหนืด ช่วยให้เนื้อครีมหนาแน่นขึ้น นอกจากนี้ยังนำ True emulsifier อีกตัวเข้ามาใช้ในการพัฒนาตำรับด้วยคือ Glycerylmonostearate ดังนั้นจึงมีการพัฒนาตำรับใน Lot ที่ 2 มีรายละเอียดดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 องค์ประกอบของตำรับครีมน้ำมันมะกรูด Lot ที่ 2

องค์ประกอบ	ตำรับ 4 (g.)	ตำรับ 5 (g.)	ตำรับ 6 (g.)
Cetomacrogol 1000	**3.00**	**5.00**	**3.00**
Glycerylmonostearate	-	-	**2.00**
Stearyl alcohol	**7.00**	**7.00**	**7.00**
Cetyl alcohol	**5.00**	**5.00**	**5.00**
Light Liquid Paraffin	5.00	5.00	5.00
Propylene Glycol	10.00 ml	10.00 ml	10.00 ml
Paraben Conc.	1 ml	1 ml	1 ml
Butylated Hydroxy Toluene	1.00	1.00	1.00
Butylated Hydroxy Anisole	0.02	0.02	0.02
Kaffir Lime oil	20.00	20.00	20.00
Water qs. To	100.00	100.00	100.00

<u>วิธีการเตรียม Paraben Conc.</u>

Methylparaben 20 gm

Propylparaben 2 gm

Propyleneglycol 100 gm

* ใช้ความร้อนในการช่วยละลายเล็กน้อย อุณหภูมิต้องไม่เกิน 60°C *

จากสูตรตำรับตารางที่ 3-2 ส่วนของ**วัฏภาคน้ำ** (Water phase) ประกอบด้วย water, propyleneglycol, paraben Conc. และ BHA **ส่วนวัฏภาคน้ำมัน** (Oil phase) ประกอบด้วย cetomacrogol 1000, stearyl alcohol, cetyl alcohol, light Liquid Paraffin, BHT, glycerylmonostearate และ kaffir lime oil

วิธีการเตรียมครีมชนิด o/w emulsion ใน Lot ที่ 2

ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้**วิธีเตรียมแบบกลับวัฏภาค (phase inversion technique)** เพื่อเพิ่มความคงตัวของตำรับและทำให้อนุภาคอิมัลชันที่ได้มีขนาดเล็ก โดยมีขั้นตอนในการการเตรียมดังต่อไปนี้

1. ละลาย Butylated Hydroxy Anisole ใน Propylene glycol และ Water ซึ่งเป็นส่วนของ **water phase** และนำมาให้ความร้อนบน water bath **จนได้อุณหภูมิถึง 75 °C**
2. นำส่วนที่เป็น **oil phase** ซึ่งประกอบด้วย Stearyl alcohol, Cetyl alcohol, Liquid paraffin, Cetomacrogol 1000, Butylated Hydroxy Toluene และ Glycerylmonostearate มาหลอมรวมกันบน water bath โดยให้ความร้อนจนได้**อุณหภูมิถึง 73°C**
3. นำส่วนที่เป็น water phase เทลงไปผสมในส่วน oil phase **พร้อมทั้งคนอย่างเร็วและแรงจนขึ้นเป็นเนื้อครีม**
4. เมื่อครีมเย็นตัวจนถึง**อุณหภูมิประมาณ 50°C** ให้ค่อย ๆ หยด Paraben Conc. ลงไปผสมพร้อมทั้งคนให้เข้ากัน
5. เมื่อครีมเย็นตัวลงจนถึง**อุณหภูมิประมาณ 45 °C** ให้ค่อย ๆ เท Kaffir Lime oil ลงไปผสมพร้อมทั้งคนอย่างแรงให้เข้ากัน จนอุณหภูมิลดลงถึง**ประมาณ 35 – 37 °C**
6. ตั้งครีมทิ้งไว้ให้เย็นตัว เทใส่ภาชนะบรรจุที่ทึบแสงเพื่อป้องกันการเสื่อมสลาย/เพื่อเพิ่มความคงตัว ของ Kaffir Lime Oil ในตำรับ
7. ตั้งครีมทิ้งไว้ให้เย็นตัว เทใส่ภาชนะบรรจุที่ทึบ เพื่อป้องกันการเสื่อมสลาย/เพื่อเพิ่มความคงตัวของน้ำมันมะกรูด (Kaffir Lime Oil) ในตำรับ

1.2.2 สูตรตำรับโลชันทาผิว

ก. คุณสมบัติของสารต่าง ๆ ในตำรับโลชันทาผิว จะคล้ายคลึงกับตำรับครีมทาผิว แต่มีบางส่วนที่แตกต่าง เช่น ใช้ petrolatum และ isopropyl myristate เป็น emollient ใช้ mineral oil เป็น auxillary emulsifying agent ใช้ glycerine เป็น humectant ดูรายละเอียดในภาคผนวก ข

ข. การกำหนดปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในตำรับโลชันทาผิว

เนื่องจากมีรายงานฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (ลดความหมองคล้ำของสีผิว) ของน้ำมันหอมระเหยหลายชนิดรวมทั้งน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มบางตัว เช่น น้ำมันใบมะกรูด[29] ดังนั้นโลชันทาผิวที่เตรียมเป็น o/w emulsion จะมีน้ำมันหอมระเหยประมาณ 0.25-1.00% w/w

ค. การพัฒนาสูตรตำรับโลชันทาผิว

เพื่อที่จะได้สูตรโลชันเบสที่เหมาะสมที่สุด จึงทำการพัฒนาสูตรตำรับโลชันเบสทั้งหมด 8 ตำรับ (ตารางที่ 3-3) หลังจากนั้นนำสูตรโลชันเบสที่ดีที่สุดมาเตรียมโลชันทาผิวจาก grapefruit oil *(Citrus paradisi)* mandarin red oil *(Citrus reticulate)* และน้ำมันใบมะกรูด โดยใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.25-1.00%w/w ดังตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-3 องค์ประกอบของตำรับโลชันเบสที่พัฒนาสูตรตำรับ

Active ingredient	% Lotion base	% ตำรับ 1	% ตำรับ 2	% ตำรับ 3	% ตำรับ 4	% ตำรับ 5	% ตำรับ 6	% ตำรับ 7	% ตำรับ 8
A) Petrolatum	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-	-
Stearic acid	-	-	-	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cetyl alcohol	1.0	1.0	7.0	7.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.0
Glyceryl monostearate	2.0	2.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.0	3.0	3.0
Isopropyl myristate	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.0	2.0
Mineral oil	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.0	1.0
Jojoba oil	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0
Stearyl alcohol	1.0	1.0	3.0	3.0	3.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Butylated Hydroxy Toluene	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Kaffir-lime leaf 0.5 %	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
B) Allantoin	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Glycerine	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Germaben II	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Butylated Hydroxy Anisole	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Deionized water qs to	100	100	100	100	100	100	100	100	100

ตารางที่ 3-4 องค์ประกอบของตำรับโลชันทาผิวน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม

Active ingredient	% Lotion base	% ตำรับ 1	% ตำรับ 2	% ตำรับ 3	% ตำรับ 4	% ตำรับ 5
A) Stearic acid	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cetyl alcohol	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Glyceryl monostearate	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Isopropyl myristate	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Jojoba oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Stearyl alcohol	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Butylated Hydroxy Toluene	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Grape Fruit oil 0.25 %	-	**0.25**	-	-	-	-
Grape Fruit oil 0.5 %	-	-	**0.5**	-	-	-
Grape Fruit oil 1 %	-	-	-	**1.0**	-	-
Mandarin Red oil 0.25 %	-	-	-	-	**0.25**	-
Kaffir lime leaf oil 0.25 %						**0.25**
B) Allantoin	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Glycerine	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Germaben II	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Butylated Hydroxy Anisole	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Deionized water qs. to	100	100	100	100	100	100

1.3 การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลชัน แบ่งได้ 3 ส่วนดังนี้

ก. การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

ค. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ก. การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ [24]

ปกติการทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ทำโดยการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (shelf life test) เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ได้สัมผัสกับสภาวะภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน 1-2 ปี ทำให้ไม่สะดวกต่อการนำออกจำหน่าย จึงมีการทดสอบแบบเร่ง (Accelerated test) เพื่อให้ระยะเวลาในการทดสอบสั้นลง โดยการสร้างสถานการณ์เลียนแบบโอกาสที่ผลิตภัณฑ์อิมัลชันจะสลายตัว เช่น การทดสอบความคงสภาพต่ออุณหภูมิ ความคงสภาพต่อแสง เป็นต้น

การทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง สามารถเร่งโดยใช้อุณหภูมิ โดยทั่วไปอุณหภูมิสูงจะเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเร่งการสลายตัวของสารเคมีในตำรับของผลิตภัณฑ์ ส่วนอุณหภูมิต่ำอาจทำให้อิมัลชันแยกชั้นเนื่องจากตัวทำอิมัลชันหรือ wax ตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ และถ้าเย็นมากน้ำจะกลายเป็นน้ำแข็งเกิดเป็นเกล็ดที่โตขึ้นและแยกออกจากน้ำมัน ดังนั้นการเพิ่มหรือลดอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยที่เร่งการสลายตัวของอิมัลชัน การทดสอบความคงสภาพโดยใช้อุณหภูมิต่ำสลับกับอุณหภูมิสูง หรือที่เรียกว่า Freeze Thaw Cycle ทำโดยการเก็บอิมัลชันในช่องแช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ +25 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ นอกจากการเร่งโดยใช้อุณหภูมิแล้วยังสามารถเร่งโดยใช้แรงโน้มถ่วงโลก ทำโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ด้วยความเร็วสูงจะเร่งการตกตะกอนของอิมัลชันได้ สำหรับอิมัลชันที่ดีต้องสามารถทนแรงปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 – 10,000 รอบต่อนาที ได้นาน 30 นาทีโดยไม่แยกชั้น

ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการประเมินความคงสภาพในสภาวะเร่งโดยอุณหภูมิ (freeze thaw cycle) เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และใช้เวลาน้อย ทำได้โดยการนำอิมัลชันที่เตรียมได้เก็บในช่องแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ+25°C นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำการทดสอบทั้งหมด 2 รอบ ประเมินผลทั้งก่อนการทดสอบและเมื่อสิ้นสุดการทดสอบในแต่ละรอบโดยดูการเกิดภาวะ creaming, cracking และการเปลี่ยนแปลงความหนืดของครีม (viscosity) ของตำรับอิมัลชัน นอกจากนี้ยังทำการประเมินความคงสภาพในสภาวะที่แตกต่างกันกล่าวคือ เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 เดือน ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 12 เดือน และที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 6 เดือน

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

การทดสอบโดยการทาบนผิว

นำอิมัลชันมาทดสอบด้วยการทาบนผิวหนังบริเวณแขน และสังเกตลักษณะต่างๆ ดังนี้

-การกระจายตัวของเนื้ออิมัลชัน

-การดูดซึมของอิมัลชันเข้าสู่ผิวหนัง

-ความรู้สึกเหนียวเหนอะหนะบริเวณที่ทา

-ความรู้สึกหลังจากทาโดยดูจากความชุ่มชื้นหรือความแห้งตึงบริเวณที่ทา

หมายเหตุ: ทดสอบหลังจากเตรียมเสร็จและหลังจากที่นำไปผ่านการทดสอบความคงตัวโดยวิธี Freeze thaw cycle ทั้งรอบที่ 1 และรอบที่ 2

ค. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

1. สังเกตลักษณะภายนอกของอิมัลชัน ได้แก่

-ลักษณะเนื้ออิมัลชัน

-สีของอิมัลชัน

-การแยกชั้นของอิมัลชัน creaming, cracking

-กลิ่น และสิ่งอื่น ๆ ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า

หมายเหตุ: ทดสอบหลังจากเตรียมเสร็จและหลังจากที่นำไปผ่านการทดสอบความคงตัวโดยวิธี Freeze thaw cycle ทั้งรอบที่ 1 และรอบที่ 2

2. การวัดค่า pH

นำอิมัลชันมาวัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH meter โดยวัดหลังจากเตรียมเสร็จและหลังจากที่นำไปผ่านการทดสอบความคงตัวโดยวิธี Freeze thaw cycle ทั้งรอบที่ 1 และรอบที่ 2

3. การทดสอบชนิดของอิมัลชัน

3.1 Dye test ด้วยกล้องจุลทรรศน์

เป็นการตรวจดูว่าครีมที่เตรียมขึ้นมาเป็นอิมัลชันชนิด oil in water หรือ water in oil ทำได้โดยนำอิมัลชันมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้อมสีด้วย Edicol Ponceau4R โดยอาศัยหลักการว่าสีชนิดนี้มีคุณสมบัติละลายในน้ำ ดังนั้นส่วนที่ติดสีจึงเป็นส่วนที่เป็น water phase และส่วนที่ไม่ติดสีจะเป็นส่วนของ oil phase และสังเกตสัดส่วนของ water phase และ oil phase ผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยสังเกตทั้งหลังจากเตรียมเสร็จและหลังจากที่นำไปผ่านการทดสอบความคงตัวโดยวิธี Freeze thaw cycle ทั้งรอบที่ 1 และรอบที่ 2

วิธีการเตรียม slide สำหรับการทำ dye test

1) นำ spatula ปาดเนื้ออิมัลชันปริมาณเล็กน้อยลงบน slide

2) นำ spatula แตะผงสี Edicol Ponceau4R ไปผสมกับอิมัลชันบน slide ให้สีกระจายในเนื้ออิมัลชันอย่างทั่วถึง แล้วเกลี่ยเนื้ออิมัลชันให้เป็นแผ่นบาง ๆ

3) นำ cover slip มาปิดทับ อย่าให้มีฟองอากาศ

4) นำ slide ที่เตรียมไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10X20

5) บันทึกภาพที่เห็นด้วยกล้องถ่ายรูปที่ติดกับกล้องจุลทรรศน์

3.2 Dilution test

อิมัลชันชนิด oil in water เมื่อหยดลงในน้ำจะกระจายตัวได้ดี แต่ถ้าเป็นชนิด water in oil จะคงเป็นหยดบนผิวน้ำ แต่กระจายตัวดีในน้ำมัน ถ้าอิมัลชันหนืดจะต้องช่วยคนให้กระจาย ถ้ากระจายขุ่นมัวในน้ำจะเป็นชนิด oil in water แต่ถ้าดูเป็นเงาและลอยเหนือน้ำจะเป็นชนิด water in oil

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงคุณภาพ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ดังนี้

4.1 การเตรียมสารตัวอย่าง (sample preparation) ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้การสกัดด้วยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก และไม่ต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัด

4.2 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยใช้วิธี Gas chromatography

4.1 การเตรียมสารตัวอย่าง (sample preparation)

การสกัดด้วยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) แสดงในรูปที่ 3-4 มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. วิเคราะห์ไฟเบอร์เปล่า (Blank run) เพื่อเป็นการดู base line ทำโดยสอดไฟเบอร์เปล่าที่ GC injection port นาน 2 นาที

2. เตรียมสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยบรรจุในขวด vial ขนาด 10 ml ปิดด้วย aluminum cap ซึ่งมี silicone septum ปิดอยู่

3. แทง polydimethylsiloxane (PDMS) fiber ผ่าน septum ของขวด vial แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารที่ต้องการวิเคราะห์อิ่มตัวโดยไฟเบอร์จะดูดซับกับไอของสารตัวอย่าง เวลาที่ดูดซับ (absorption time) จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์

4. นำ SPME fiber ที่อิ่มตัวด้วยสารที่ต้องการวิเคราะห์ไปสอดในที่ GC injection port เป็นเวลา 2 นาที (desorption time) เพื่อให้ SPME fiber ปลดปล่อยสารที่ต้องการวิเคราะห์เข้าสู่เครื่อง GC เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

4.2 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยใช้วิธี Gas chromatography

สภาวะของเครื่องมือ Gas Chromatography ที่ใช้ในการวิเคราะห์

Injector temperature: 190 $^{\circ}C$

Detector temperature: 220 $^{\circ}C$

Initial temperature: 90 $^{\circ}C$

Initial hold: 4.00 min

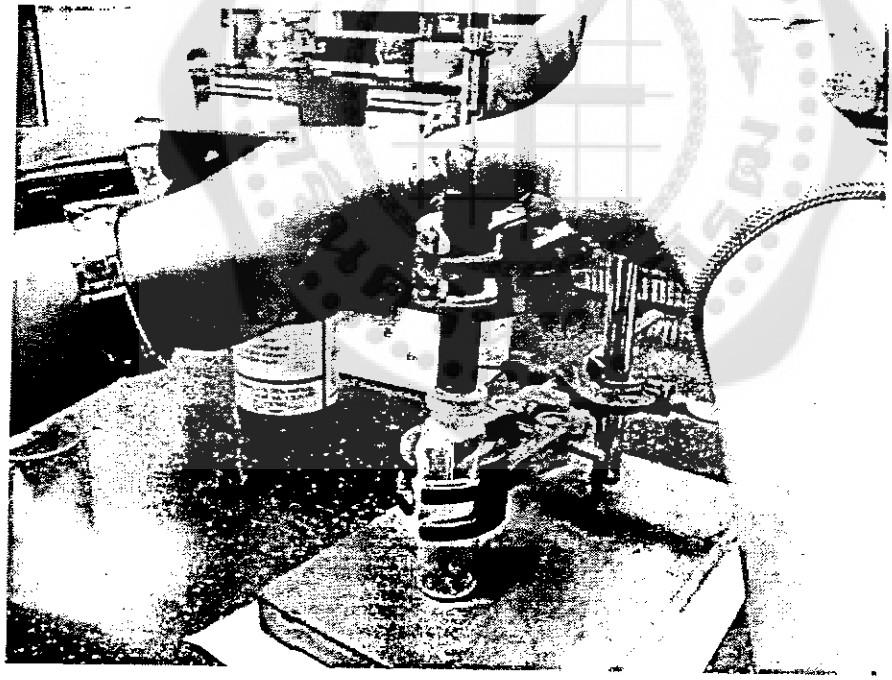
Rate: 10.0 $^{\circ}C$ /min to 220 $^{\circ}C$, hold for 3.00 min

Carrier gas: Helium gas

Split mode injection: Injection (10:1)

การแปลผลและวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี GC

ทำการเปรียบเทียบ retention time ของสารมาตรฐานที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดกับตำรับต่างๆ ที่เตรียมขึ้นมา



รูปที่ 3-4 การสกัดด้วยเทคนิค Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME)

2. สูตรตำรับเจลทาผิว แบ่งได้ 3 ส่วนดังนี้

2.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับเจล (Preformulation study)

2.2 การพัฒนาสูตรตำรับเจล

2.3 การประเมินคุณภาพของตำรับเจล

2.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับเจล (Preformulation study) [30-32]

เจลเป็นรูปแบบยาเตรียมในระบบกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยระบบแขวนตะกอนที่เกิดจากอนุภาคอนินทรีย์ขนาดเล็ก หรือเป็นระบบของโมเลกุลใหญ่โดยมีของเหลวสอดแทรกอยู่ภายใน แบ่งชนิดของเจลตามธรรมชาติของสารก่อเจลได้ 2 ชนิดคือ เจลสองวัฏภาค และเจลวัฏภาคเดียว โดยทั่วไปเจลวัฏภาคเดียวเป็นที่นิยมใช้กันมากในผลิตภัณฑ์สุขภาพ เนื่องจากมีความใส ทาง่าย ไม่เหนอะหนะ และล้างออกง่าย **ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ต้องการตำรับเจลวัฏภาคเดียว**

