



การพัฒนาหน้ากากหน้าจากสารสกัดจากผลมะนาว

DEVELOPMENT OF FACIAL MASK FROM BY PRODUCT OF LIME FRUIT EXTRACT



ภูษิษา รัตนศีล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2564

การพัฒนาแม่แบบหน้าจากรสจัดกักกผลมะนาว



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเกษตรศาสตร์  
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF FACIAL MASK FROM BY PRODUCT OF LIME FRUIT EXTRACT



PHUSHISA RATTANASIN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of MASTER OF SCIENCE  
(Pharmaceutical Product Development)  
Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2021

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญาานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนามาสก์หน้าจากสารสกัดกากผลมะนาว

ของ

ภูษิษา รัตนศีล

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญาานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล)

ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชูดา จิตตสุโก)

ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภิมน ตันวิเชียร)

กรรมการ

(อาจารย์ ดร.วิภาพร เสรีเด่นชัย)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาหน้ากากหน้าจากรสชาติจากผลมะนาว
ผู้วิจัย	ภูษิษา รัตนศีล
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2564
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ชูวิสิษฐกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภิมน ตันวิเชียร

ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมะนาวจะเกิดกากผลที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิต ที่สามารถนำมาสกัดเพื่อใช้ประโยชน์ในการเตรียมมาสก์เพื่อบำรุงผิวหน้าได้ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาหน้ากากหน้าชนิดลอกออกผสมสารสกัดจากกากผลมะนาว ใช้ polyvinyl alcohol (PVA) เป็นพอลิเมอร์หลัก และ Sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC) เป็นพอลิเมอร์ผสม ประเมิน drying time ศึกษาความหนืดสมบัติเชิงกล การซึมผ่านของสารสกัด และเสถียรภาพของมาสก์ ผลการทดสอบสารสกัดจากผลมะนาวที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย ความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะนาว 1% w/w มีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์ HaCaT ซึ่งเป็นเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ผลจากการพัฒนามาสก์ พบว่าความเข้มข้นของ PVA ที่เพิ่มขึ้นมีผลให้มาสก์แห้งช้าลง ความหนืดเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้หลังการแห้งของมาสก์จะมีความแข็งเพิ่มขึ้น แต่ยังยืดหยุ่นได้ การผสม NaCMC กับ PVA ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น มาสก์แห้งช้ากว่า แต่ฟิล์มที่ได้หลังมาสก์แห้งมีความอ่อนนุ่มกว่าสูตร PVA เดี่ยว และมีความยืดหยุ่นน้อยลงเล็กน้อย การเติมสารสกัดจากผลมะนาวในมาสก์ ทำให้ความหนืดของมาสก์ลดลง มาสก์แห้งช้าลง และฟิล์มหลังมาสก์แห้งอ่อนนุ่มขึ้น โดยความหนืดที่มากของตำรับมาสก์ PVA ผสม NaCMC ทำให้สารสกัดปลดปล่อยได้ช้ากว่าสูตร PVA เดี่ยว และสูตร PVA เดี่ยวที่ความเข้มข้นมากขึ้นปลดปล่อยสารสกัดได้มากกว่า จากการเกิด cross linking ของ PVA กับ cellulose acetate ทำให้เกิดการปลดปล่อยผ่านเมมเบรนดีขึ้น แม้ความหนืดของตำรับมาสก์และสมบัติเชิงกลของฟิล์มหลังมาสก์แห้งจะเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่การผสม PVA กับ NaCMC ทำให้ระยะเวลาแห้งมีความเสถียรภาพมากขึ้น ดังนั้นตำรับมาสก์ชนิดลอกออกที่ผสมสารสกัดจากผลมะนาวที่เตรียมโดย PVA ผสม NaCMC มีความเป็นไปได้สูงที่จะพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ดีต่อไป

คำสำคัญ : PVA

Title	DEVELOPMENT OF FACIAL MASK FROM BY PRODUCT OF LIME FRUIT EXTRACT
Author	PHUSHISA RATTANASIN
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2021
Thesis Advisor	Duangratana Shuwisitkul
Co Advisor	Sujimon Tunvichien

The food industry produces lemonade generated from lime peel waste. Lime peel waste can be extracted and used as an active compound in a peel-off mask. Therefore, this study aims to develop a facial peel-off mask containing lemon peel extract. The peel-off masks were prepared using polyvinyl alcohol (PVA) as a main carrier and sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC) as a polymer blend. The drying time, viscosity, mechanical properties, extract release and physical stability were studied. The freeze-drying of lemon peel extract showed better antioxidant activity than a spray-drying extract. The concentration of 1% w/w lemon peel extract had a low toxicity to HaCaT cells, which were human epidermal cells. The results of mask development showed that the increase in PVA concentrations resulted in a slower drying time for masks and an increase in viscosity. The films obtained after drying the masks were slightly harder, but they were still be flexible. The blends between NaCMC and PVA increased the viscosity of masks, then the drying time of mask was slower. The films after drying were softer and the flexibility was unchanged. The addition of 1% w/w lemon peel extract to the mask decreased viscosity. The drying time was slower and after drying, the films were softer. The high viscosity of the blending polymers between PVA and NaCMC resulted in a slower release of the extract than the single PVA formulation. The single PVA formulation at higher concentrations showed slightly more extract release due to the cross-linking of PVA with cellulose acetate. It helped improve the release membrane permeability. Although the viscosity of the mask formulation and the mechanical properties of the film were slightly changed after storage, the masks formed a blend between PVA and NaCMC resulted in a more stable drying time. In conclusion, the peel-off mask containing lime peel extract was prepared by the blend between PVA and NaCMC and developed with good properties and more stable in comparison to using PVA alone. It had a high tendency for development as a commercial product in the future.

Keyword : PVA

## กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดีเนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจากอาจารย์ดร. ดวงรัตน์ ชูวิสิษฐกุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.ศุภจินน ตันวิเชียร ที่ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษาพร้อม ซึ่งทุกท่านได้สละเวลา ให้คำแนะนำ อบรม สั่งสอน และให้ความช่วยเหลือ รวมถึงดูแลเอาใจใส่การดำเนินการวิจัยในทุกขั้นตอนเป็นอย่างดี

นับตั้งแต่เริ่มดำเนินการจนสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์เป็นปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ ที่นี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดร. ชูดา จิตตสุโก ที่ให้ความกรุณาเป็นผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัยในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ให้คำแนะนำและ

ข้อเสนอแนะ เพื่อให้ปริญญานิพนธ์มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์สาขาเทคโนโลยีสารสนเทศ และคณาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการเกษตรขั้นต้น คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณณรงค์ มุลศรี คุณสมชาย หลวงสนาม และพี่ เพื่อน ที่เรียนร่วมหลักสูตรทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจ และช่วยเหลือเกี่ยวกับงานห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ งานเอกสาร เทคโนโลยีสารสนเทศที่ใช้ในงานวิจัยด้วยดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาและให้คำแนะนำ รวมทั้งเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

ภูษิษา รัตนศีล

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญรูปภาพ .....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง .....	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย .....	2
ขอบเขตการวิจัย .....	2
ตัวแปรที่ศึกษา .....	3
กรอบแนวคิดการวิจัย .....	3
สมมุติฐานในการวิจัย .....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
1. ประเภทของมาสก์หน้า .....	5
1.1 แบ่งตามส่วนประกอบของมาสก์.....	5
1.1.1 ประเภทไขมัน (wax-base system) .....	5
1.1.2 ประเภทยาง (rubber-base system) .....	6
1.1.3 ประเภทฟิล์มสังเคราะห์ (vinyl-base system) .....	6



1.1.4 ประเภทฟิล์มละลายน้ำ (hydroloid-base system) .....	6
1.1.5 ประเภทดิน (earth-base system) .....	6
2. ส่วนประกอบของมาสก์ .....	6
3. การทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์ .....	7
3.1 Static test .....	7
3.2 Transient test .....	8
3.3 Impact test .....	8
4. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องของสารสกัด .....	9
5. สารสำคัญที่พบ .....	9
6. เทคนิคการทำแห้ง .....	11
6.1 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง .....	11
6.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย .....	11
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	12
7.1 การต้านอนุมูลอิสระ .....	12
7.2 Freeze drying และ spray drying .....	13
7.3 Mask formulation .....	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย .....	15
อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย .....	15
สารเคมีที่ใช้ .....	16
เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้ในการศึกษา .....	16
วิธีดำเนินการวิจัย .....	17
1. การสกัดสารสกัดจากผลมะนาว (บริษัท เชียงใหม่ไปโอเวก้า จำกัด, Thailand) .....	17
2. การทำแห้ง (drying) สารสกัดจากผลมะนาว .....	17