โดยทั่วไปองค์ประกอบพื้นฐานในสูตรตำรับเจลที่ใช้กับผิวหนัง[33] ได้แก่

1. สารก่อเจล (Gelling agents) สารก่อเจลที่ใช้ในเจลวัฏภาคเดียวส่วนใหญ่เป็นพวกโพลิเมอร์ ได้แก่ natural gum (alginate, carageenan, pectin, etc.) acrylic polymers หรือ cellulose derivatives (methylcellulose, carboxymethylcellulose, etc.) เป็นต้น มีรายงานว่า[31-32] การใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจล มีข้อดีคือ ในความเข้มข้นต่ำก็สามารถก่อเจลที่มีความหนืดสูง มีความคงตัวต่อความร้อน ไม่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ และไม่เกิดพิษ นอกจากนี้ carbopol 940 ยังมีคุณสมบัติ high cross-link density ทำให้ mesh size ภายในโครงร่างของเจลมีขนาดเล็ก มีปริมาตรอิสระน้อย จึงสามารถลดอัตราการแพร่ของตัวยาหรือสารออกจากตำรับเจลได้ดีกว่าสารก่อเจลที่มี cross-link density ต่ำกว่า **ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจล**

2. สารเพิ่มความชุ่มชื้น (Humectants) เป็นสารที่สามารถดูดความชื้นจากบรรยากาศมาเก็บไว้ในตัว ช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำจากเนื้อเจล โดยทั่วไปใช้ในความเข้มข้น 2-20% ได้แก่ glycerin, sorbitol หรือ propyleneglycol

3. Surfactants ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ช่วยในการละลายน้ำมันหอมระเหย หรือน้ำหอม สารในกลุ่มนี้ได้แก่ tween 20, arlasolve 200 หรือ cremophor#40 เป็นต้น

4. สารกันบูด (Preservatives) เป็นสารที่ยับยั้งหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ช่วยป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพ ได้แก่ กลุ่ม paraben, benzoic acid, phenolics เป็นต้น

5. สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants) องค์ประกอบบางตัวในสูตรตำรับอาจมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของผลิตภัณฑ์ สารต้านออกซิเดชันจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยานี้ได้ สารในกลุ่มนี้ได้แก่ alpha-tocopherol, butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA) เป็นต้น

6. สารแต่งกลิ่น (Flavoring agents) กลิ่นจะมีส่วนช่วยในการดึงดูดผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ และยังมีผลในด้านจิตวิทยาของผู้ใช้ด้วย สารแต่งกลิ่นที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำหอม หรือน้ำมันหอมระเหย

7. Neutralizer ใช้ในการปรับความเป็นกรดด่างของตำรับ และช่วย neutralize สารก่อเจล carbopol 940 ในตำรับ

2.2 การพัฒนาสูตรตำรับเจลทาผิว

ก. คุณสมบัติของสารต่าง ๆ ในตำรับเจลทาผิว ใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจลโดยใช้ในช่วงความเข้มข้น 0.5 – 2.0% ใช้ nonionic surfactant สำหรับละลายน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cremophor RH#40 โดยใช้ ≥ 10% ใช้ตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ได้แก่ water, absolute ethanol , และ PEG 400 ด่างที่ใช้ในการ neutralize ใช้ 10% potassium hydroxide (จำนวน mole ของ electrolyte ต่อ carbopol 940 จำนวน 1 กรัม อยู่ในช่วง 0.0109 – 0.0073 mole/g) สำหรับ antioxidants เลือกใช้ BHT และ EDTA-di-sodium salt ดูรายละเอียดดังตารางที่ 3-5

ข. การกำหนดปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในตำรับเจลทาผิว

เนื่องจากผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดจากน้ำมันมะกรูดที่ความเข้มข้น 20% ให้ผลทางเภสัชวิทยา (รายละเอียดในโครงการวิจัยย่อยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม) แต่ในการพัฒนาสูตรตำรับเจลนั้น ถ้าใช้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูงมากอาจทำให้เจลที่ได้ขุ่นและมีความไม่คงสภาพสูง ดังนั้นตำรับเจลที่เตรียมจะมีน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูด และจากใบมะกรูดในความเข้มข้น 5-10% w/w

ตารางที่ 3-5 องค์ประกอบและหน้าที่ของสารแต่ละตัวในตำรับเจลทาผิว

องค์ประกอบ	หน้าที่
Carbopol 940	Gelling Agent
Paraben Conc.	Preservative
10% w/w KOH	neutralizer
Cremophor RH#40	Non-ionic surfactant
PEG 400	Co-solvent
Absolute ethanol	Co-solvent
Purified water	Co-solvent
Butylated Hydroxy Toluene	Antioxidant
EDTA disodium	Chelating agent, Antioxidant
Glycerin	Co-solvent, Enhancer
Kaffir Lime oil	Active Ingredient

ค. การพัฒนาสูตรตำรับเจลทาผิว

ทำการพัฒนาสูตรตำรับเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูดและใบมะกรูดในความเข้มของน้ำมันหอมระเหยที่ 5 - 10% w/w ดังตารางที่ 3-6

ตารางที่ 3-6 องค์ประกอบของตำรับเจลทาผิวน้ำมันหอมระเหยจากน้ำมันมะกรูด

องค์ประกอบ (g)	ตำรับ 1 (g.)	ตำรับ 2 (g.)
Carbopol 940	**1**	**0.6**
Paraben Conc.	1	0.48
10% w/w KOH	2	0.96
Cremophor RH#40	15	14.4
PEG 400	15	14.4
Absolute ethanol	22.5	21.6
Purified water	37.5	36
Butylated Hydroxy Toluene	0.01	0.0048
EDTA disodium	0.1	0.048
Glycerin	**2**	**1.92**
Kaffir Lime oil	**5**	**9.6**
Total weight	101.11	100.01

วิธีการเตรียมตำรับเจลน้ำมันมะกรูด มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การเตรียมสารละลาย 10% Potassium hydroxide (10% KOH Solution) ชั่งผง potassium hydroxide ตามจำนวน working formula นำไปละลายใน purified water จำนวนเล็กน้อย (ปริมาตรไม่มากเกินกว่าปริมาตรของ volumetric flask ที่ต้องการ) ใน beaker เทสารละลายข้างต้นลงใน volumetric flask โดยใช้ glass funnel ช่วยในการถ่ายสารใช้ purified water กลั้ว beaker และ glass funnel ปรับปริมาตรตาม volumetric flask แล้วผสมให้เข้ากัน

2. การเตรียมสารละลาย Co-solvent

นำ PEG 400 ผสมกับ purified water ตาม working formula นำสารละลายดังกล่าวผสมกับ absolute ethanol ภายใต้ hood คนให้เข้ากัน แล้วปิดด้วย paraffin เพื่อป้องกันการระเหยของ absolute ethanol ซึ่งจะส่งผลเสียถึงระบบตัวทำละลาย

3. การเตรียม Carbopol 940 Gel Base สามารถทำได้ 2 วิธีดังนี้

3.1 วิธีเตรียมแบบที่ 1

ก. ชั่ง carbopol 940 ตามจำนวนใน working formula นำมาโปรยอย่างช้า ๆ ลงในสารละลาย Co-solvent ที่เตรียมไว้ในข้อ 2 โดยแบ่งมาจำนวน 1/3 mL ของปริมาตรทั้งหมด คนตลอดเวลาด้วย stirring rod อย่างช้าเพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ การโรยผง carbopol 940 ลงใน co-solvent ควรให้ผง carbopol 940 กระจายตัวดี ก่อนที่จะโปรยผง carbopol 940 ลงไปใหม่ทุกครั้งหลังจากนั้นค่อยๆ

ข. เติม EDTA disodium ช้าๆ และคนให้เข้ากันตลอดเวลา ระวังเกิดฟองอากาศ

ค. เติม Glycerin ช้าๆ และคนให้เข้ากันตลอดเวลา ระวังเกิดฟองอากาศ

ง. เติม Paraben Conc. ช้าๆ และคนให้เข้ากันตลอดเวลา ระวังเกิดฟองอากาศ

3.2 วิธีเตรียมแบบที่ 2

ก. นำ EDTA disodium, Glycerin และ Paraben Conc ผสมให้เข้ากัน (A)

ข. ชั่ง carbopol 940 ตามจำนวนใน working formula นำมาโปรยอย่างช้า ๆ ลงในสารละลาย Co-solvent ที่เตรียมไว้ในข้อ 2 โดยแบ่งมาจำนวน 1/3 mL ของปริมาตรทั้งหมด คนตลอดเวลาด้วย stirring rod อย่างช้าเพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ การโรยผง carbopol 940 ลงใน co-solvent ทุกครั้งควรให้ผงกระจายตัวก่อนโปรยผงใหม่ทุกครั้ง (B)

ค. นำสารละลายขั้นต้น (A) เทลงใน Gel base (B) อย่างช้าและคนช้าให้เข้ากันตลอดเวลา ระวังเกิดฟองอากาศ

หมายเหตุ: ระวังอย่าให้ผง carbopol 940 จับเป็นก้อนโดยที่ยังไม่กระจายตัวเพราะจะทำให้เจลที่พองแล้วกระจายตัวแล้วห่อหุ้มผงดังกล่าวไว้ ทำให้ผง carbopol 940 ดังกล่าวไม่เกิดการพองตัวอีกเลย อาจทดลองแก้ไขโดยผสม dispersing agent ลงในผง carbopol 940 ก่อนที่จะนำมาโปรย เพื่อช่วยให้ผง carbopol 940 กระจายตัวดีขึ้น และไม่จับเป็นก้อน

4. การเตรียมสารละลาย Kaffir Lime Oil

ตวง cremophor RH#40 จำนวนตาม working formula เทลงในสารละลาย co-solvent ที่เหลือ (2/3) แล้วคนให้เข้ากันจนใส (C) เติม BHT ลงใน (C) คนให้ละลายและได้สารละลายใส

ตวง kaffir lime oil ตาม working formula ค่อยๆหยด (มากสุดครั้งละ 1 dropper) ลงในสารละลายที่ได้ข้างต้น คนตลอดเวลา โดยทุกครั้งที่หยด oil ต้องคนให้ได้สารละลายใสทุกครั้ง ก่อนที่จะหยด oil ลงไปใหม่

5. เทสารละลาย kaffir lime oil ในข้อ 4 ลงใน carbopol Gel Base ในข้อ 3 อย่างช้าๆ (อาจใช้ dropper ช่วย) และคนให้ใสตลอดเวลา ทุกครั้งที่เท

6. หยดสารละลาย 10% potassium hydroxide ในข้อ 1 ลง Gel ในข้อ 5 คนตลอดเวลาให้ KOH กระจายไปทั่วถึงเพื่อให้เกิดการ neutralize อย่างสมบูรณ์

2.3 การประเมินคุณภาพของตำรับเจล แบ่งได้ 3 ส่วนดังนี้

ก. การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

ค. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

หมายเหตุ: การประเมินคุณภาพของตำรับเจลใช้วิธีการเดียวกับการประเมินคุณภาพตำรับอิมัลชัน

3. สูตรตำรับอิมัลเจล

เนื่องจากตำรับครีมทาผิว และตำรับเจลทาผิวของน้ำมันใบมะกรูดจะมีกลิ่นค่อนข้างแรง ซึ่งจากการประเมินความพึงพอใจในแง่ของกลิ่นของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว พบว่าควรมีการปรับปรุงในส่วนของกลิ่น ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงทดลองเตรียมอิมัลเจลที่มีส่วนผสมของทั้งน้ำมันผลมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูดซึ่งคาดว่าจะทำให้กลิ่นของผลิตภัณฑ์ดีกว่าน้ำมันใบมะกรูดอย่างเดียว ดังนั้นจึงทำการพัฒนาสูตรตำรับอิมัลเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูดและใบมะกรูดดังแสดงในตารางที่ 3-7

ตาราง 3-7 องค์ประกอบสูตรตำรับอิมัลเจลน้ำมันมะกรูด

องค์ประกอบ/สัดส่วน	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
20 % Kaffir Lime Emulsion (fruit)	2	4	1	1
5 % Kaffir Lime Gel (Leaf)	-	-	1	9
Gel Base	8	6	-	-

วิธีการเตรียมอิมัลเจลมี 2 แบบดังนี้

แบบที่ 1 Active Ingredient in one phase (สูตร 1-2)

1. เตรียม Gel base ตามวิธีการเตรียม Gel ดังกล่าวข้างต้น แตกต่างตรงที่ไม่ต้องเติม Active ingredient (Kaffir Lime Oil) และไม่ต้องแยกแบ่ง Co-solvent เพื่อมาละลาย Kaffir Lime Oil สามารถใช้ Co-Solvent ทั้งหมดในการทำ Gel Base
2. เตรียม Kaffir Lime Emulsion ตามสูตรตำรับที่ผ่านการทดสอบความคงตัวแล้ว ตามกรรมวิธีที่ได้กล่าวแล้ว
3. กำหนดอัตราส่วนของ Kaffir Lime Emulsion ต่อ Gel Base ตามที่ต้องการ โดยคำนึงถึงความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์และคุณสมบัติที่ต้องการของอิมัลเจล (ความโปร่งใส, ความหนืด, ความเหนอะหนะ เป็นต้น)
4. ชั่ง Gel Base ใน Beaker ที่ใช้ผสม ตามน้ำหนักที่กำหนดไว้ตามสัดสวนที่ต้องการ
5. ตวง Kaffir Lime Emulsion ด้วยกระจกนาฬิกา ตามน้ำหนักที่กำหนดไว้ตามสัดสวนที่ต้องการ โดยต้องชั่งน้ำหนักรวมของ Kaffir Lime Emulsion และกระจกนาฬิกาไว้ด้วย
6. เท Kaffir Lime Emulsion ลงใน Beaker ที่มี Gel Base แล้วใช้ stirring rod คนอย่างแรงให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
7. ชั่งน้ำหนักกระจกนาฬิกาที่เหลือ เพื่อหาน้ำหนัก Kaffir Lime Emulsion ที่ใช้จริง

แบบที่ 2 Active Ingredient in two phase (สูตร 3-4)

1. เตรียม Kaffir Lime Gel ตามสูตรตำรับที่ผ่านการทดสอบความคงตัวแล้ว ตามกรรมวิธีที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น
2. เตรียม Kaffir Lime Emulsion ตามสูตรตำรับที่ผ่านการทดสอบความคงตัวแล้ว ตามกรรมวิธีที่ได้กล่าวแล้ว
3. กำหนดอัตราส่วนของ Kaffir Lime Emulsion ต่อ Kaffir Lime Gel ตามที่ต้องการ โดยคำนึงถึงความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ และคุณสมบัติที่ต้องการของอิมัลเจล (ความโปร่งใส, ความหนืด, ความเหนอะหนะ เป็นต้น)
4. ชั่ง Kaffir Lime Gel ใน Beaker ที่ใช้ผสม ตามน้ำหนักที่กำหนดไว้ตามสัดสวนที่ต้องการ
5. ตวง Kaffir Lime Emulsion ด้วยกระจกนาฬิกา ตามน้ำหนักที่กำหนดไว้ตามสัดสวนที่ต้องการ โดยต้องชั่งน้ำหนักรวมของ Kaffir Lime Emulsion และกระจกนาฬิกาไว้ด้วย
6. เท Kaffir Lime Emulsion ลงใน Beaker ที่มี Kaffir Lime Gel แล้วใช้ stirring rod คนอย่างแรงให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
7. ชั่งน้ำหนักกระจกนาฬิกาที่เหลือ เพื่อหาน้ำหนัก Kaffir Lime Emulsion ที่ใช้จริง

การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลเจล แบ่งได้ 3 ส่วนดังนี้

ก. การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

ค. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

การประเมินคุณภาพของตำรับอิมัลเจลใช้วิธีการเดียวกับการประเมินคุณภาพตำรับอิมัลชัน

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร

2.1 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง

2.2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร

2.1 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง ขั้นตอนในการทดลอง มีดังนี้

ก. การทดสอบการระคายเคือง (Test for irritation)

Albino rabbit ครั้งละ 6 ตัว โกนขนบริเวณลำตัวให้สั้น

↓

ใช้ผ้าก๊อซชุบสารที่ต้องการทดสอบแล้วนำมาปิดบริเวณผิวหนังของกระต่ายที่เตรียมไว้

↓

ใช้ผ้ายางห่อลำตัวกระต่ายเพื่อยึดผ้าก๊อซให้แน่นอยู่กับที่ และป้องกันไม่ให้สารทดสอบระเหย

↓

ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง

↓

ทำการทดลองที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ความเข้มข้น

↓

หลังจากนั้นเอาแผ่นผ้าออก

↓

ดูสิ่งผิดปกติที่ผิวหนังบริเวณที่ปิดสารทดสอบ ต้องไม่มีอาการบวมแดง อักเสบ หรือถ้ามีต้องหายไปภายใน 3 วัน

สารทดสอบ: ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ ครีม เจล และอิมัลเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดและน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูด โดยทำการเปรียบเทียบกับครีมเบส เจลเบส และอีมัลเจลเบสตามลำดับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

รูปที่ 3-5 การเตรียมกระต่ายก่อนการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม

รูปที่ 3-6 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มในกระต่าย

2.2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร โดย Kligman maximization test

ขั้นตอนในการทดลอง

คัดเลือกอาสาสมัครสุขภาพแข็งแรง ที่ไม่มีประวัติการแพ้สารใดๆ มาก่อน

↓

ใช้ผ้าก๊อซชุบสารที่ต้องการทดสอบแล้วทาบริเวณใต้ท้องแขนของอาสาสมัครที่เตรียมไว้

↓

ปิดทับด้วยผ้าก๊อซเป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง

↓

สังเกตผลและบันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกวันจนครบ 10 วัน

↓

ทำการทาสารทดสอบอีกครั้ง ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง

↓

ดูสิ่งผิดปกติที่ผิวหนังบริเวณที่ปิดสารทดสอบ ต้องไม่มีอาการบวมแดง อักเสบ

สารทดสอบ: ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ ครีม และเจลโดยทำการเปรียบเทียบกับครีมเบส และเจลเบสตามลำดับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

หมายเหตุ: เนื่องจากสูตรตำรับอิมัลเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดและผลมะกรูดก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่ายจึงไม่ได้นำมาทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร

สูตรตำรับสำหรับการทดสอบการก่อการระคายเคืองในอาสาสมัคร

ตำรับครีมสูตร 6 ได้แก่

1. 20% ครีมเบส code: CB
2. 20% ครีมผลมะกรูด code: CP
3. 20% ครีมใบมะกรูด code: CL