2.1 Freeze drying .....	17
2.2 Spray drying .....	17
3. การหาปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดกากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีด้วย HPLC <sup>(24)</sup> .....	18
4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีด้วย DPPH <sup>(25, 26)</sup> .....	18
5. การเตรียมตำรับมาสก์ .....	19
6. การศึกษาความหนืดและพฤติกรรมการไหล .....	20
7. การประเมิน drying time .....	21
8. การประเมินสมบัติเชิงกล (Mechanical properties) ของมาสก์ .....	21
9. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) .....	21
10. การ sub culture .....	22
11. การนับเซลล์ด้วย Hemocytometer .....	22
12. การทดสอบความพิษต่อเซลล์ HaCaT ด้วยวิธี MTS assay .....	23
12. การศึกษาการซึมผ่านของสารสกัด .....	24
13. การหาปริมาณสารสกัดกากผลมะนาวที่ปลดปล่อยด้วยวิธี HPLC <sup>(24)</sup> .....	24
14. การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพโดยวิธี heating-cooling cycle .....	25
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย .....	26
4.1 การทดสอบสารสกัดกากผลมะนาว .....	26
4.2 การพัฒนามาสก์จากสารสกัดกากผลมะนาว .....	28
4.2.1 สมบัติของมาสก์.....	28
4.2.2 เสถียรภาพของมาสก์.....	37
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	42
สรุปผลการวิจัย.....	42

ข้อเสนอแนะ .....	42
บรรณานุกรม .....	43
ภาคผนวก.....	47
ประวัติผู้เขียน.....	50



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แสดงสภาวะในการทำแห้งเยือกแข็ง .....	17
ตาราง 2 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC .....	18
ตาราง 3 แสดงส่วนประกอบมาสก์หน้าผสมสารสกัดกากผลมะนาว .....	20
ตาราง 4 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC .....	24
ตาราง 5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากผลมะนาวจากวิธีการทำแห้ง ทั้ง 2 วิธี .....	27
ตาราง 6 แสดงความหนืดของเบสมาสก์ .....	30
ตาราง 7 แสดงความหนืดของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาว .....	30
ตาราง 8 แสดงผล drying time ของมาสก์ .....	31
ตาราง 9 แสดงสมบัติเชิงกลของเบสมาสก์ .....	33
ตาราง 10 แสดงสมบัติเชิงกลของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาว .....	35
ตาราง 11 แสดงผลการศึกษาความหนืดและพฤติกรรมการไหลของมาสก์ที่ 2 และ 4 cycles ....	39
ตาราง 12 แสดงสมบัติเชิงกลของมาสก์ที่ 2 และ 4 cycles .....	40
ตาราง 13 แสดงผลการประเมิน drying time ของมาสก์ที่ 2 และ 4 cycles .....	41

## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างสารในน้ำจากผลมะนาว .....	9
ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะภาพในของ hemocytometer ที่ใช้ในการนับจำนวนเซลล์.....	23
ภาพประกอบ 3 แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ด้วยวิธี MTS assay .....	28
ภาพประกอบ 4 แสดงผลการศึกษาการปลดปล่อยของสารสกัด.....	36
ภาพประกอบ 5 แสดงการ cross-linking ของ Cellulose acetate กับ PVA <sup>(42)</sup> .....	37
ภาพประกอบ 6 แสดง standard curve ของกรดซิตริก .....	48
ภาพประกอบ 7 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดจากผลมะนาว (a) = สารสกัดจากวิธีทำแห้ง แบบเยือกแข็ง และ (b) = สารสกัดจากวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	49
ภาพประกอบ 8 แสดง standard curve ของสารสกัดจากผลมะนาว.....	49

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ภูมิหลัง

มะนาวเป็นพืชเศรษฐกิจของไทย โดยจากสถิติรายงานผลผลิตของผลมะนาวที่เก็บเกี่ยวได้จากศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร ซึ่งในปี 2558 มีผลผลิตรวมทั้งประเทศเท่ากับ 442,543 ตัน ในปี 2559 มีผลผลิตรวมทั้งประเทศเท่ากับ 482,548 ตัน และในปี 2560 มีผลผลิตรวมทั้งประเทศเท่ากับ 641,743 ตัน แสดงให้เห็นว่าผลผลิตมะนาวมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีจึงอาจก่อให้เกิดผลมะนาวล้นตลาด ทำให้เกิดอุตสาหกรรมการแปรรูปจากผลมะนาวมากมายทั้งนำมะนาวบรรจุขวดใช้เป็นเครื่องปรุงรส มะนาวผง เครื่องดื่มมะนาว เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำมะนาว เป็นส่วนประกอบในสารซักล้างทำความสะอาดต่างๆ อีกทั้งยังมีการใช้น้ำมะนาวเป็นส่วนประกอบในตำรับยาสมุนไพร มีสรรพคุณแก้ไอ ขับเสมหะ โดยโรงงานผลิตส่วนมากนำเพียงน้ำคั้นจากผลมาใช้ ซึ่งของเสียที่เหลือจากกระบวนการผลิตดังกล่าว ได้แก่ เปลือกมะนาว เมื่อกั้นน้ำจากส่วนที่เหลือใช้ทางอุตสาหกรรมข้างต้น ยังพบสารสำคัญเหลืออยู่ทำให้สามารถนำมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในการผลิตเครื่องสำอางได้ต่อไป

มะนาวเป็นพืชตระกูลส้มอยู่ในวงศ์ Rutaceae น้ำคั้นจากผลใช้ในการประกอบอาหาร มีสารสำคัญจากน้ำคั้น เช่น กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ โดยกรดซิตริกมีฤทธิ์ในการผลัดเซลล์ผิว ช่วยรักษาโรคหนังเกล็ดปลา (ichthyosis) แต่เนื่องจากสารสกัดจากผลมะนาวนั้นมีฤทธิ์เป็นกรด จึงอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหากใช้ทาบนผิวเป็นระยะเวลาสั้น จึงเหมาะสำหรับนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทมาสก์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มีเวลาที่จะอยู่บนผิวเพียงช่วงสั้น และในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ประเภทมาสก์หน้ากำลังเป็นที่นิยมไม่ว่าจะเป็นมาสก์ชนิดแผ่น มาสก์โคลน หรือมาสก์ชนิดลอกออก ด้วยเหตุผลดังกล่าวสารสกัดจากผลมะนาวที่ยังมีกรดซิตริกหลงเหลืออยู่จึงเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นมาสก์เพื่อช่วยผลัดเซลล์ผิว

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งหมายที่จะพัฒนามาสก์หน้าที่มีส่วนผสมสารสกัดจากผลมะนาวช่วยผลัดเซลล์ผิวและเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวหนัง นอกจากนี้การพัฒนามาสก์จากสารสกัดจากผลมะนาวที่เป็นกากเหลือใช้จากอุตสาหกรรม ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้แก่เปลือกมะนาว และอาจสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ออกสู่ตลาดต่อไป

## ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดซिटริกในสารสกัดกากผลมะนาวที่ทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยกับวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดกากผลมะนาวให้มีสมบัติและเสถียรภาพทางกายภาพที่ดี

## ความสำคัญของการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการทำแห้งสารสกัดด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทมาสก์หน้า หาวิธีการทำแห้งสารสกัดที่ดีที่สุดจากวิธีการทำแห้งทั้งสองวิธี พัฒนาผลิตภัณฑ์มาสก์หน้าที่มีส่วนผสมสารสกัดกากผลมะนาว เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในตำรับมาสก์หน้า และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม มีเสถียรภาพ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกมะนาว เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ เป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคในการใช้เครื่องสำอางจัดเซลล์ผิวและให้ความชุ่มชื้นกับผิวหนัง

## ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. ศึกษาวิธีการทำแห้งสารสกัดกากผลมะนาวด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) และการทำแห้งแบบอบแห้งพ่นฝอย (spray dry) เปรียบเทียบหาปริมาณกรดซิทริกในสารสกัดกากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธี ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธี ด้วย DPPH เมื่อได้ผลการศึกษานำสารสกัดเปลือกมะนาวจากวิธีที่ได้กรดซิทริกมากกว่า และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่ามาทดสอบความเป็นพิษในเซลล์เพาะเลี้ยงเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่จะนำไปผสมในมาสก์หน้า
2. พัฒนารับมาสก์หน้าโดยพอลิเมอร์ที่ใช้คือ polyvinyl alcohol (PVA) กำหนดความเข้มข้นที่ใช้เป็น 9-12 เปอร์เซ็นต์ ใช้ PVA เดียวและผสม sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC) ศึกษาความคงสภาพทางกายภาพ ได้แก่ การประเมินเวลาในการทำแห้งของมาสก์ การวัดความหนืด สมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์ และศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ