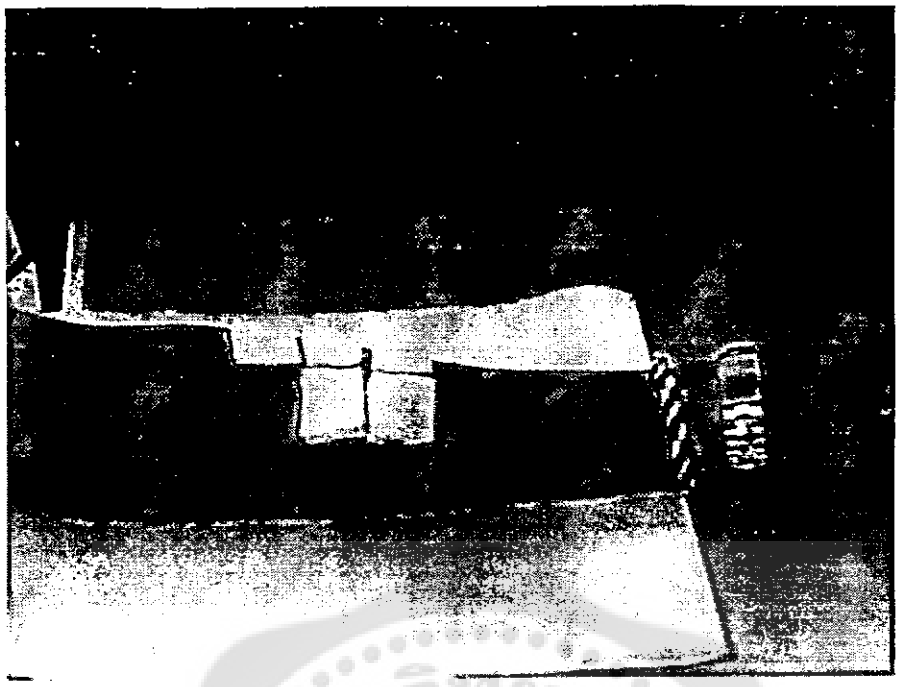
ตำรับเจลสูตร 1 ได้แก่

4. 5% Gel เบส code: GB
5. 5% Gel ผลมะกรูด code: GP
6. 5% Gel ใบมะกรูด code: GL

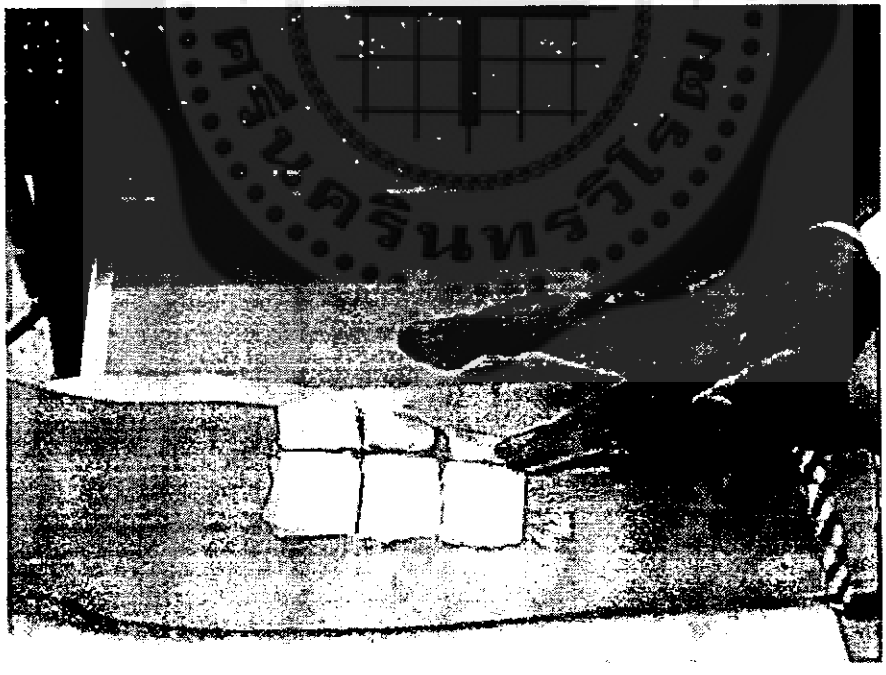
<u>จำนวนอาสาสมัคร</u>: เท่ากับหรือไม่น้อยกว่า 10 คน

<u>การวัดผลการทดลอง</u>: ทำโดยพิจารณาลักษณะอาการของผิวหนังบริเวณใต้ท้องแขนที่เปลี่ยนแปลง โดยใช้มาตรฐาน The International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) โดยอาศัยเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

คะแนน	–	ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Negative reaction)
คะแนน	+	เป็นรอยนูนแดง ไม่พบตุ่มน้ำใส (Weak reaction)
คะแนน	++	เป็นตุ่มแดง มีตุ่มน้ำใสร่วมด้วย รอยตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Strong reaction)
คะแนน	+++	เป็นตุ่มบวมแดงและมีตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Extreme reaction)



รูปที่ 3-7a การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย
จากพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร



รูปที่ 3-7b การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย
จากพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร

บทที่ 4

ผลการวิจัย

โครงงานวิจัยนี้ แบ่งออกเป็นขั้นตอนได้ 2 ขั้นตอน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม แบ่งเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

1.1 การศึกษาก่อนการตั้งตำรับ

1.2 การพัฒนาสูตรตำรับ

1.3 การประเมินคุณภาพของตำรับ

1.3.1 การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์

1.3.2 การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์

1.3.3 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพที่พัฒนาได้แก่ ตำรับอิมัลชัน (ครีมทาผิว และโลชันทาผิว) ตำรับเจล และตำรับอีมัลเจล

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร แบ่งเป็นขั้นตอนย่อยดังนี้

2.1 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลอง

2.2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

1. สูตรตำรับครีมทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับครีมทาผิว

ตารางที่ 4-1 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของครีมทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด
1	-	-	+	++	-	-	X	X	X
2	++ ทิ้งไว้ 5 ชม.	-	-	X	X	X	X	X	X
3	+++ ทิ้งไว้4 ชม.	-	-	X	X	X	X	X	X
4	-	-	++++	-	-	+	+ ทิ้งไว้ 2 วัน	-	+
5	-	-	++	-	-	+	+ ทิ้งไว้ 2 วัน	-	+
6	-	-	+++	-	-	+++	-	-	+++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากตำรับเกิด creaming

จากผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของครีมทาผิวทั้ง 6 ตำรับ พบว่า ตำรับที่ 1 เกิดครีมที่เหลว มีความมันมากทำให้รู้สึกเหนอะหนะ และไม่ผ่านการทำ Freeze – Thaw ครั้งที่ 1 ส่วนตำรับที่ 2 และ 3 เกิด creaming หลังจากตั้งทิ้งไว้ 4-5 ชั่วโมง จึงไม่ได้ทำ Freeze – Thaw ตำรับที่ 4 และ 5 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ครั้งที่ 1 พบว่ามีความหนืดลดลง และเกิด creaming หลังจากผ่านFreeze – Thaw ครั้งที่ 2 ไปแล้ว 2 วัน ตำรับที่ 6 มีความคงสภาพดีหลังจากผ่าน Freeze – Thaw ทั้งสองครั้ง

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับครีมทาผิว

ตารางที่ 4-2 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกขณะทา)** ของครีมทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา		
	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ
1	+++	++	+++	X	X	X	X	X	X
2	++++	+	++++ (ขนเปียก)	X	X	X	X	X	X
3	++++	+	++++ (ขนเปียก)	X	X	X	X	X	X
4	+++	++	++	+++	+	++	+++	+	++
5	+	+	+++	+++	+	++	+++	+	++
6	+++	+++	+	++	+++	+	++	+++	+

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากตำรับไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

จากผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกขณะทาของครีมทาผิวทั้ง 6 ตำรับ พบว่าตำรับที่ 1-3 มีการกระจายตัวดี แต่การดูดซึมน้อย และยังมีความเหนอะหนะมาก อย่างไรก็ตาม ทั้งสามตำรับนี้ก็ไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 4 กับตำรับที่ 6 พบว่าตำรับที่ 4 มีการกระจายตัวดีเท่ากับตำรับที่ 6 แต่มีการดูดซึมน้อยกว่าและความเหนอะหนะมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 4 และ 6 กับตำรับที่ 5 พบว่าตำรับที่ 5 มีการกระจาย การดูดซึมน้อยกว่า และมีความเหนอะหนะสูงกว่าด้วย

ตารางที่ 4-3 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกหลังทา)** ของครีมทาผิว

ตำรับที่	ความรู้สึกชุ่มชื้นหลังทา		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	การล้างน้ำ +++ ออก ++	X	X
2	++++ +	X	X
3	++++ +	X	X
4	การล้างน้ำ ++ ออก +++	การล้างน้ำ +++ ออก ++	การล้างน้ำ ++++ ออก ++
5	+++ ++	+++ ++	++++ ++
6	++ ++++	++ +++	+++ +++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากตำรับไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

จากผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกหลังทาของครีมทาผิวทั้ง 6 ตำรับ พบว่าตำรับที่ 1-3 มีความชุ่มชื้นหลังทาสูง อย่างไรก็ตามทั้งสามตำรับนี้ก็ไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 4, 5 และ6 พบว่าทั้งตำรับที่ 4 และ 5 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ครั้งที่ 2 ความชุ่มชื้นหลังทาแล้วล้างน้ำออกมีค่าลดลงมากกว่าตำรับที่ 6

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับครีมทาผิว

ตารางที่ 4-4 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิว

ตำรับที่	ลักษณะทางกายภาพ		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	เนื้อครีมนุ่ม ผิวหน้าแห้งเป็น film สามารถไหลได้ สีขาวอมเหลือง (++)	X	X
2	เนื้อครีมเหลว ไม่เข้มข้น ไหลได้ดีมาก แยกชั้น บนoil /ล่างwater : 2 / 1	X	X
3	เนื้อครีมเหลว ไม่เข้มข้น ไหลได้ดีมาก แยกชั้น บนoil /ล่างwater : 3 / 1	X	X
4	เนื้อครีมนุ่มข้น แต่ไม่ขึ้นฟู ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข (++) สีขาวอมเหลือง(++)	เนื้อครีมนุ่มข้น ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข (++) สีขาวอมเหลือง(++)	เนื้อครีมนุ่มเหลว สามารถไหลได้ดีมาก ผิวหน้าเหลือบมุข (++) สีขาวอมเหลือง (++) กลิ่นไม่เปลี่ยน
5	เนื้อครีมนุ่มข้น แต่ไม่ขึ้นฟู สามารถไหลได้ดี ผิวหน้าเหลือบมุข (+) สีขาวอมเหลือง (+)	เนื้อครีมนุ่มข้น สามารถไหลได้ดี ผิวหน้าเหลือบมุข (++) สีขาวอมเหลือง (++)	เนื้อครีมนุ่มเหลว สามารถไหลได้ดีมาก ผิวหน้าเหลือบมุข (++) สีขาวอมเหลือง (++) กลิ่นเปลี่ยนไปเหมือนใบไม้แห้ง
6	เนื้อครีมนุ่มข้นและขึ้นฟู สามารถไหลได้เล็กน้อยอย่างช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (+++) สีขาวอมเหลือง (+++)	เนื้อครีมนุ่มข้นและขึ้นฟู สามารถไหลได้เล็กน้อยอย่างช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (+++) สีขาวอมเหลือง (+++)	เนื้อครีมนุ่มข้น ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข (+++) สีขาวอมเหลือง (+) กลิ่นเปลี่ยนไปเหมือนใบไม้แห้ง

หมายเหตุ: X ไม่มีการประเมินเนื่องจากตำรับไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

ง. การประเมินค่า pH และชนิดของอิมัลชันของตำรับครีมทาผิว

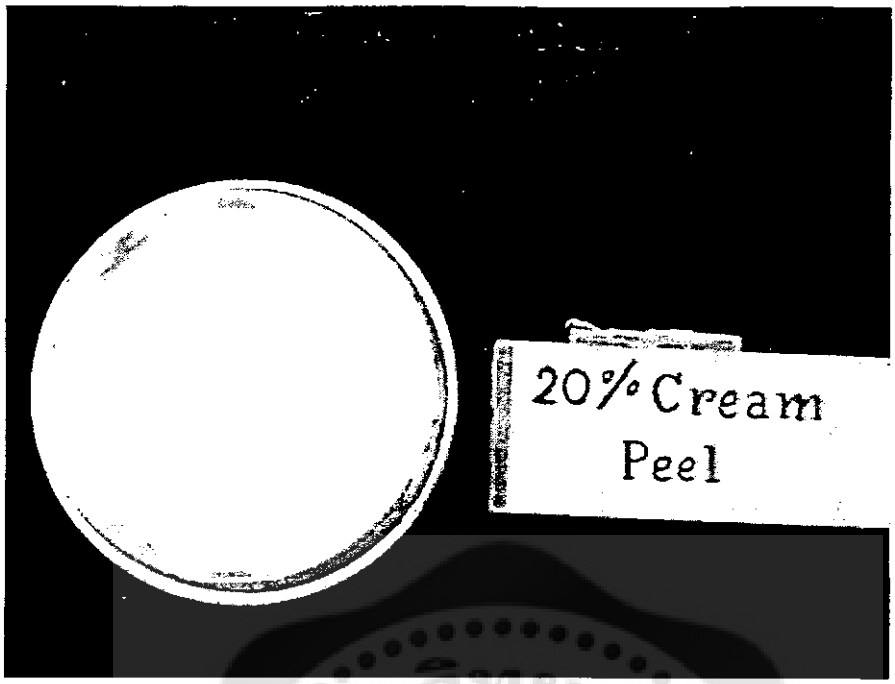
ตารางที่ 4-5 ผลการประเมินค่า pH และ ชนิดของ emulsion ของตำรับครีมทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw		After freeze thaw 1		After freeze thaw 2	
	pH	ชนิด emulsion	pH	ชนิด emulsion	pH	ชนิด emulsion
1	5.20	O/W Dilution Test	X	X	X	X
2	X	O/W Dilution Test	X	X	X	X
3	X	O/W Dilution Test	X	X	X	X
4	4.80	O/W (Dye Test) เล็กมาก65%เล็ก30% ใหญ่5%	4.50	-	4.35	O/W (Dye Test) เล็กมาก65%เล็ก30% ใหญ่5%
5	5.00	O/W (Dye Test) 20% : 70% : 10%	4.80	-	4.60	O/W (Dye Test) 20% : 70% : 10%
6	5.80	O/W (Dye Test) 25% : 65% : 10%	5.80	-	5.70	O/W (Dye Test) 25% : 65% : 10%

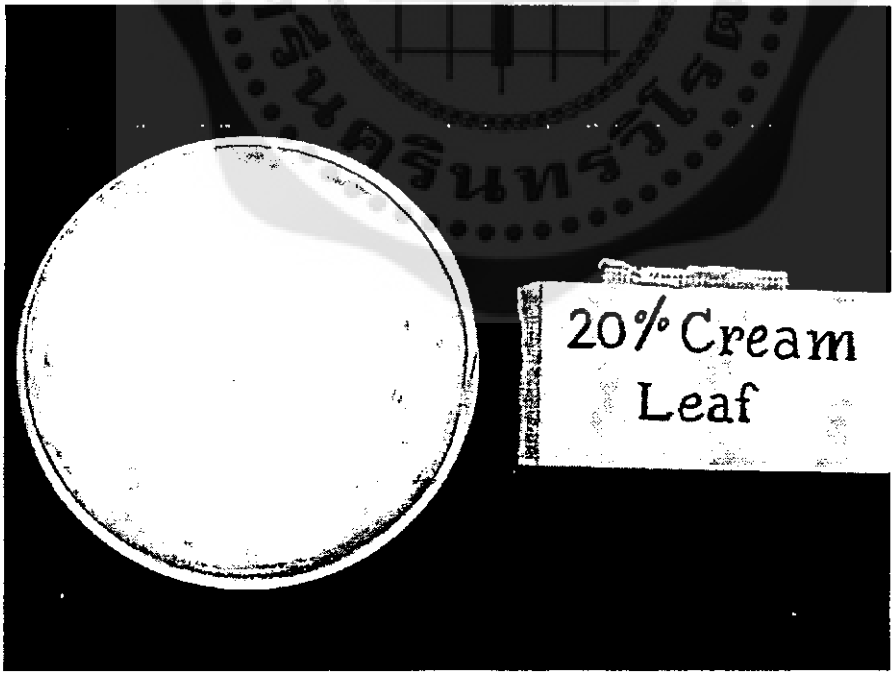
หมายเหตุ: X ไม่มีการประเมินเนื่องจากตำรับไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ

จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของครีมทาผิวทั้ง 6 ตำรับ พบว่าตำรับที่ 1-3 มีเนื้อครีมนุ่ม ไหลดีมาก และตำรับที่ 2 และ3 เกิดการแยกชั้นในเวลาต่อมา เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 4, 5 และ 6 พบว่าทุกตำรับมีเนื้อครีมที่นุ่มข้น ไหลได้ดี ผิวหน้าเหลือบมุก และหลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งพบว่าตำรับที่ 6 มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพน้อยที่สุด

จากการประเมินค่า pH และ ชนิดของอิมัลชันของตำรับครีมทาผิวทั้ง 6 ตำรับ พบว่าตำรับที่ 1 มีค่า pH อยู่ในช่วง pH ของผิวหนัง และชนิดของอิมัลชันเป็นแบบ oil in water อย่างไรก็ตามตำรับนี้ก็ไม่ผ่านการประเมินการทดสอบความคงสภาพ เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 4, 5 และ 6 พบว่า pH ของตำรับที่ 4 มีค่าต่ำกว่าตำรับอื่น และหลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งพบว่าตำรับที่ 6 มีการเปลี่ยนแปลงมีค่า pH น้อยที่สุด ทั้งสามตำรับเป็นอิมัลชันชนิด oil in water



รูปที่ 4-1 ตำรับครีมทาผิวจากน้ำมันมะกรูด



รูปที่ 4-2 ตำรับครีมทาผิวจากน้ำมันใบมะกรูด

2. สูตรตำรับโลชันทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับโลชันทาผิว

การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งเป็นการทดสอบความคงสภาพโดยอาศัยการเร่งปัจจัยต่างๆ ที่ก่อให้เกิดความไม่คงสภาพของโลชัน ได้แก่ อุณหภูมิ และแรงโน้มถ่วงโลก โดยประเมินจากขนาดเฉลี่ยของอนุภาคหยดน้ำมันจำนวน 20 อนุภาค

ตารางที่ 4-6 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของตำรับโลชันทาผิว (เร่งโดยอุณหภูมิ)

ตำรับ	Before Freeze-Thaw cycle		After Freeze-Thaw cycle I		After Freeze-Thaw cycle II	
	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (μm)	การแยกชั้น	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (μm)	การแยกชั้น	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (μm)	การแยกชั้น
Lotion Base	6.50	-	6.80	-	7.45	-
1.	8.30	-	11.20	-	10.20	-
2.	6.50	-	6.45	-	7.40	-
3.	6.40	-	7.65	-	8.50	-
4.	6.00	-	8.45	-	9.04	-
5.	6.85	-	9.10	-	8.65	-

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากผลการประเมินขนาดของอนุภาคเฉลี่ยเมื่อผ่าน freez-thaw cycle จำนวน 2 รอบ ในตารางที่ 4-6 พบว่า ขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันในโลชันเบสและตำรับทั้ง 5 มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยและไม่พบการแยกชั้นในทุกตำรับทั้งภายหลังการทำ Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

ตารางที่ 4-7 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของตำรับโลชันทาผิว (เร่งโดยแรงโน้มถ่วงของโลก)

ตำรับ	Before Freeze-Thaw cycle		
	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (μm)		Flocculation/ Coalescent/ Creaming
	ก่อน Centrifuge	หลัง Centrifuge	
Lotion Base	5.61	6.2	Flocculation
1.	7.075	6.9	Flocculation
2.	6.5	5.9	Flocculation
3.	6.4	7.7	Flocculation
4.	6.0	8.7	Flocculation
5.	6.85	5.7	Flocculation

จากผลการประเมินขนาดอนุภาคเฉลี่ยของหยดน้ำมันเมื่อผ่านแรงปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีในตารางที่ 4-7 พบว่าขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันในทุกตำรับหลังผ่านการ centrifuge มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย และทุกตำรับยังมีลักษณะของ flocculation อยู่

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับโลชันทาผิว

ตารางที่ 4-8 ผลการประเมินคุณภาพด้านการใช้ของตำรับโลชันทาผิว

ตำรับที่	Before Freeze-Thaw cycle				After Freeze-Thaw cycle I				After Freeze-Thaw cycle II			
	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	กลิ่น	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	กลิ่น	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	กลิ่น
Lotion Base	+++	++++	+	-	+	++	++	-	++	++	++	-
1.	+++	++++	-	+	++	++	+	+	+	++	+	+
2.	++++	+++	-	++	++	+	+	+++	+	+++	++	+
3.	++++	++++	-	++++	++	++	+	+++	+++	+++	+	++
4.	++++	++++	-	+++	++	++	++	++	++	++	+	+
5.	++++	++++	-	++++	++	++	+	+++	++	++	+	++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากผลการประเมินคุณภาพด้านการใช้ในตารางที่ 4-8 พบว่า โลชันเบสและตำรับที่ 1 มีการกระจายตัวที่ดีแต่น้อยกว่าตำรับอื่น และหลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 พบว่าทุกตำรับมีการกระจายตัวลดลง โดยตำรับที่ 1 และ 2 มีการกระจายตัวหลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 2 น้อยกว่าครั้งที่1 ในทางตรงกันข้ามตำรับที่ 4 และ 5 พบว่าการกระจายตัวหลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 ไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนโลชันเบสและตำรับที่ 3 หลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 2 แล้วพบว่ามีการกระจายตัวเพิ่มขึ้น การดูดซึมของทุกนำรับก่อนการทำ Freeze-Thaw cycle มีการดูดซึมดี แต่หลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 ตำรับที่ 2 และ3 มีการดูดซึมเพิ่มขึ้น ส่วนตำรับอื่นมีการดูดซึมเท่ากับ Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 ความเหนอะหนะทุกตำรับเมื่อผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 จะมีความเหนอะหนะเพิ่มขึ้น ในส่วนของกลิ่นของทุกตำรับพบว่า เมื่อผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 กลิ่นจะจางหายมากขึ้น

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพ และค่า pH ของตำรับโลชันทาผิว

ตารางที่ 4-9 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพ และค่า pH ของโลชันทาผิว

ตำรับ	Before Freeze-Thaw cycle			After Freeze-Thaw cycle I			After Freeze-Thaw cycle II		
	การไหล	ความหนืด	pH	การไหล	ความหนืด	pH	การไหล	ความหนืด	pH
Lotion Base	+++	+	5.28	+	+	5.70	+	+	5.58
1.	+++	-	5.54	+	-	5.63	+	-	5.66
2.	+++	-	5.55	+	+	5.57	+	++	5.7
3.	+++	-	5.57	+	++	5.51	+	+	5.65
4.	+++	-	5.51	++	+	5.61	+	+	5.67
5.	+++	-	5.52	++	++	5.57	+	++	5.65

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับโลชันทาผิวในตารางที่ 4-9 พบว่า ก่อนผ่าน Freeze-Thaw cycle โลชันทุกตำรับมีการไหลดีมากแต่หลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 พบว่า โลชันมีการไหลลดลง เมื่อพิจารณาความหนืด พบว่าโลชันเบสและตำรับที่ 1 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงความหนืดทั้งก่อนและหลังผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 แต่ตำรับที่ 2, 3, 4 และ 5 พบว่ามีความหนืดเพิ่มขึ้น ส่วนค่า pH พบว่าในทุกตำรับมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากหลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 โดยพบว่ามี pH มีค่าใกล้เคียง 5.5 ซึ่งเป็น pH ของผิวหนังปกติ

ง. การประเมินชนิดของอิมัลชันของตำรับโลชันทาผิว

ตารางที่ 4-10 ผลการประเมินชนิดของอิมัลชันของตำรับโลชันทาผิว

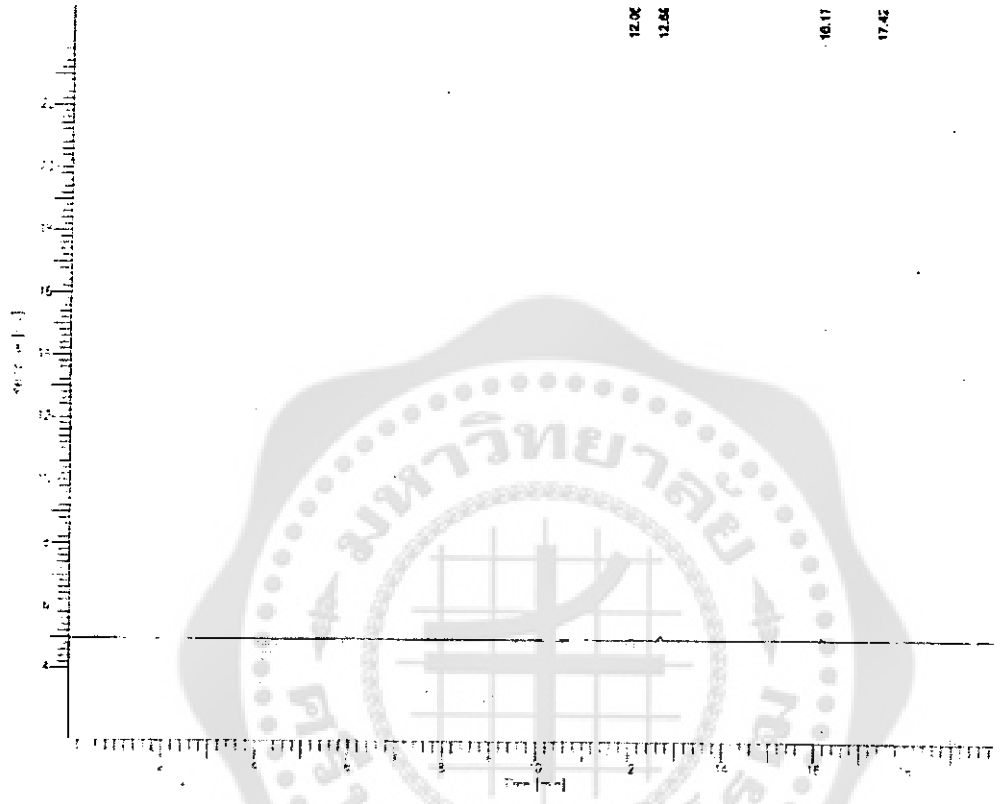
ตำรับที่	Before Freeze-Thaw cycle		After Freeze-Thaw cycle I		After Freeze-Thaw cycle II	
	การแยกชั้น	Emulsion	การแยกชั้น	Emulsion	การแยกชั้น	Emulsion
Lotion base	-	O/W	-	O/W	-	O/W
1.	-	O/W	-	O/W	-	O/W
2.	-	O/W	-	O/W	-	O/W
3.	-	O/W	-	O/W	-	O/W
4.	-	O/W	-	O/W	-	O/W
5.	-	O/W	-	O/W	-	O/W

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากผลการประเมินชนิดของอิมัลชันของตำรับโลชันทาผิวในตารางที่ 4-10 พบว่าทุกตำรับไม่เกิดการแยกชั้นทั้งก่อนและหลังจากผ่าน Freeze-Thaw cycle ครั้งที่ 1 และ 2 และเมื่อทดสอบชนิดของ emulsion พบว่าทุกตำรับเป็น emulsion ชนิด oil in water

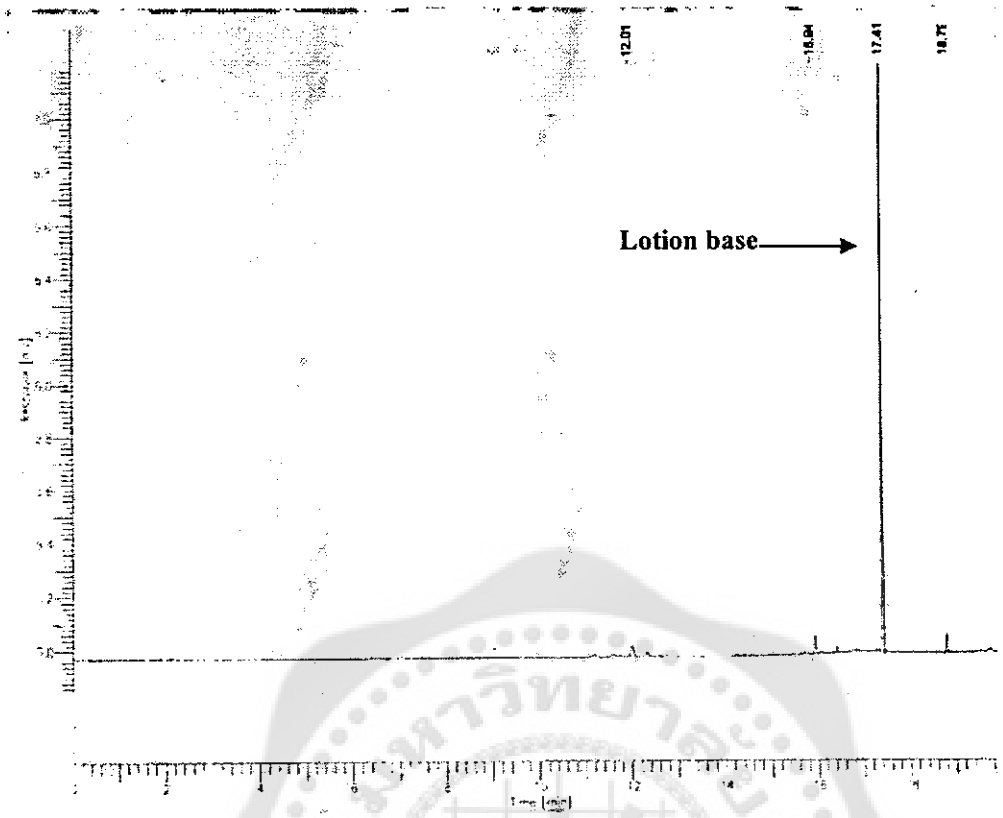
จ. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงคุณภาพ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงคุณภาพ



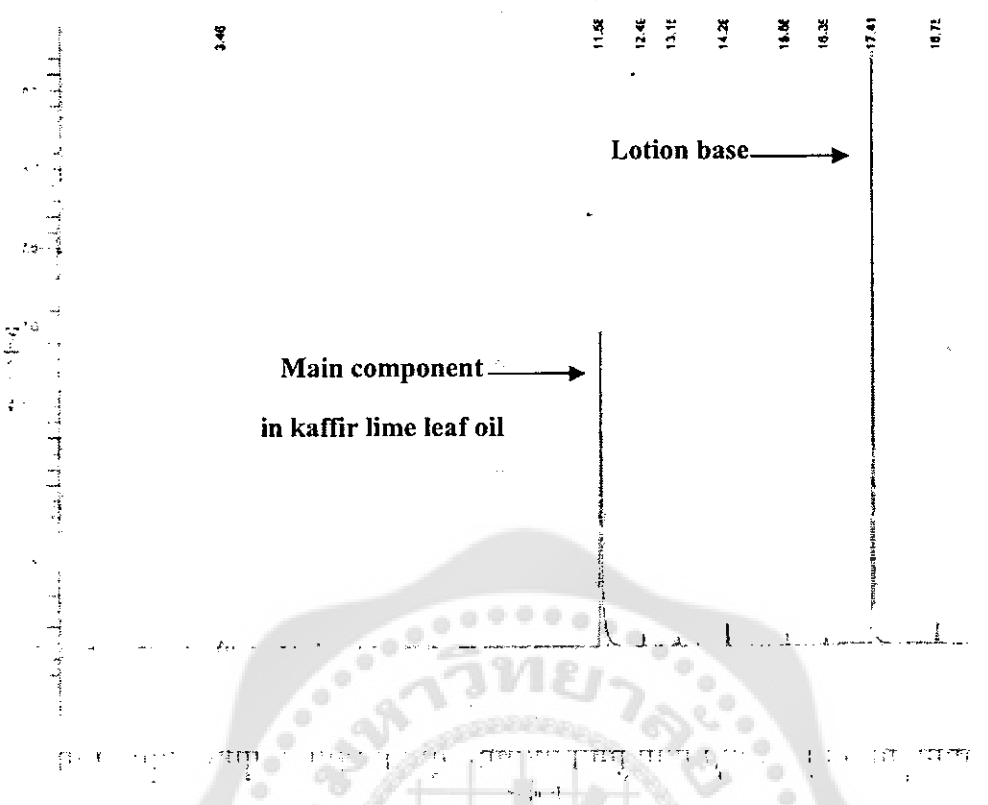
รูปที่ 4-3 GC Chromatogram ของ SPME Fiber

รูปที่ 4-3 เป็น GC chromatogram ของ SPME fiber เปล่า พบว่าไม่มี peak ของสารใดๆ ทำเพื่อดู base line และการปนเปื้อนของ SPME fiber ก่อนที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง



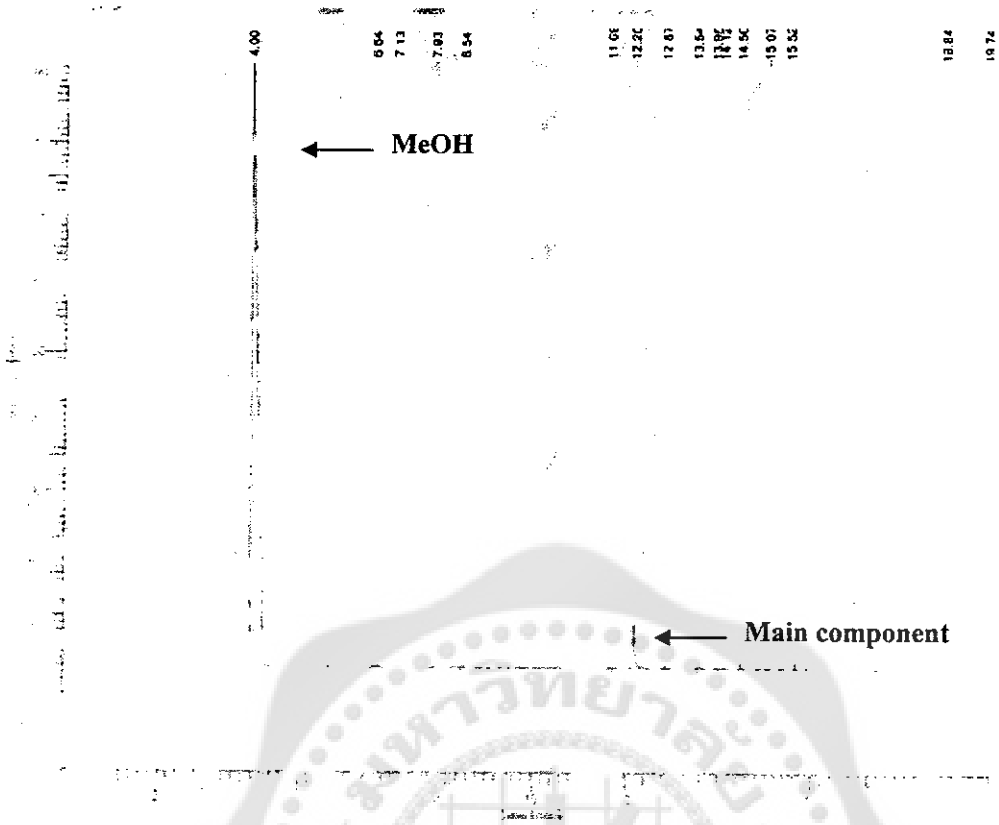
รูปที่ 4-4 GC Chromatogram ของ Lotion base

รูปที่ 4-4 เป็น GC chromatogram ของ lotion base พบว่ามี peak 1 peak ซึ่งมี retention time เท่ากับ 17.406 นาที



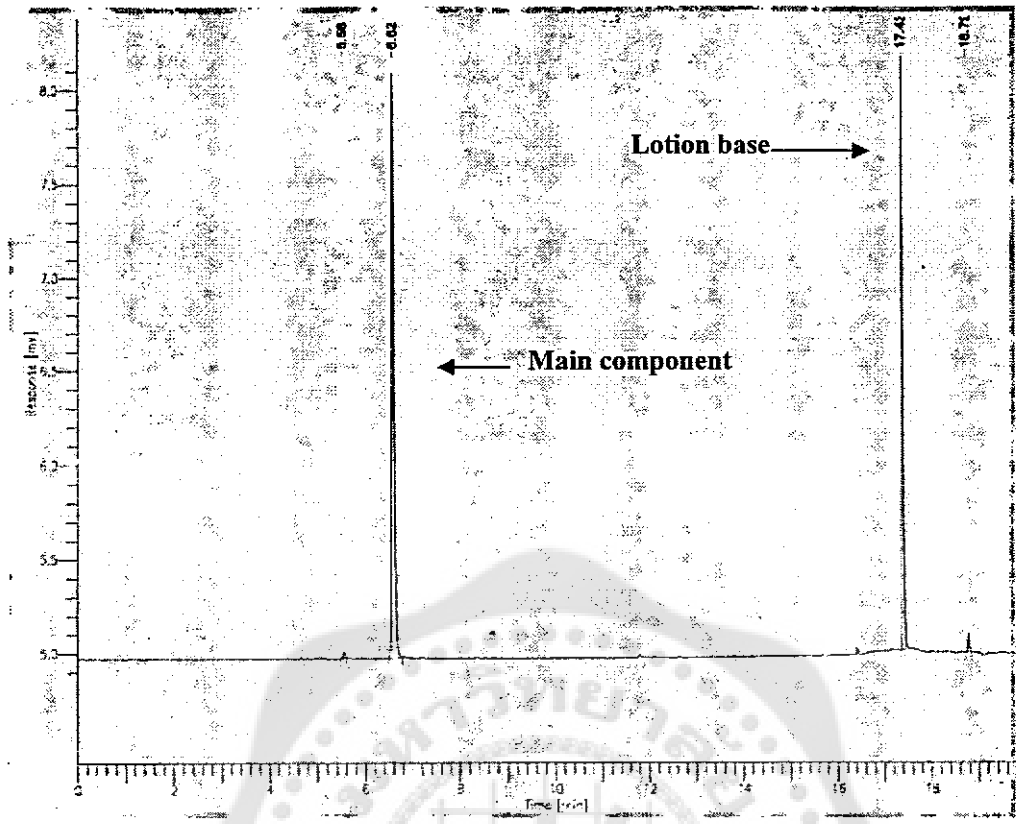
รูปที่ 4-5 GC Chromatogram ของ Kaffir lime leaf oil lotion

รูปที่ 4-5 เป็น GC chromatogram ของโลชันน้ำมันใบมะกรูด (kaffir lime leaf oil lotion) พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดย peak ที่ 1 มี retention time เท่ากับ 11.58 นาที และpeak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 17.406 นาที ซึ่งเป็น peak ของ lotion base ขณะที่ peak ที่ 1 คาดว่าจะเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันใบมะกรูดคือ citronellal



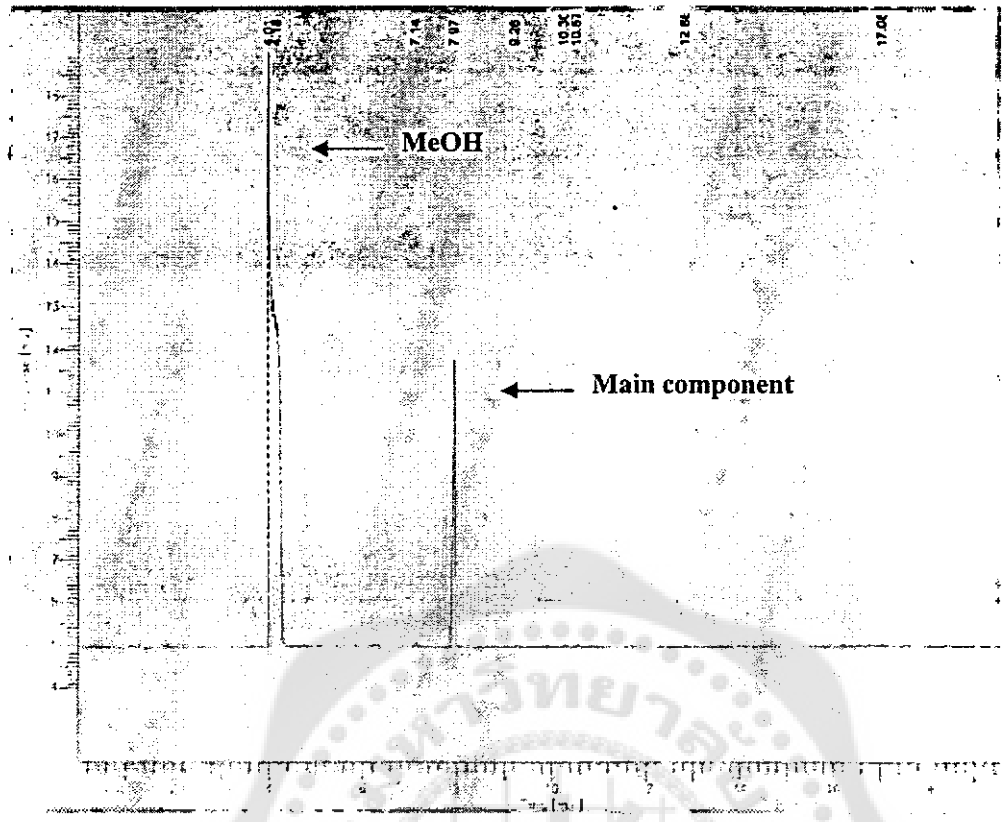
รูปที่ 4-6 GC Chromatogram ของ Kaffir lime leaf oil

รูปที่ 4-6 เป็น GC chromatogram ของน้ำมันใบมะกรูด (kaffir lime leaf oil) พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดยมีค่า retention time เท่ากับ 4.00 นาที ซึ่งเป็น peak ของตัวทำละลาย (Methanol) และ peak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 12.203 นาที ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันใบมะกรูด คือ citronellal



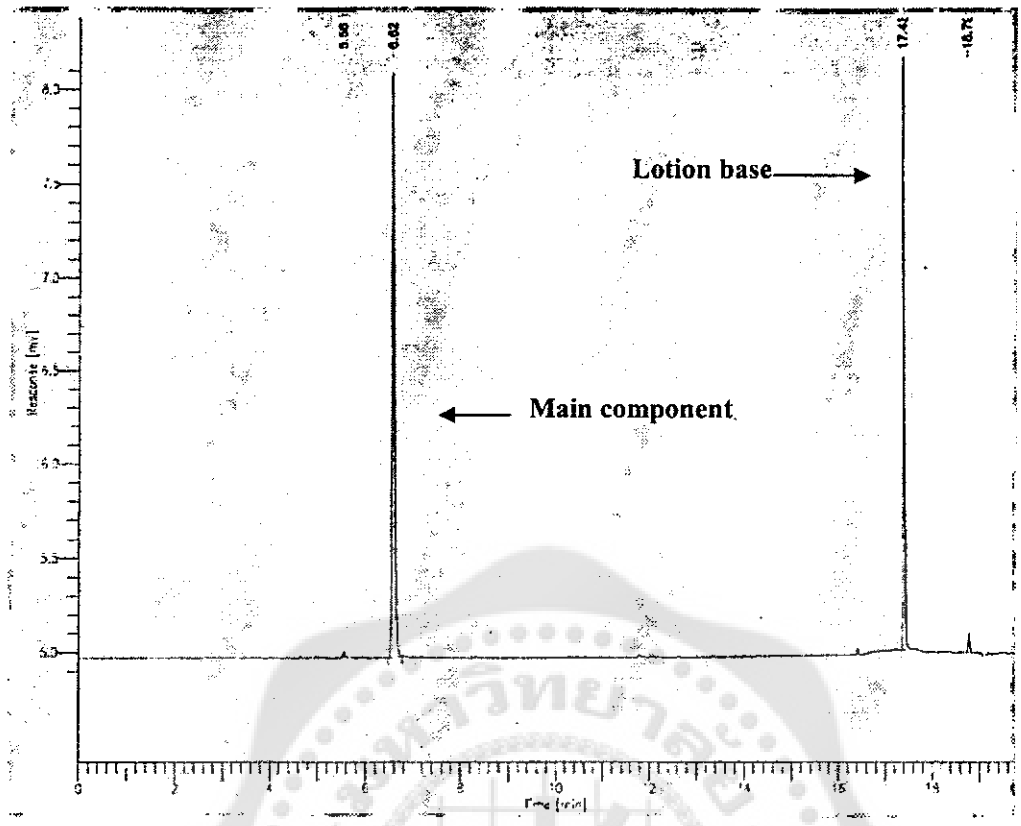
รูปที่ 4-7 GC Chromatogram ของ Grapefruit oil lotion

รูปที่ 4-7 เป็น GC chromatogram ของโลชันน้ำมันจาก grapefruit (Grapefruit oil lotion) พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดย peak ที่ 1 มี retention time เท่ากับ 6.620 นาที และpeak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 17.428 นาที ซึ่งเป็น peak ของ lotion base ขณะที่ peak ที่ 1 คาดว่าจะเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมัน grapefruit คือ limonene



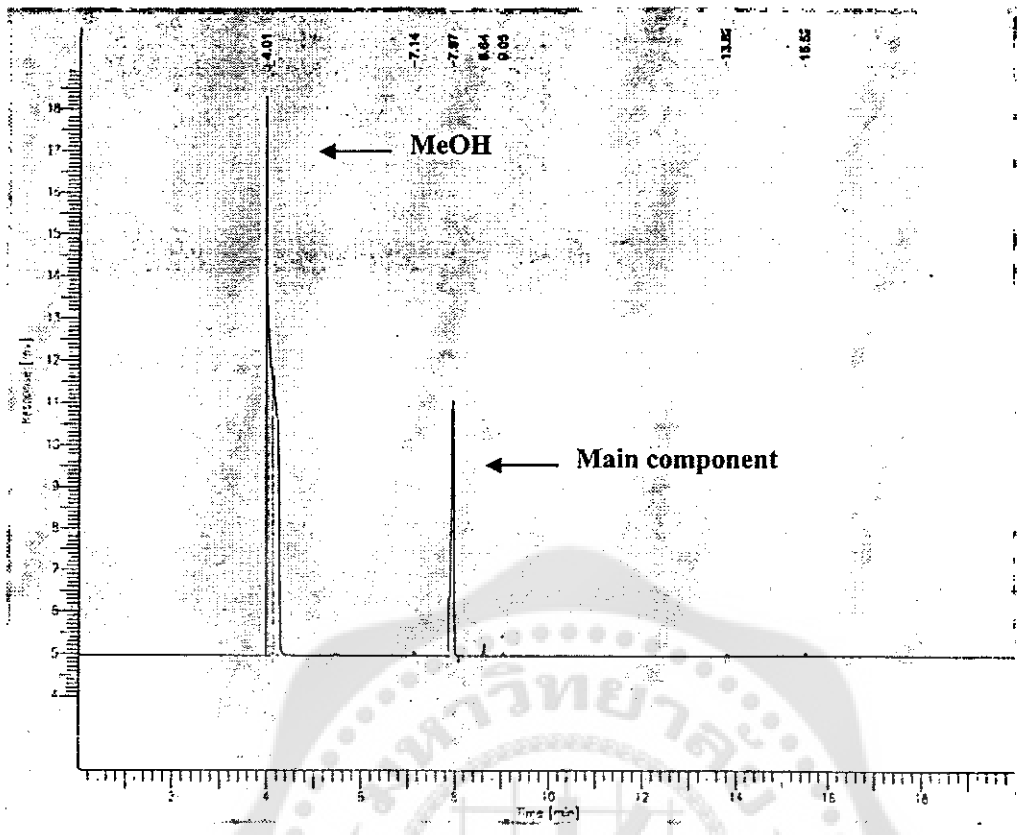
รูปที่ 4-8 GC Chromatogram ของ Grapefruit oil

รูปที่ 4-8 เป็น GC chromatogram ของ grapefruit oil พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดยมีค่า retention time เท่ากับ 4.01 นาที ซึ่งเป็น peak ของตัวทำละลาย (Methanol) และ peak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 7.971 นาที ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของ grapefruit oil คือ limonene



รูปที่ 4-9 GC Chromatogram ของ Mandarin red oil lotion

รูปที่ 4-9 เป็น GC chromatogram ของโลชันน้ำมันจากส้มเลือด (Mandarin red oil lotion) พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดย peak ที่ 1 มี retention time เท่ากับ 6.379 นาที และpeak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 17.426 นาที ซึ่งเป็น peak ของ lotion base ขณะที่ peak ที่ 1 คาดว่าจะเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันจาก mandarin red คือ limonene



รูปที่ 4-10 GC Chromatogram ของ Mandarin red oil

รูปที่ 4-10 เป็น GC chromatogram ของ mandarin red oil พบว่ามี peak หลัก 2 peak โดยมีค่า retention time เท่ากับ 4.01 นาที ซึ่งเป็น peak ของตัวทำละลาย (Methanol) และ peak ที่ 2 มี retention time เท่ากับ 7.971 นาที ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของ mandarin red oil คือ limonene

3. สูตรตำรับเจลทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับเจลทาผิว

ตารางที่ 4-11 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของ<u>เจลทาผิวน้ำมันมะกรูด</u>

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด
1	-	-	++	-	-	+++	-	-	+++
2	-	-	++++ ข่น	X	X	X	X	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลข่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด พบว่าตำรับที่ 1 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งผลิตภัณฑ์ยังมีความคงสภาพที่ดี ในขณะที่ตำรับที่ 2 พบว่าเจลทาผิวที่ได้มีความข่น และความหนืดสูงมาก

ตารางที่ 4-12 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของ<u>เจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด</u>

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด
1	-	-	++	-	-	+++	-	-	+++
2	-	-	++++ ข่น	X	X	X	X	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลข่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด พบว่าตำรับที่ 1 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งผลิตภัณฑ์ยังมีความคงสภาพที่ดี ในขณะที่ตำรับที่ 2 พบว่าเจลทาผิวที่ได้มีความข่น และความหนืดสูงมาก

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับเจลทาผิว

ตารางที่ 4-13 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกขณะทา) ของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด**

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา		
	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ
1	+++	+	++++	+++	+	++++	+++	++	++++ ทาแล้วเย็นมาก
2	++++	++	++ ทาแล้วเย็นมาก	X	X	X	X	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกขณะทาของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด พบว่าตำรับที่ 1 มีการกระจายตัวดี การดูดซึมน้อย มีความเหนอะหนะมาก และหลังจากผ่าน Freeze – Thaw ทั้งสองครั้งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และทาแล้วรู้สึกเย็น เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 1 กับตำรับที่ 2 พบว่าตำรับที่ 2 มีการกระจายตัวดีและการดูดซึมดีกว่า มีความเหนอะหนะน้อยกว่า อย่างไรก็ตามตำรับที่ 2 ไม่ได้ทำการประเมินความคงสภาพเนื่องจากเจลมีความขุ่นมาก

ตารางที่ 4-14 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกขณะทา) ของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด**

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา		
	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ
1	+++	+	++++	+++	+	++++	+++	++	++++ ทาแล้วเย็นมาก
2	+++	+	++++	X	X	X	X	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกขณะทาของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด พบว่าทั้งสองตำรับมีการกระจายตัวดี การดูดซึมน้อย มีความเหนอะหนะมาก และเมื่อตำรับที่ 1 ผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่าเจลมีการดูดซึมดีขึ้น และทาแล้วรู้สึกเย็น ขณะที่ตำรับที่ 2 ไม่ได้ทำการประเมินความคงสภาพเนื่องจากเจลมีความขุ่นมาก

ตารางที่ 4-15 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกหลังทา) ของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด**

ตำรับที่	ความรู้สึกชุ่มชื้นหลังทา		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	+ การล้างน้ำออก +++	+++ การล้างน้ำออก ++	++ (มัน) การล้างน้ำออก ++++
2	+++ การล้างน้ำออก +++	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

ตารางที่ 4-16 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกหลังทา) ของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด**

ตำรับที่	ความรู้สึกชุ่มชื้นหลังทา		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	+ การล้างน้ำออก +++	+++ การล้างน้ำออก ++	++ (มัน) การล้างน้ำออก ++++
2	+++ การล้างน้ำออก +++	X	X

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกหลังทาของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด พบว่าหลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งตำรับที่ 1 มีความชุ่มชื้นหลังทาสูงขึ้นและยังคงมีความชุ่มชื้นหลังจากการล้างน้ำออก ในขณะที่ตำรับที่ 2 มีความชุ่มชื้นหลังทาสูงแต่ไม่ได้ทำการประเมินความคงสภาพเนื่องจากเจลมีความขุ่นมาก สำหรับผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกหลังทาของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูดก็ให้ผลเช่นเดียวกับเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิว

ตารางที่ 4-17 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด

ตำรับที่	ลักษณะทางกายภาพ		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	เนื้อเจลนิ่ม ไม่หนืด ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นติดทนนาน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (++++)	เนื้อเจลนิ่ม หนืดเล็กน้อย ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นไม่เปลี่ยน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (+++)	เนื้อเจลนิ่ม หนืดมากขึ้น ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นไม่เปลี่ยน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (+++)
2	เนื้อเจลนุ่มมาก ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (++) แต่โปร่งแสง ผิวหน้าเหลือบ ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก	เนื้อเจลนุ่ม ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (++) แต่โปร่งแสง ผิวหน้าเหลือบ ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก	เนื้อเจลนุ่มมาก ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (+++) แต่โปร่งแสง ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก

จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของเจลทาผิวน้ำมันมะกรูด พบว่าทั้งสองตำรับมีเนื้อเจลนิ่ม ไม่หนืด แต่ก็ไม่สามารถไหลได้ ทาแล้วรู้สึกเย็น ตำรับที่ 1 มีความใสมากกว่าตำรับที่ 2 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่าตำรับที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ในขณะที่ตำรับที่ 2 มีความขุ่นเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4-18 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด

ตำรับที่	ลักษณะทางกายภาพ		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	เนื้อเจลนิ่ม ไม่หนืด ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นติดทนนาน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (++++)	เนื้อเจลนิ่ม หนืดเล็กน้อย ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นไม่เปลี่ยน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (+++)	เนื้อเจลนิ่ม หนืดมากขึ้น ไม่สามารถไหลได้ ฟองอากาศมาก กลิ่นไม่เปลี่ยน ทาแล้วรู้สึกเย็น ความใส (+++)
2	เนื้อเจลนุ่มมาก ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (++) แต่โปร่งแสง ผิวหน้าเหลือบ ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก	เนื้อเจลนุ่ม ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (++) แต่โปร่งแสง ผิวหน้าเหลือบ ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก	เนื้อเจลนุ่มมาก ไม่สามารถไหลได้ ขุ่น (+++) แต่โปร่งแสง ทาแล้วรู้สึกเย็นมาก

จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด พบว่าทั้งสองตำรับมีเนื้อเจลนิ่ม ไม่หนืด แต่ก็ไม่สามารถไหลได้ ทาแล้วรู้สึกเย็น ตำรับที่ 1 มีความใสมากกว่าตำรับที่ 2 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่าตำรับที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ในขณะที่ตำรับที่ 2 มีความขุ่นเพิ่มขึ้น

ง. การประเมินค่า pH ของตำรับเจลทาผิว

ตารางที่ 4-19 ผลการประเมินค่า pH ของตำรับ**เจลทาผิวน้ำมันมะกรูด**

ตำรับที่	Before freeze thaw		After freeze thaw 1		After freeze thaw 2	
	pH	ชนิด gel	pH	ชนิด gel	pH	ชนิด gel
1	5.45	-	5.50	-	5.60	-
2	5.30	-	X	-	X	-

หมายเหตุ: X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

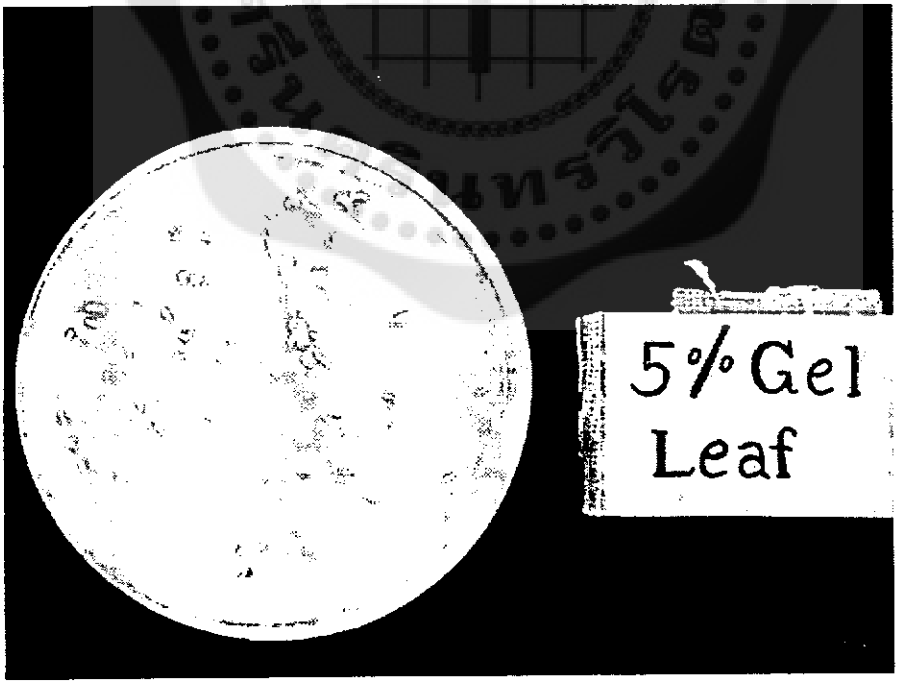
ตารางที่ 4-20 ผลการประเมินค่า pH ของตำรับ**เจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูด**

ตำรับที่	Before freeze thaw		After freeze thaw 1		After freeze thaw 2	
	pH	ชนิด gel	pH	ชนิด emulsion	pH	ชนิด emulsion
1	5.40	-	5.50	-	5.55	-
2	5.40	-	X	-	X	-

หมายเหตุ: X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากการประเมินค่า pH ของตำรับเจลทาผิวทั้งจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด พบว่าทุกตำรับมีค่า pH อยู่ในช่วง pH ของผิวหนัง หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของตำรับน้อยมาก

รูปที่ 4-11 ตำรับเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูด



รูปที่ 4-12 ตำรับเจลทาผิวจากน้ำมันใบมะกรูด

4. สูตรตำรับอิมัลเจลทาผิว

ก. การทดสอบความคงสภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว

ตารางที่ 4-21 ผลการประเมินการทดสอบความคงสภาพของอิมัลเจลทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด	creaming	cracking	ความหนืด
1	-	-	++++	-	-	++++	-	-	++++
2	-	-	++++	-	-	++++	-	-	+++
3	-	-	+++	-	-	+++	-	-	+++
4	-	-	++	-	-	++	-	-	++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากการประเมินการทดสอบความคงสภาพของอิมัลเจลทาผิว พบว่าไม่เกิด creaming และ cracking ในทุกตำรับ ตำรับที่ 1 และ 2 มีความหนืดมากกว่าตำรับที่ 3 และ 4 หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้งทุกตำรับไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยังมีความคงสภาพที่ดี

ข. การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของตำรับอิมัลเจลทาผิว

ตารางที่ 4-22 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกขณะทา)** ของอิมัลเจลทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw			After freeze thaw 1			After freeze thaw 2		
	ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา			ความรู้สึกขณะทา		
	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ	การกระจาย	การดูดซึม	ความเหนอะหนะ
1	++++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+++
2	++++	++	++++	+++	++	+++	+++	++	++
3	++++	++	+++	++++	++	+++	+++	++	++
4	++++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกขณะทาของอิมัลเจลทาผิว พบว่าทุกตำรับมีการกระจายตัวดี การดูดซึมปานกลาง มีความเหนอะหนะมาก และเมื่อผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่าทุกตำรับมีการกระจาย และความเหนอะหนะลดลง

ตารางที่ 4-23 ผลการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ **(ความรู้สึกหลังทา)** ของอิมัลเจลทาผิว

ตำรับที่	ความรู้สึกชุ่มชื้นหลังทา								
	Before freeze thaw			**After freeze thaw 1**			**After freeze thaw 2**		
	การล้างน้ำ			การล้างน้ำ			การล้างน้ำ		
1	++	ออก	++	++	ออก	++	++	ออก	+++
2	+		++	+		++	+++		++
3	++		+++	++		+++	+++		+++
4	++		++	++		++	+++		++

หมายเหตุ: - = ไม่เกิด, + = น้อย, ++ = ปานกลาง, +++ = มาก, ++++ = มากที่สุด

จากการประเมินทางคุณภาพด้านการใช้ในส่วนของความรู้สึกหลังทาของอิมัลเจลทาผิว พบว่าหลังจากผ่านFreeze – Thaw ครั้งที่ 2 ตำรับที่ 1 มีความชุ่มชื้นหลังทาหลังจากการล้างน้ำออกเพิ่มขึ้น ในขณะที่ตำรับอื่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง

ค. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับอิมัลเจลทาผิว

ตารางที่ 4-24 ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพของอิมัลเจลทาผิว

ตำรับที่	ลักษณะทางกายภาพ		
	Before freeze thaw	**After freeze thaw 1**	**After freeze thaw 2**
1	เนื้อครีมสาก ไม่นุ่ม, ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุขเล็กน้อย (+) สีขุ่นขาว ทึบแสง (+++), กลิ่นอ่อน,	เนื้อครีมสาก ไม่นุ่ม, ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุขเล็กน้อย (+) สีขุ่นขาว ทึบแสง (+++), กลิ่นอ่อน,	เนื้อครีมสาก ไม่นุ่ม, ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุขเล็กน้อย (+) สีขุ่นขาว ทึบแสง (+++), กลิ่นอ่อน, ทาแล้วเย็น
2	เนื้อครีมนุ่มเล็กน้อย, ไม่สามารถไหลผิวหน้าสาก ไม่เหลือบมุข, สีขุ่นขาว, ทึบแสง (++++), กลิ่นแรงปานกลาง,	เนื้อครีมนุ่มเล็กน้อย, ไม่สามารถไหลผิวหน้าสาก ไม่เหลือบมุข, สีขุ่นขาว, ทึบแสง (++++), กลิ่นแรงปานกลาง,	เนื้อครีมนุ่มเล็กน้อย, ไม่สามารถไหลผิวหน้าเหลือบเล็กน้อย(+), สีขุ่นขาว, ทึบแสง (++++), กลิ่นแรงปานกลาง, ทาแล้วเย็น
3	เนื้อนุ่มมากๆ, สามารถไหลได้ช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ	เนื้อนุ่มมากๆ, สามารถไหลได้ช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ	เนื้อนุ่มมากๆ, ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ, ทาแล้วเย็น
4	เนื้อนุ่มมากๆ, สามารถไหลได้ช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ	เนื้อนุ่มมากๆ, สามารถไหลได้ช้าๆ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ	เนื้อนุ่มมากๆ, ไม่สามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข (++), สีขาวขุ่นข้น, กลิ่นจากผลแรงกว่าจากใบ, ทาแล้วเย็น

ง. การประเมินค่า pH และชนิดของอิมัลชันของตำรับครีมทาผิว

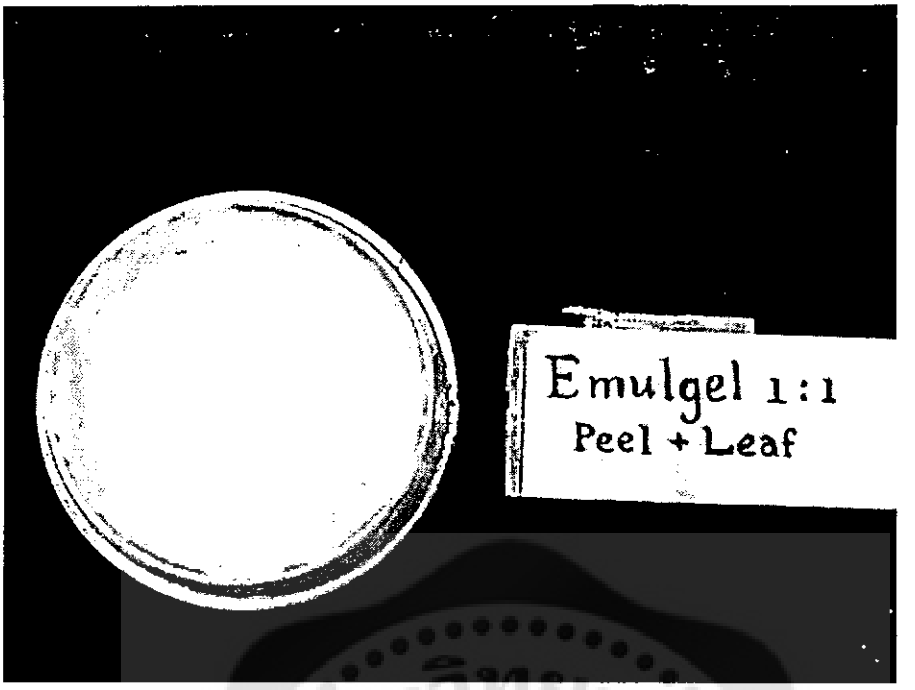
ตารางที่ 4-25 ผลการประเมินค่า pH และ ชนิดของตำรับอิมัลเจลทาผิว

ตำรับที่	Before freeze thaw		After freeze thaw 1		After freeze thaw 2	
	pH	ชนิดอีมัลเจล	pH	ชนิดอีมัลเจล	pH	ชนิดอีมัลเจล
1	5.00	ทำ Dilution Test แล้วไม่ละลายน้ำ, จับเป็นก้อน	5.00	X	5.00	X
2	4.80	ทำ Dilution Test แล้วไม่ละลายน้ำ, จับเป็นก้อน	4.90	X	5.00	X
3	5.30	O/w Dilition Test	5.30	O/w Dilition Test	5.30	O/w Dilition Test
4	5.25	O/w Dilition Test	5.30	O/w Dilition Test	5.30	O/w Dilition Test

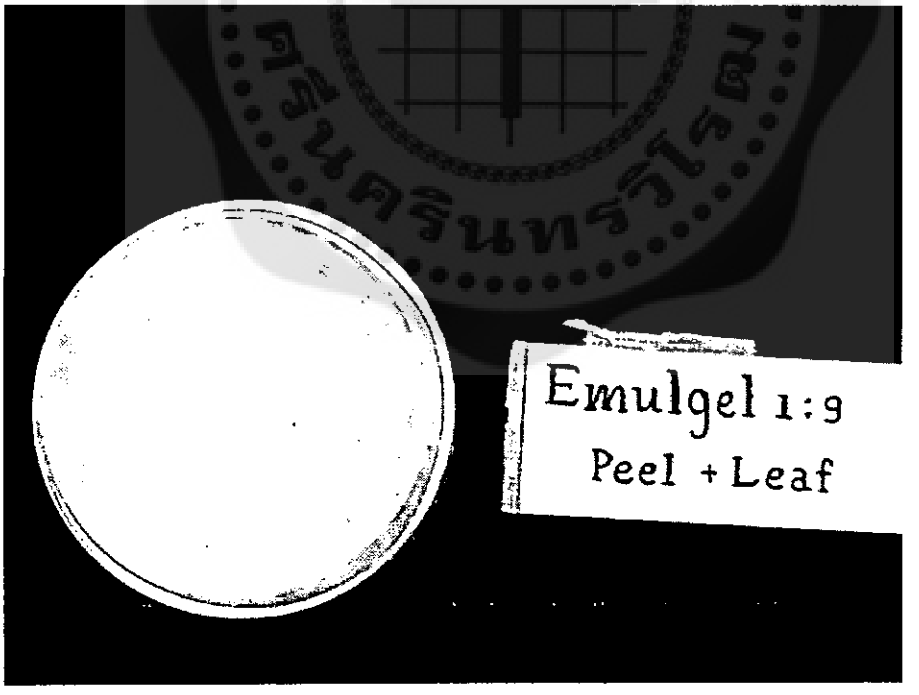
X ไม่มีการประเมินเนื่องจากเจลขุ่นคาดว่าอาจเนื่องจากปริมาณน้ำมันมะกรูดค่อนข้างสูง

จากการประเมินลักษณะทางกายภาพของอิมัลเจลทาผิว (ตารางที่ 4-24) พบว่าตำรับที่ 1 มีเนื้อครีมสาก ไม่นุ่ม ผิวหน้ามีความเหลือบมุขเล็กน้อย ตำรับที่ 2 มีเนื้อครีมนุ่มกว่า แต่ผิวหน้าไม่มีความเหลือบมุข ในขณะที่ตำรับที่ 3 และ4 เนื้อครีมมีความนุ่มมาก สามารถไหลได้ และผิวหน้ามีความเหลือบมุข หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่าตำรับที่ 1 และ 2 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ในขณะที่ตำรับที่ 3 และ 4 มีความหนืดเพิ่มขึ้น ไม่สามารถไหลได้

จากการประเมินค่า pH ของตำรับอิมัลเจลทาผิว (ตารางที่ 4-25) พบว่าตำรับที่ 1 และ 2 มีค่า pH ค่อนข้างต่ำกว่า pH ของผิวหนัง และเมื่อทดสอบ dilution test จะเกิดการจับกันเป็นก้อน จึงไม่ได้นำไปผ่านการทดสอบความคงสภาพ ในขณะที่ตำรับที่ 3 และ 4 มีค่า pH ใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนัง หลังจากผ่านFreeze – Thaw ทั้งสองครั้ง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของตำรับน้อยมาก และชนิดของอิมัลเจลทั้งสองตำรับเป็น oil in water



รูปที่ 4-13 ตำรับอิมัลเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูดสัดส่วน 1:1



รูปที่ 4-14 ตำรับอิมัลเจลทาผิวจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูดสัดส่วน 1:9

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร

2.1 ผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในกระต่าย มีดังนี้

<u>สารทดสอบ:</u> สูตรตำรับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบการระคายเคืองในกระต่าย

ตำรับครีมสูตร 6 ได้แก่

1. 20% ครีมเบส code: CB
2. 20% ครีมผลมะกรูด code: CP
3. 20% ครีมใบมะกรูด code: CL

ตำรับเจลสูตร 1 ได้แก่

4. 5% Gel เบส code: GB
5. 5% Gel ผลมะกรูด code: GP
6. 5% Gel ใบมะกรูด code: GL

ตำรับ Emulgel ที่ทดสอบ ได้แก่

7. 20% ครีมเบส + 5% เจลเบส สัดส่วน 1:1 code: EB11
8. 20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:1 code: EPL11
9. 20% ครีมเบส + 5% เจลเบส สัดส่วน 1:9 code: EB19
10. 20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:9 code: EPL19

ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่าย (ตารางที่ 4-26 ถึง 4-31) พบว่าผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของผลมะกรูดและใบมะกรูดในรูปของครีมและเจลไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่าย จึงทำการทดลองในส่วนของการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในอาสาสมัครต่อไป ในขณะที่ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของผลมะกรูดและใบมะกรูดในรูปของอีมัลเจล สูตร EPL19 พบว่า 50 % ของสัตว์ทดลองเกิดการเปลี่ยนสีแดงของผิวหนัง และเกิดอาการบวมของผิวหนังในระดับ + ทั้งในอีมัลเจล base และผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงไม่ได้นำไปทดสอบการระคายเคืองในมนุษย์

ตารางที่ 4-26a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **20% ครีมผลมะกรูด** (CP) **(การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
2	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
3	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
4	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-26b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **20% ครีมผลมะกรูด** (CP) **(การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
2	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
3	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-
4	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมผลมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-27a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **20% ครีมใบมะกรูด** (CL) **(การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
2	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
3	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
4	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-27b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **20% ครีมใบมะกรูด** (CL) **(การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
2	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
3	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-
4	Cream base	-	-	-	-
	20% ครีมใบมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-28a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% เจลผลมะกรูด (GP) **(การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
2	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
3	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
4	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-28b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ 5% **เจลผลมะกรูด** (GP) **(การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
2	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
3	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-
4	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลผลมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-29a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **5% เจลใบมะกรูด** (GL) **(การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
2	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
3	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
4	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-29b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ **5% เจลใบมะกรูด** (GL) **(การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
2	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
3	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-
4	Gel base	-	-	-	-
	5% เจลใบมะกรูด	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-30a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ**อิมัลเจล EPL11 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:1) (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
2	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
3	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
4	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-30b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ**อิมัลเจล EPL11 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:1) (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
2	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
3	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-
4	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL11	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-31a: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ**อิมัลเจล EPL19 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:9) (การเปลี่ยนสีแดง (Erythema) ของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	อิมัลเจลเบส	-	+	+	+
	อิมัลเจล EPL19	-	+	+	+
2	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL19	-	-	-	-
3	อิมัลเจลเบส	-	+	+	+
	อิมัลเจล EPL19	-	+	+	+
4	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL19	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อย

คะแนน ++ เมื่อบริเวณที่มีสีแดงมีขอบเขตแน่ชัด

คะแนน +++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นปานกลางจนถึงรุนแรง

คะแนน ++++ เมื่อมีการเปลี่ยนสีขั้นรุนแรง

ตารางที่ 4-31b: ผลการทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายของ**อิมัลเจล EPL19 (20% ครีมผลมะกรูด + 5% เจลใบมะกรูด สัดส่วน 1:9) (การเกิดอาการบวมของผิวหนัง)**

ตัวที่	สารทดสอบ	ผลการทดลอง			
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1	อิมัลเจลเบส	-	+	+	+
	อิมัลเจล EPL19	-	+	+	+
2	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL19	-	-	-	-
3	อิมัลเจลเบส	-	+	+	+
	อิมัลเจล EPL19	-	+	+	+
4	อิมัลเจลเบส	-	-	-	-
	อิมัลเจล EPL19	-	-	-	-

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน - เมื่อไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คะแนน + เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นน้อยมาก

คะแนน ++ เมื่อมีอาการบวมเกิดขึ้นเล็กน้อย

คะแนน +++ เมื่อมีอาการบวมขั้นปานกลาง

คะแนน ++++ เมื่อมีอาการบวมขั้นรุนแรง

2.2 ผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร โดย Kligman maximization test

การทดสอบการก่อการแพ้ และระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในอาสาสมัคร โดย Kligman maximization test

จำนวนอาสาสมัคร: 10 คน

<u>สารทดสอบ:</u> ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้มในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ ครีม และเจลโดยทำการเปรียบเทียบกับครีมเบส และเจลเบสตามลำดับ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

หมายเหตุ: เนื่องจากสูตรตำรับอิมัลเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดและผลมะกรูดก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่ายจึงไม่ได้นำมาทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร

สูตรตำรับสำหรับการทดสอบการก่อการระคายเคืองในอาสาสมัคร

ตำรับครีมสูตร 6 ได้แก่

1. 20% ครีมเบส
2. 20% ครีมผลมะกรูด
3. 20% ครีมใบมะกรูด

ตำรับเจลสูตร 1 ได้แก่

4. 5% Gel เบส
5. 5% Gel ผลมะกรูด
6. 5% Gel ใบมะกรูด

หมายเหตุ: แบบบันทึกผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยในอาสาสมัคร (ภาคผนวก ก)

จากการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร (ตารางที่ 4-32 ถึง 4-35) พบว่า**ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในอาสาสมัคร**

ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครแสดงดังตารางที่ 4-32 ถึง 4-35

ตารางที่ 4-32: ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของ **20% ครีมผลมะกรูด**

	วันที่ทดสอบ														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
คนที่ 1	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 2	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 3	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 4	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 5	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 6	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 7	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 8	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 9	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 10	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-

หมายเหตุ: ให้สารทดสอบวันที่ 1 และ วันที่ 13

♣ คือการปิดผ้าก็อซ และไม่สัมผัสน้ำ

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน – ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Negative reaction)

คะแนน + เป็นรอยนูนแดง ไม่พบตุ่มน้ำใส (Weak reaction)

คะแนน ++ เป็นตุ่มแดง มีตุ่มน้ำใสร่วมด้วย รอยตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Strong reaction)

คะแนน +++ เป็นตุ่มบวมแดงและมีตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Extreme reaction)

ตารางที่ 4-33: ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของ **20% ครีมใบมะกรูด**

	วันที่ทดสอบ														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
คนที่ 1	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 2	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 3	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 4	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 5	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 6	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 7	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 8	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 9	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 10	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-

หมายเหตุ: ให้สารทดสอบวันที่ 1 และ วันที่ 13

♣ คือการปิดผ้าก๊อซ และไม่สัมผัสน้ำ

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน – ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Negative reaction)

คะแนน + เป็นรอยนูนแดง ไม่พบตุ่มน้ำใส (Weak reaction)

คะแนน ++ เป็นตุ่มแดง มีตุ่มน้ำใสร่วมด้วย รอยตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Strong reaction)

คะแนน +++ เป็นตุ่มบวมแดงและมีตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Extreme reaction)

ตารางที่ 4-34: ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของ **5% Gel ผลมะกรูด**

	วันที่ทดสอบ														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
คนที่ 1	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 2	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 3	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 4	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 5	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 6	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 7	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 8	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 9	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 10	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-

หมายเหตุ: ให้สารทดสอบวันที่ 1 และ วันที่ 13

♣ คือการปิดผ้าก๊อซ และไม่สัมผัสน้ำ

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน – ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Negative reaction)

คะแนน + เป็นรอยนูนแดง ไม่พบตุ่มน้ำใส (Weak reaction)

คะแนน ++ เป็นตุ่มแดง มีตุ่มน้ำใสร่วมด้วย รอยตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Strong reaction)

คะแนน +++ เป็นตุ่มบวมแดงและมีตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Extreme reaction)

ตารางที่ 4-35: ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของ **5% Gel ใบมะกรูด**

	วันที่ทดสอบ														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
คนที่ 1	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 2	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 3	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 4	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 5	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 6	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 7	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 8	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 9	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
คนที่ 10	-	♣	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-

หมายเหตุ: ให้สารทดสอบวันที่ 1 และ วันที่ 13

♣ คือการปิดผ้าก๊อซ และไม่สัมผัสน้ำ

เกณฑ์การวัดผลการทดลอง

คะแนน – ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Negative reaction)

คะแนน + เป็นรอยนูนแดง ไม่พบตุ่มน้ำใส (Weak reaction)

คะแนน ++ เป็นตุ่มแดง มีตุ่มน้ำใสร่วมด้วย รอยตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Strong reaction)

คะแนน +++ เป็นตุ่มบวมแดงและมีตุ่มน้ำใสกว้างมากกว่าร้อยละ 50 ของตุ่มแดง (Extreme reaction)

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการบำบัดรักษามากขึ้น ซึ่งจะสังเกตได้จากความหลากหลายของผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยรูปแบบของผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้แก่ ครีมทาผิว แชมพู ลูกกลิ้งทาตัว โลชันทาผิว หรือเจลทาผิว เป็นต้น ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ส่วนใหญ่มีราคาค่อนข้างสูงและเป็นสินค้านำเข้าจากต่างประเทศ อีกทั้งรูปแบบของผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นแบบที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะด้าน ทำให้ไม่สะดวกต่อการเก็บรักษาและการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนารูปแบบการนำส่งยาในรูปน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มให้อยู่ในรูปที่ใช้ง่าย สะดวกในการเก็บรักษา และเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีคุณภาพ โดยพัฒนาเป็นตำรับอิมัลชัน (ครีมทาผิว โลชันทาผิว) ตำรับเจลทาผิว และตำรับอิมัลเจลทาผิว เพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ดียิ่งขึ้นจะขอสรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะในแต่ละตำรับ

การพัฒนาสูตรตำรับครีมทาผิว การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาสูตรตำรับครีมทาผิวทั้งหมด 6 ตำรับ โดยเลือกใช้ cetomacrogol 1000 เป็นสารทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุ ข้อดีของสารทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุคือโมเลกุลของสารทำอิมัลชันชนิดนี้จะมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำทำให้ค่า HLB (hydrophilic lipophilic balance) มีช่วงกว้างตั้งแต่ 1-18 และเลือกใช้ stearyl alcohol และ cetyl alcohol เป็นสารช่วยทำอิมัลชัน (auxillary emulsifier) ในการพัฒนาตำรับจะทำการปรับเปลี่ยนสัดส่วนของสารทำอิมัลชัน และสารช่วยทำอิมัลชันจนได้ครีมทาผิวที่มีลักษณะดังนี้คือ เนื้อครีมเนียน นุ่ม น่าใช้ มีความมันเล็กน้อย ถ้าความมันมากเกินไปอาจทำให้รู้สึกเหนอะหนะ แต่ถ้าครีมที่ไม่มีความมันเลยก็จะทำให้ไม่รู้สึกชุ่มชื้นหลังจากทา มีความคงสภาพ ไม่เกิดการแยกชั้นเมื่อเก็บจนครบอายุของผลิตภัณฑ์ ตลอดจนควรมีค่า pH ใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนังด้วย **ผลการพัฒนาสูตรตำรับครีมทาผิว** พบว่าตำรับที่ 1 เกิดครีมที่เหลวและมีความมันมากทำให้เหนอะหนะ จึงได้ทำการทดลองลดปริมาณ Cetomacrogol 1000 ลงตามสูตรตำรับที่ 2 และ 3 ซึ่งปรากฏว่าการลดปริมาณสารทำอิมัลชันทำให้ตำรับไม่คงสภาพ (เกิด creaming หรือเกิดการแยกชั้น) หลังจากตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าตำรับที่ 1 ไม่คงสภาพเมื่อผ่านการทำ Freeze – Thaw ครั้งที่ 1 ซึ่งจากผลการไม่คงสภาพของครีมตำรับที่ 1 – 3 นั้นคาดว่าอาจเนื่องมาจากตำรับมีความหนืดต่ำมากทำให้ความคงตัวไม่ดีพอ อีกทั้งต้องใช้สารทำอิมัลชันในปริมาณมากจึงจะก่อให้เกิดครีมได้ ดังนั้นจึงได้ปรับเปลี่ยนสัดส่วนของ stearyl alcohol และ cetyl alcohol ซึ่งทำหน้าที่เป็น auxillary emulsifier ในตำรับ และยังช่วยให้ตำรับมีความคงตัวสูงขึ้นโดยใช้กลไกการเพิ่มความหนืด ช่วยให้เนื้อครีมหนาแน่นขึ้น นอกจากนี้ยังนำสารทำอิมัลชันอีกตัวเข้า

มาใช้ในการพัฒนาตำรับด้วยคือ glycerylmonostearate ดังรายละเอียดในสูตรตำรับที่ 4 – 6 ซึ่งพบว่าเมื่อเปรียบเทียบแต่ละสูตรตำรับที่พัฒนาขึ้นในครั้งที่สองนี้จะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในด้านของลักษณะภายนอก ความรู้สึกขณะทา/หลังทา หรือความพึงพอใจในการใช้ และพบว่าการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งไม่มีผลต่อความคงสภาพของตำรับ โดยทุกตำรับยังมีลักษณะทางกายภาพต่างๆ ไม่แตกต่างไปจากก่อนการทดสอบ ดังนั้นการพิจารณาคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุดจะทำโดยอาศัยเกณฑ์การเลือกจากลักษณะภายนอกและความพึงพอใจในการใช้ โดยจะเห็นได้ว่าสูตรตำรับที่ 6 จะมีลักษณะภายนอกของครีมที่เหมาะสมในการนำไปใช้มากที่สุด และความพึงพอใจในการทดลองใช้มากที่สุด กล่าวคือ ครีมมีลักษณะค่อนข้างนุ่มและสามารถไหลได้ เนื้อครีมไม่แข็งจนเกินไป มีการกระจายตัวดี สามารถดูดซึมได้ค่อนข้างดี และไม่เกิดความรู้สึกเหนอะหนะเมื่อครีมดูดซึมแล้ว เหมาะแก่การนำไปใช้ต่อไป นอกจากนี้ผลการประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ในระยะยาวที่สภาวะแตกต่างกัน (อุณหภูมิห้อง 18 เดือน, อุณหภูมิ 25°C 12 เดือน และอุณหภูมิ 4°C 6 เดือน) พบว่าผลิตภัณฑ์ยังคงมีสภาพที่ดี ดังนั้นจึงนำสูตรตำรับที่ 6 ไปทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายและอาสาสมัครต่อไป

การพัฒนาสูตรตำรับโลชันทาผิว การพัฒนาสูตรตำรับโลชันทาผิวมี 2 ส่วนคือ ส่วนแรกเป็นการพัฒนาสูตรตำรับโลชันเบส ส่วนที่สองเป็นการพัฒนาตำรับโลชันทาผิวจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มโดยใช้โลชันเบสที่เหมาะสมที่สุดจากการพัฒนาในส่วนแรก **ส่วนแรกเป็นการพัฒนาสูตรตำรับโลชันเบส** ทำโดยเลือกใช้ stearyl alcohol, cetyl alcohol และ glycerylmonostearate เป็นสารทำอิมัลชัน ในการพัฒนาตำรับจะทำการปรับเปลี่ยนสัดส่วนของสารทำอิมัลชัน สารช่วยทำอิมัลชันและ thickening agent (stearic acid และ jojoba oil) จนได้โลชันเบสที่มีลักษณะดังนี้คือ เนื้อโลชันเนียนนุ่ม สามารถไหลได้ ทาแล้วไม่มีขึ้นขาว มีความมันเล็กน้อย ถ้าความมันมากเกินไปอาจทำให้รู้สึกเหนอะหนะ แต่ถ้าโลชันที่ไม่มีความมันเลยก็จะทำให้ไม่รู้สึกชุ่มชื้นหลังจากทา มีความคงสภาพ ไม่เกิดการแยกชั้นเมื่อเก็บจนครบอายุของผลิตภัณฑ์ ตลอดจนควรมีค่า pH ใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนังด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตั้งตำรับโลชันเบสทั้งหมด 8 ตำรับ โดยใส่น้ำมันใบมะกรูด 0.5% w/w ในทุกสูตรตำรับเพื่อเป็นตัวแทนน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม หลังจากนั้นทำการประเมินคุณภาพแต่ละตำรับ **ผลการวิจัยพบว่า** ตำรับที่ 1 เกิดการแยกชั้น ดังนั้นในตำรับที่ 2 จึงเพิ่มปริมาณสารทำอิมัลชัน คือ cetyl alcohol, glycerylmonostearate และ stearyl alcohol เพื่อให้ได้โลชันมีความคงสภาพเพิ่มขึ้น พบว่าโลชันสูตรตำรับที่ 2 มีเนื้อเบา ความเป็นมันมาก ไหลได้น้อย การกระจายตัวค่อนข้างต่ำ ทำให้ผู้ใช้รู้สึกเหนอะหนะและรู้สึกว่ามีฟิล์มเคลือบที่ผิว รวมทั้งมีค่า pH อยู่ในช่วงเบส ดังนั้นในตำรับที่ 3 จึงพัฒนาในส่วนของความแน่นของเนื้อโลชันโดยเพิ่มปริมาณ stearic acid ซึ่งผลที่ได้คือเนื้อโลชันมีความแน่นมากขึ้นทำให้มีผลเพิ่มการดูดซึม แต่โลชันที่ได้ยังมีความเป็นมันมากเกินไป ในตำรับที่ 4 จึงลดปริมาณ cetyl alcohol และ glycerylmonostearate ผลที่ได้คือความเป็นมันลดลง แต่โลชันมีการไหลไม่ค่อยดี และยังให้ความรู้สึกว่ามีฟิล์มเคลือบที่ผิวหลัง

การทา ในตำรับที่ 5 จึงพัฒนาโดยการลดปริมาณ stearyl alcohol ผลที่ได้คือโลชันมีการไหลดีขึ้น มีการกระจายตัวและการดูดซึมเพิ่มมากขึ้น ความเหนอะหนะลดลง แต่เกิดฟิล์มเคลือบที่ผิวภายหลังการทา จึงทำการลดปริมาณ petrolatum ในตำรับที่ 6 เนื่องจากต้องการลดการเกิดฟิล์มเคลือบที่ผิวภายหลังการทา และตำรับที่ 7 มีการลด Isopropyl myristate, mineral oil และ jojoba oil เนื่องจากต้องการลดความมันของโลชัน ผลที่ได้คือตำรับไม่มีความเหนอะหนะ โลชันมีการดูดซึมดีและมีความมันลดลง แต่ผู้วิจัยยังต้องการลดความมันของตำรับลงอีก และเพิ่มการไหลให้ดีขึ้น จึงทำการลดปริมาณ cetyl alcohol ลงอีกในตำรับที่ 8 ซึ่งผลที่ได้คือตำรับมีเนื้อโลชันแน่น การไหลดี การกระจายตัวและการดูดซึมดี มีความเหนอะหนะและเป็นมันน้อยลง ไม่ให้ความรู้สึกเป็นฟิล์มเคลือบผิวหลังทา และมี pH เท่ากับ 5.5 ซึ่งใกล้เคียงกับ pH ของผิวหนังตามธรรมชาติ **ดังนั้นจึงเลือกโลชันเบสตำรับที่ 8 ในการนำมาพัฒนาตำรับโลชันทาผิวจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มต่อไป ส่วนที่สองเป็นการพัฒนาตำรับโลชันทาผิวจากน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้ม** ทำโดยเลือกใช้โลชันเบสตำรับที่ 8 มาใช้ในการพัฒนาสูตรตำรับโดยเตรียมโลชันทาผิวจาก grapefruit oil (*Citrus paradisi*) mandarin red oil (*Citrus reticulate*) และน้ำมันใบมะกรูด โดยใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.25-1.00%w/w ผลการวิจัยพบว่า การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ลักษณะภายนอก ความรู้สึกขณะทา/หลังทา หรือความพึงพอใจในการใช้ของทุกตำรับแทบจะไม่มีความแตกต่างกันมากนัก เนื่องจากทุกตำรับใช้โลชันเบสสูตรเดียวกัน แต่สิ่งที่ต่างกันคือชนิดและปริมาณของน้ำมันหอมระเหย เมื่อนำตำรับที่เตรียมได้ไปผ่าน Freeze-Thaw ครั้งที่ 1 และ 2 พบว่ามีการไหลลดลง ความหนืดเพิ่มขึ้น การกระจายตัวและการดูดซึมลดลง ความเหนอะหนะเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการแยกชั้น ส่วนผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงคุณภาพโดยวิธี HS-SPME-GC พบว่าทุกตำรับยังคงมีน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มเป็นองค์ประกอบ อย่างไรก็ตามควรมีการพัฒนาสูตรตำรับโลชันต่อไปอีกโดยเพิ่มปริมาณของน้ำมันหอมระเหยเพื่อให้เห็นผลทางการรักษา ดังนั้นตำรับโลชันทาผิวจึงยังไม่ได้มีการนำไปทดสอบการระคายเคืองในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร

การพัฒนาสูตรตำรับเจลทาผิว การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาสูตรตำรับเจลทาผิวโดยเลือกใช้ carbopol 940 เป็นสารก่อเจล เนื่องจากมีข้อดีคือ ในความเข้มข้นต่ำก็สามารถก่อเจลที่มีความหนืดสูง มีความคงตัวต่อความร้อน ไม่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ และไม่เกิดพิษ นอกจากนี้ carbopol 940 ยังมีคุณสมบัติ high cross-link density ทำให้ mesh size ภายในโครงร่างของเจลมีขนาดเล็ก มีปริมาตรอิสระน้อย จึงสามารถลดอัตราการแพร่ของตัวยาหรือสารออกจากตำรับเจลได้ดีกว่าสารก่อเจลที่มี cross-link density ต่ำกว่า เนื่องจากผู้วิจัยต้องการเตรียมตำรับเจลทาผิวที่มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มค่อนข้างสูง (ประมาณ 20%) เพื่อใช้ในทางการบำบัดรักษามากกว่าทางเครื่องสำอาง ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำมันสูงคือเจลที่ได้มีความคงสภาพต่ำ มีความขุ่นสูง ตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่น่าใช้ ซึ่งอาจแก้ปัญหาโดยการเลือกใช้ตัวทำละลายหลายชนิดในการช่วยละลายน้ำมันหอมระเหย คณะผู้วิจัยได้ทำ preliminary

studyในส่วนของตัวทำละลายพบว่า ชนิดและสัดส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการพัฒนาตำรับเจลทาผิวที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย 5% โดยน้ำหนักคือ PEG400, absolute ethanol และ purified water ในสัดส่วน 2:3:5 ดังนั้นในการพัฒนาตำรับเจลทาผิวจะใช้สัดส่วนนี้ และทำการพัฒนาตำรับที่มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมากขึ้นด้วย **ผลการวิจัยพบว่า** เมื่อเปรียบเทียบทั้งสองสูตรตำรับที่พัฒนาขึ้นจะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในด้านของลักษณะภายนอก โดยสูตรตำรับที่ 1 ได้เจลที่ใส เนื้อเจลนิ่ม ทาแล้วรู้สึกเย็น มีการกระจายตัวดี การดูดซึมค่อนข้างดี แต่ทาแล้วรู้สึกเหนอะหนะ ในขณะที่ตำรับที่ 2 เจลค่อนข้างขุ่นและมีความหนืดค่อนข้างสูง ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากการที่ตำรับที่ 2 มีปริมาณน้ำมันมะกรูดสูงกว่าตำรับที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่าการทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง (Freeze thaw cycle) ไม่มีผลต่อความคงสภาพของตำรับที่ 1 โดยตำรับยังมีลักษณะทางกายภาพไม่แตกต่างไปจากก่อนการทดสอบ นอกจากนี้ผลการประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ในระยะยาวที่สภาวะแตกต่างกัน (อุณหภูมิห้อง 18 เดือน, อุณหภูมิ 25°C 12 เดือน และอุณหภูมิ 4°C 6 เดือน) พบว่าผลิตภัณฑ์ยังคงมีสภาพที่ดี **ดังนั้นจึงนำตำรับที่ 1 ไปทดสอบการระคายเคืองในกระต่ายและอาสาสมัครต่อไป** อย่างไรก็ตาม ควรมีการพัฒนาตำรับเจลทาผิวต่อไปในส่วนต่างๆ ได้แก่ การหา dispersing agent ช่วยในการกระจายตัวของ carbopol 940 เวลาโปรยจะได้ไม่จับเป็นก้อน เจลที่ได้มีความหนืดค่อนข้างสูง จึงควรลดปริมาณ carbopol 940 ลง และอาจเพิ่มปริมาณตัวทำละลายร่วม เพื่อลดความหนืดของเจล นอกจากนี้ควรหาสารช่วยเพิ่มการดูดซึมและสารเพิ่มความชุ่มชื้น เพราะเจลที่ได้ทาแล้วเหนอะหนะ และถ้าต้องการเตรียมตำรับเจลทาผิวที่มีน้ำมันหอมระเหยสูงถึง 20% โดยน้ำหนัก ควรทำการทดลองหาสัดส่วนของสารใหม่ อาทิเช่น เพิ่มปริมาณของ nonionic surfactant สำหรับละลายน้ำมันหอมระเหย ปรับสัดส่วนของตัวทำละลายร่วม หรือเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายร่วม

การพัฒนาสูตรตำรับอิมัลเจลทาผิว เนื่องจากตำรับครีมทาผิวและตำรับเจลทาผิวของน้ำมันใบมะกรูดจะมีกลิ่นค่อนข้างแรงซึ่งจากการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ในส่วนของกลิ่นของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวพบว่า ควรมีการปรับปรุงในส่วนของกลิ่น โดยผู้วิจัยคาดว่าส่วนผสมของน้ำมันผลมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูดน่าจะทำให้กลิ่นของผลิตภัณฑ์ดีกว่าน้ำมันใบมะกรูดอย่างเดียว ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงทำการพัฒนาสูตรตำรับอิมัลเจลจากน้ำมันหอมระเหยจากผลมะกรูดและใบมะกรูด โดยนำสูตรตำรับครีมทาผิวน้ำมันผลมะกรูดสูตรตำรับที่ 6 และเจลทาผิวน้ำมันใบมะกรูดสูตรตำรับที่ 1 มาผสมกันด้วยสัดส่วน 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 9 (สูตรที่ 3 และ 4 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาตำรับอิมัลเจลโดยใช้ครีมทาผิวน้ำมันผลมะกรูดสูตรตำรับที่ 6 ผสมกับเจลเบสในสัดส่วนที่แตกต่างกันคือ 2 ต่อ 8 และ 4 ต่อ 6 (สูตรที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) **ผลการวิจัยพบว่า**เมื่อเปรียบเทียบสูตรตำรับทั้ง 4 สูตรที่พัฒนาขึ้นจะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในด้านของลักษณะภายนอก และความรู้สึกหรือความพึงพอใจขณะทา และพบว่าการทดสอบความคงสภาพแบบเร่ง (Freeze thaw cycle) **ไม่มีผล**ต่อความคงตัวของตำรับ โดยทุกตำรับยังมีลักษณะทางกายภาพ

ต่างๆ ไม่แตกต่างไปจากก่อนการทดสอบ ดังนั้นการพิจารณาคัดเลือกตำรับที่ดีที่สุดจะทำโดยอาศัยเกณฑ์การเลือกจากลักษณะภายนอกและความพึงพอใจในการใช้ โดยจะเห็นได้ว่าสูตรตำรับอิมัลเจลที่ 3 และ 4 จะมีลักษณะภายนอกของอิมัลเจลที่เหมาะสมในการนำไปใช้ และความพึงพอใจในการทดลองใช้กล่าวคือ อิมัลเจลมีลักษณะนุ่มมากและสามารถไหลได้ ผิวหน้าเหลือบมุข สามารถดูดซึมได้ค่อนข้างดี และไม่เกิดความรู้สึกเหนอะหนะ เหมาะแก่การนำไปใช้ต่อไป และกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันผลมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูดมีกลิ่นหอมกว่าน้ำมันใบมะกรูดอย่างเดียว นอกจากนี้ผลการประเมินความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ในระยะยาวที่สภาวะแตกต่างกัน (อุณหภูมิห้อง 18 เดือน, อุณหภูมิ 25°C 12 เดือน และอุณหภูมิ 4°C 6 เดือน) พบว่าผลิตภัณฑ์ยังคงมีสภาพที่ดี **ดังนั้นจึงนำตำรับอิมัลเจลที่ 3 และ 4 ไปทำการทดลองการก่อการระคายเคืองในสัตว์ทดลอง และมนุษย์ต่อไป**

เพื่อเป็นการยืนยันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมา การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ทำ**การทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพเหล่านั้นทั้งในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร** โดยทำการทดสอบการระคายเคืองของสูตรตำรับครีมตำรับที่ 6 เจลตำรับที่ 1 อิมัลเจลตำรับที่ 3 และ 4 ในกระต่าย **ผลการวิจัยพบว่า** ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของผลมะกรูด และใบมะกรูดในรูปของตำรับครีมและตำรับเจลไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในกระต่าย จึงทำการทดลองในส่วนของการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในอาสาสมัครต่อไป ในขณะที่ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของผลมะกรูดและใบมะกรูดในรูปของอิมัลเจลตำรับที่ 4 พบว่า 50 % ของสัตว์ทดลองเกิดการเปลี่ยนสีแดงของผิวหนัง และเกิดอาการบวมของผิวหนังในระดับ + ทั้งในอิมัลเจล base และผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นไปได้ที่ว่าอาจเกิดปฏิกิริยาของสารต่างๆ ในตำรับดังกล่าวทำให้เกิดสารที่มีความระคายเคืองต่อผิวหนัง ดังนั้นจึงไม่ได้นำตำรับอิมัลเจลไปทดสอบการระคายเคืองในมนุษย์ สำหรับผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัครของ**ตำรับครีมและตำรับเจลพบว่าผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของน้ำมันหอมระเหยพืชตระกูลส้มไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในอาสาสมัคร**

กล่าวโดยสรุป งานวิจัยครั้งนี้ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มในรูปของครีมทาผิวและเจลทาผิวที่มีคุณภาพที่ดี ผ่านการทดสอบการระคายเคืองเพื่อยืนยันความปลอดภัยทั้งในสัตว์ทดลองและอาสาสมัคร ดังนั้นขั้นตอนต่อไปควรนำสูตรตำรับที่พัฒนาขึ้นไปทดลองผลิตในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารอ้างอิง

1. L.P.A. Oyen and Nguyen Xuan Dung (บรรณาธิการ). 2544. Prosea ทรัพยากรพืชในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พืชที่ให้น้ำมันหอม ลำดับที่ 19. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี. สหมิตรพริ้นติ้ง.
2. มงคล แซ่หลิม. 2536. การผลิตส้ม. สงขลา. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
3. นันทวัน บุณยะประภัศร อรนุช โชคชัยเจริญพร (บรรณาธิการ). 2542. สมุนไพรพื้นบ้าน 3. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร. บริษัทประชาชื่นจำกัด.
4. วันดี กฤษณพันธ์. 2541. สมุนไพรในสวนครัว. กรุงเทพมหานคร. สำนักพิมพ์เมดิคัลมีเดีย.
5. Crowell, P.L., Kennan, W.S., Haag, J.D., Ahmad, S., Vedejs, E., and Gould, M.N. 1992. Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. Carcinogenesis, 13, 1261-1264.
6. Haag, J.D., Lindstrom, M.J., and Gould, M.N. 1992. Limonene-induced regression of mammary carcinomas. Cancer Res., 52, 4021-4026.
7. Zheng, G., Kenney, P.M., and Lam, L.K.T. 1992. Anethofuran, carvone, and limonene: Potential cancer chemopreventive agents from dill weed oil and caraway oil. Planta Medica, 58, 338-341.
8. Cornwell, P.A., Barry, B.W., Bouwstra, J.A., Gooris, G.S. 1996. Modes of Action of Terpene Penetration Enhancers in Human Skin; Differential Scanning Calorimetry, Small-angle X-ray Diffraction and Enhancer Uptake Studies. Int. J. Pharm., 127, 9-26.
9. Okabe, H., Suzuki, E., Saitoh, T., Takayama, K., Nagai, T. 1994. Development of Novel Transdermal System Containing D-Limonene and Ethanol as Absorption Enhancers, J. Controlled. Release, 32, 243-247.
10. Shirakura, O., Ohshima, A., Tsunemi, S., Ishimaru, S., Nagai, T., et al. 1995. Synergistic Effect of D-Limonene and Ethanol on the Transdermal Permeation of NB-818, Drug. Dev. Ind. Pharm., 21, 411-425.
11. Ohara, N., Takayama, K., Machida, Y., Nagai, T. 1994. Combined Effect of D-Limonene and Temperature on the Skin Permeation of Ketoprofen, Int. J. Pharm., 105, 31-38.
12. Koyama, Y., Bando, H., Yamashita, F., Takakura, Y., Hashida, M., et al. 1994. Comparative Analysis of Percutaneous Absorption Enhancement by D-Limonene and Oleic Acid Based on a Skin Diffusion Model, Pharm. Res., 11, 377-383.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

13. Calpena, A.C., Lauroba, J., Suriol, M., Obach, R., Domenech, J. 1994. Effect of D-Limonene on the Transdermal Permeation of Nifedipine and Domperidone, Int. J. Pharm., 103, 179-186.
14. Takayama, K., Nagai, T. 1994. Limonene and Related Compounds as Potential Skin Penetration Promoters, Drug. Dev. Ind. Pharm., 20, 677-684.
15. Liu, X.Y., Takayama, K., Machida, Y., Nagai, T. 1992. Permeability of Verapamil Hydrochloride through Keratinized Buccal Mucosa in Comparison with Abdominal Skin and its Enhancement with D-Limonene and Azone, STP. Pharma. Sci., 2, 247-252.
16. Priborsky, J., Takayama, K., Obata, Y., Priborska, Z., Nagai, T. 1992. Influence of Limonene and Laurocapram on Percutaneous Absorption of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, Arzneim. Forsch., 42, 116-119.
17. Takayama, K., Nagai, T. 1991. Simultaneous Optimization for Several Characteristics Concerning Percutaneous Absorption and Skin Damage of Ketoprofen Hydrogels Containing D-Limonene, Int. J. Pharm., 74, 115-126.
18. Takayama, K., Kikuchi, K., Obata, Y., Okabe, H., Nagai, T., et al. 1991. Terpenes as Percutaneous Absorption Promoters, STP. Pharma Sci., 1, 83-88.
19. Takayama, K., Okabe, H., Obata, Y., Nagai, T. 1990. Formulation Design of Indomethacin Gel Ointment Containing D-Limonene Using Computer Optimization Methodology, Int. J. Pharm., 61, 225-234.
20. Igimi, H., Hisatsuga, T., Nishimura, M. 1976. Use of D-Limonene Preparation as a Dissolving Agent of Gallstones, Am. J. Dige. Dis., 21, 926-939.
21. Aroma wevTM. 1997. Aromatherapy: available from http://www.aromaweb.com/[accessed September 2004]
22. Tisserand, R. and Balace, T. 1995. Essential oil safety: a guide for health care professionals. Churchill Livingstone, Scotland.
23. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2544. เครื่องสำอางสำหรับผิวหนังฉบับปรับปรุง. พิมพ์ครั้งที่ 1. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
24. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2540. อิมัลชันทางเครื่องสำอาง. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

25. Lieberman, H.A., Rieger M.M., Banker, G.S. 1996. Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems, Vol 2, 2nd ed., New York: Marcel Dekker.
26. Hongratanaworakit, T. and Buchbauer, G. 2004. The Effects of Ylang ylang Oil on Humans: Evidence for Aromatherapy. Proceedings in the 23rd International Federal Society Cosmetics Chemists (IFSCC 2004), October 24-27, P188, Orlando, USA
27. Hongratanaworakit, T., Heuberger, E., and Buchbauer, G. 2004. Evaluation of the Effects of East Indian Sandalwood Oil and alpha-Santalol on Humans after Transdermal Absorption. Planta Medica, 70, 3-7.
28. Hongratanaworakit, T. 2005. Effects of Trandermal Essential Oil on Physiological and Behavioral Changes in Healthy Volunteers. Recent Progress in Medicinal Plants, vol.11, In press.
29. Manosroi, A. and Manosroi, J. 2003. Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of aromatic volatile oil from Thai medicinal plants for cosmetic uses, Faculty of pharmacy Chiang Mai University.
30. พนิดา วมัยหสุวรรณ. 2543. เอกสารประกอบการสอนวิชาเภสัชกรรมเรื่องเจล. ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
31. Paulsson M, Edsman K. 2001. Controlled drug release from gels using surfactant aggregates: 1. Effect of lipophilic interactions for a series of uncharged substances. J Pharm Sci., 90, 1216-1225.
32. Macedo, T., Block, L.H., and Shukla, A.J. 1993. Release of tolmetin from carbomer gel systems. Drug Dev Ind Pharm., 19, 887-902.
33. อัจฉรา อุทิศสุวรรณ. 2533. รูปแบบเภสัชภัณฑ์. กรุงเทพมหานคร. ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
34. Bauer, K., Garbe, D., and Surburg, H. 1990. Common fragrance and flavor materials: Preparation, properties and uses. VCH Publishers, Germany.
35. http://www.tradewindsfruit.com/citrus_mandarinquat.jpg
36. http://toptropicals.com/pics/garden/m1/raznozw/grape3152s.jpg

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกผลการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยในอาสาสมัคร

วัน/เดือน/ปี _____ เวลา _____

File_____

ชื่อ _____ชื่อสกุล _____อายุ ____ปี

เพศ ชาย หญิง

ท่านสูบบุหรี่หรือไม่ สูบบุหรี่ ไม่สูบบุหรี่

น้ำหนัก_____ กิโลกรัม ส่วนสูง _____ เซนติเมตร

การศึกษา_____คณะ_____ชั้นปี_____

โรคประจำตัว_____

ขณะนี้ท่านป่วยเป็นโรคใดหรือไม่

มีคือโรค_____

ไม่มี

ขณะนี้ท่านใช้น้ำหอมหรือน้ำมันหอมระเหยชนิดใดหรือไม่

ใช้ คือ_____

ไม่ใช้

หมายเลขผลิตภัณฑ์ =

	วันที่ทดสอบ														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
แขนขวา		↔												↔	
แขนซ้าย		↔												↔	

หมายเหตุ: ให้สารทดสอบวันที่ 1 และ วันที่ 13

↔ คือการปิดผ้าก็อซ และไม่สัมผัสน้ำ

ภาคผนวก ข

ตารางองค์ประกอบและหน้าที่ของสารแต่ละตัวในตำรับโลชันทาผิว

Active ingredient	หน้าที่ของสารในตำรับ
A) Glyceryl monostearate	Emulsifier
Cetyl alcohol	Emulsifier
Stearyl alcohol	Emulsifier
Mineral oil	Auxillary emulsifier
Isopropyl myristate	Emollient
Pitrolatum	Emollient
Jojoba oil	Thickening agent
Stearic acid	Thickening agent
Butylated Hydroxy Toluene	Antioxidant
B) Allantoin	Healing agent
Glycerine	Humectant
Germaben II	Preservative
Butylated Hydroxy Anisole	Antioxidant
Deionized water	Vehicle
น้ำมันหอมระเหย	Active ingredient

ประวัติย่อผู้วิจัย

1. **ประวัติส่วนตัว**

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย): นางสาวฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ

ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ): Tapanee Hongratanaworakit

วัน เดือน ปีเกิด: 23 ตุลาคม 2510 **ตำแหน่งทางวิชาการ:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ 8

หน่วยงานที่สังกัด:

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ถนนรังสิต-องครักษ์ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก

โทรศัพท์: 037-395094-5 ต่อ 1514, 1522, 1545

โทรสาร: 037-395096 โทรศัพท์มือถือ: 09-6958337

Email: tapanee@swu.ac.th

ที่อยู่: เลขที่ 11/13 ซ.สุคนธชาติ1 สุขุมวิท95 บางจาก พระโขนง กรุงเทพ10260

โทรศัพท์: 02-3112512

2. **ประวัติการศึกษา**

คุณวุฒิ	ปี พ.ศ. ที่จบ	ชื่อสถานศึกษา
ดุษฎีบัณฑิตสาขาเภสัชศาสตร์ (Dr.rer.nat)	2543	Institute of Pharmaceutical Chemistry University of Vienna, Austria
มหาบัณฑิตสาขาเภสัชเคมี (ภ.ม.)	2538	คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เภสัชศาสตร์บัณฑิต (ภ.บ.)	2533	คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. **ทุนการศึกษา**

ประเภทของทุน	ระยะเวลา	แหล่งให้ทุนการศึกษา
ทุนศึกษาต่อระดับดุษฎีบัณฑิต สาขาเภสัชเคมี	ตุลาคม 2540 – กันยายน 2543	ทุนโครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ทุนศึกษาต่อระดับมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเคมี	ตุลาคม 2535 – กันยายน 2537	ทุนพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลน ทบวงมหาวิทยาลัย
ทุนผู้ช่วยสอน (Teaching Assistantship)	มีนาคม 2542 – กุมภาพันธ์ 2543	Fragrance Research Institute of Pharmaceutical Chemistry University of Vienna, Austria

4. ประวัติการทำงาน

4.1 PROFESSIONAL EXPERIENCES

ตำแหน่ง	สถานที่	ระยะเวลา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	พฤษภาคม 2547 – ปัจจุบัน
อาจารย์	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	ตุลาคม 2538 – เมษายน 2547
อาจารย์พิเศษ	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ปีการศึกษา 2546
เภสัชกรโรงพยาบาล	แผนกจ่ายยาผู้ป่วยใน/ผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ	เมษายน 2534 – กันยายน 2535
เภสัชกรโรงพยาบาล	แผนกจ่ายยาผู้ป่วยนอก/แผนกผลิตยา โรงพยาบาลมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม	เมษายน 2533 – มีนาคม 2534

4.2 ADMINISTRATIVE POSITIONS

ตำแหน่ง	ระยะเวลา
รองคณบดีฝ่ายบริหาร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	ปัจจุบัน
รองคณบดีฝ่ายพัฒนาระบบการศึกษา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	ธันวาคม 2544 – พฤษภาคม 2547
หัวหน้าสาขาเภสัชเคมีและเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	มิถุนายน 2544 – พฤศจิกายน 2544
Referee of Flavour and Fragrance Journal (FFL) University of Strathclyde, Scotland, United Kingdom	กุมภาพันธ์ 2546 – ปัจจุบัน
Referee of the Proceedings in the 3rd World Congress on Medical and Aromatic Plants for Human Welfare 2003 organized by International Society of Horticultural Science (ISHS)	กุมภาพันธ์ 2546 - ปัจจุบัน
ผู้ช่วยเลขานุการและผู้ประสานงานเครือข่ายวิจัยสาขา Genetics, Bioinformatics และ Bio-active compounds	มีนาคม 2546 – กุมภาพันธ์ 2548
เลขานุการเครือข่ายวิจัยสาขา Genetics, Bioinformatics และ Bio-active compounds	มีนาคม 2548 – ปัจจุบัน

5. การฝึกอบรม

5.1 The Second International University Seminar เรื่อง Plant Bioactive Volatiles from Gene to Chemical Ecology วันที่ 6 –13 ตุลาคม 2545 ณ มหาวิทยาลัย Yamaguchi ประเทศญี่ปุ่น

5.2 การศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งระบบทางเดินอาหารของสารจากธรรมชาติในกลุ่ม Renieramycins วันที่ 21 สิงหาคม – 12 กันยายน 2547 ณ Laboratory of Coloncarcinogenesis, Institute of Cancer Research, Medical School, University of Vienna ประเทศออสเตรีย

5.3 การพัฒนาไบโอเซนเซอร์เพื่อการตรวจวิเคราะห์ระดับยา วันที่ 2 - 17 เมษายน 2548 ณ School of Clinical and Laboratory Sciences, Medical School, University of Newcastle upon Tyne, ประเทศอังกฤษ

5.4 การพัฒนาไบโอเซนเซอร์เพื่อการตรวจวินิจฉัยยาโดยเทคนิค Protein Array, Antibody-antigen interaction และ DNA-DNA hybridization วันที่ 12 - 29 พฤษภาคม 2548 ณ Department of Chemical Engineering Maryland Center for Integrated Nanoscience and Engineering University of Maryland, College Park, ประเทศสหรัฐอเมริกา

6. วิทยากรบรรยาย

6.1 บรรยายเรื่อง ประสิทธิผลและการประเมินผลของน้ำมันหอมระเหยในสุคนธบำบัด โครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง น้ำมันหอมระเหย น้ำหอมและสุคนธบำบัด วันที่ 12-14 ตุลาคม 2548 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.2 บรรยายเรื่อง น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร โครงการสัมมนาวิชาการ เรื่อง การพัฒนาสมุนไพรเพื่อการอุตสาหกรรมอย่างมีมาตรฐาน วันที่ 13-14 กันยายน 2547 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์

7. PROFESSIONAL ASSOCIATION

สมาชิก The Society for Medicinal Plant Research of Europe
(Gesellschaft fuer Arzneipflanzenforschung, GA)

8. ประสบการณ์งานวิจัย โครงการวิจัยที่แล้วเสร็จ และโครงการวิจัยที่กำลังดำเนินการ

งานวิจัยที่เชี่ยวชาญ

8.1 Study of physiological and psychological effects of fragrances, essential oils and bio-active volatile compounds, emphasis on human autonomic nervous system and behavioral effects

8.2 Purification, identification, and analyses of fragrances, essential oils and bio-active volatile compounds

8.3 Preparation of diagnostic kits for clinical monitoring/therapeutic drug monitoring

8.3.1 Preparation of horseradish peroxidase labeled theophylline available for enzyme immunoassay of theophylline. HRP-labeled theophylline used as diagnostic kits for clinical monitoring

8.3.2 Preparation of immunochemical test strip of theophylline

โครงการวิจัยที่แล้วเสร็จ

ผู้ร่วมโครงการวิจัยจัดสร้างเครือข่ายการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรไทย ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2545 (รหัสโครงการวิจัย 03006422)

โครงการวิจัยที่กำลังดำเนินการ

ชุดโครงการพัฒนาพืชสมุนไพรตระกูลส้มเพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2546 – 2550 มีภาระหน้าที่และความรับผิดชอบดังนี้

-หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม

-หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยเรื่อง การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

-หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยเรื่อง การวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกพืชตระกูลส้ม

9. ผลงานวิจัยที่เผยแพร่

PUBLICATIONS

Heuberger E, **Hongratanaworakit T**, and Buchbauer G. East Indian Sandalwood and alpha-Santalol Odor Increase Physiological and Self - Rated Arousal in Humans. *Submitted to European Neuropsychopharmacolgy*, 2005.

Hongratanaworakit T. Effects of Trandermal Essential Oil on Physiological and Behavioral Changes in Healthy Volunteers. *Recent Progress in Medicinal* Plants, vol.11, In press.

Hongratanaworakit T, and Buchbauer G. Human Behavioral and Physiological Reactions to Inhalation of Sweet Orange Oil. *Acta Horticulturae,* 2005, 679: 75-81

Hongratanaworakit T and Buchbauer G. Evaluation of the Harmonizing Effects of Ylang Ylang Oil on Humans after Inhalation. *Planta Medica,* 2004, 70:.632-636

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G. Evaluation of the Effects of East Indian Sandalwood Oil and alpha-Santalol on Humans after Transdermal Absorption. *Planta Medica* 2004; 70:3-7.

Heuberger E, **Hongratanaworakit T**, Boehm C, Weber R, and Buchbauer G. Effects of Chiral Fragrances on Human Autonomic Nervous System Parameters and Self-Evaluation. *Chemical Senses* 2001; 26: 281-295.

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G. Effects of Sandalwood Oil and Santalols on Human: Physical, Mental and Emotional Condition. *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001; vol.6 (1): 34-50.

Hongratanaworakit T. Effects of Fragrances on Autonomic Nervous System Parameters. *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical* Sciences 1999, vol.4 (1): 123-148.

REVIEW ARTICLES (บทความทางวิชาการ)

Hongratanaworakit T. Physiological Effects in Aromatherapy. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 2004; 26(1): 117-125.

Hongratanaworakit T. Horseradish Peroxidase. *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences* 1996; 1: 43-49.

Hongratanaworakit T. Enzyme Immunoassay Kits. *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences* 1996; 1: 50-57.

PROCEEDINGS

Hongratanaworakit T and Buchbauer G. The Effects of Ylang ylang Oil on Humans: Evidence for Aromatherapy. *Proceedings in the 23rd International Federal Society Cosmetics Chemists (IFSCC 2004)*, October 24-27, P188, 2004, Orlando, USA

PODIUM PRESENTATION

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G. Influence of Ylang-ylang Oil on Mental, Emotional and Human Physiological Parameters. *The 33rd International Symposium on Essential Oils (ISEO 2002)*, September 4-7, P37, 2002, Lisbon, Portugal.

POSTER PRESENTATIONS

Hongratanaworakit T, Hongrattanavorakit N, and Chansiri A. Development of health products containing essential oils of *Citrus hystrix The 36th International Symposium on Essential Oils (ISEO 2005)*, September 4-7, 2005, Budapest, Hungary (Accepted).

Hongratanaworakit T, Kanna O, and Mulsri N. Effects of nutrients on the production of essential oil from *Citrus hystrix. The 36th International Symposium on Essential Oils (ISEO 2005)*, September 4-7, 2005, Budapest, Hungary (Accepted).

Hongratanaworakit T, Namwongnau O, Kerdree S, and Buchbauer G. Chemical Composition of the Essential Oils of *Citrus hystrix* (Rutaceae) Leaves, Fruits and Peels of Thailand. *The 34th International Symposium on Essential Oils (ISEO 2003)*, September 7-10, P38, 2003, Wuerzburg, Germany.

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G. A Screening Test for Efficacy of Aroma in Humans. *The 51st Annual Congress of the Society for Medical Plant Research (51st* GA), August 31st – September 4th, P209, 2003, Kiel, Germany.

Hongratanaworakit, T., Heuberger, E., and Buchbauer, G., Effect of Lavender Oil on Humans I: Inhalation, Evidence for Aromatherapy. *The Third National Seminar on Pharmaceutical Biotechnology*, P284, 2001, Chiangmai, Thailand, Manuscript in preparation

Hongratanaworakit, T., Heuberger, E., and Buchbauer, G., Effect of Lavender Oil on Humans II: Percutaneous Administration, Evidence for Aromatherapy. *The Third National Seminar on Pharmaceutical Biotechnology*, P285, 2001, Chiangmai, Thailand, Manuscript in preparation

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G, Effect of Sandalwood Oil and α-Santalol on Humans I: Inhalation. *The 31st International Symposium on Essential Oils (ISEO 2000):* A37, 2000, Hamburg, Germany

Hongratanaworakit T, Heuberger E, and Buchbauer G, Effect of Sandalwood Oil and α-Santalol on Humans II: Percutaneous Administration. *The 31st International Symposium on Essential Oils (ISEO 2000):* A39, 2000, Hamburg, Germany

การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์สุขภาพจากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม

Formulation of health products containing volatile oil from Citrus species

ผู้วิจัยและที่อยู่เพื่อการติดต่อ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (องครักษ์)

เลขที่ 63 หมู่ 7 ถนนรังสิต-องครักษ์ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120

โทรศัพท์ 037-395094-5 ต่อ 1514 โทรสาร 037-395096

Email: tapanee@swu.ac.th

พิมพ์ที่ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (องครักษ์)

กันยายน 2548