### ตัวแปรที่ศึกษา

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 การศึกษาเทคนิคการทำแห้งสารสกัด

ตัวแปรต้น : การทำแห้งแบบเยือกแข็ง

การทำแห้งแบบพ่นฝอย

ตัวแปรตาม : ปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดกากผลมะนาว

ส่วนที่ 2 การพัฒนาตำรับมาสก์หน้า

ตัวแปรต้น : อัตราส่วนของ Polyvinyl alcohol (PVA) เดี่ยวในตำรับ

อัตราส่วนของ Polyvinyl alcohol (PVA) ผสม Sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC)

ตัวแปรตาม : เวลาในการทำแห้งมาสก์หน้า

ความหนืดของมาสก์หน้า

สมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์

### กรอบแนวคิดการวิจัย

งานวิจัยพัฒนาตำรับมาสก์หน้าผสมสารสกัดกากผลมะนาวแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 การศึกษาเทคนิคการทำแห้งสารสกัด

1. การทำแห้งแบบเยือกแข็ง  
2. การทำแห้งแบบพ่นฝอย



1. ปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดกากผลมะนาว

ส่วนที่ 2 การพัฒนาตำรับมาสก์หน้า

1. อัตราส่วนของ PVA เดี่ยวในตำรับ  
2. อัตราส่วนของ PVA ผสม NaCMC



1. เวลาในการทำแห้งมาสก์หน้า  
2. ความหนืดของมาสก์หน้า  
3. สมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์

### สมมุติฐานในการวิจัย

1. การทำแห้งสารสกัดกากผลมะนาวด้วยวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็งมีปริมาณกรดซิตริกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าวิธีอบแห้งแบบพ่นฝอย



2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารก่อเจลงในตำรับผลิตภัณฑ์หน้ากากอนามัยผสมสารสกัดจากผลมะนาวมีผลต่อสมบัติและเสถียรภาพของหน้ากาก

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง หน้ากากอนามัยจากสารสกัดจากผลมะนาวที่มีเสถียรภาพทางกายภาพ มีฤทธิ์ช่วยผลัดเซลล์ผิวและเพิ่มความชุ่มชื้น
2. เพิ่มมูลค่าให้กับกากผลมะนาวซึ่งเป็นของเหลือใช้จากอุตสาหกรรม



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยเพื่อการพัฒนาตำรับมาสก์จากสารสกัดจากผลมะนาวครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. ประเภทของมาสก์หน้า
2. ส่วนประกอบของมาสก์
3. การทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์
4. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องของสารสกัด
5. สารสำคัญที่พบ
6. เทคนิคการทำแห้ง
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. ประเภทของมาสก์หน้า

เครื่องสำอางที่ใช้ลอกหรือพอกหน้า (Face Packs and Masks) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางใช้ลอกหรือพอกหน้า สามารถเรียกได้หลากหลายชื่อทั้ง face packs, beauty mask และ absorptive clays ซึ่งเครื่องสำอางชนิดนี้นั้นมีจุดมุ่งหมายในการดูดซับสิ่งสกปรก ไขมันบนใบหน้า เป็นหนึ่งในวิธีทำความสะอาดใบหน้าที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่ง นอกจากนี้ยังใช้ในการบำรุงผิว เพิ่มความชุ่มชื้น โดยสามารถแบ่งผลิตภัณฑ์ได้ตามลักษณะการใช้งานของมาสก์เป็น 3 แบบ ได้แก่ แบบพอกแล้วล้างออก แบบพอกแล้วลอกออก (Peel-off mask) แบบแผ่น (Sheet mask) ซึ่งสมบัติโดยทั่วไปของมาสก์แบบพอกแล้วลอกออกนั้นหลังจากเตรียม มาสก์ต้องมีเนื้อเนียน ไม่ระคายเคืองผิว และไม่มีการลอกลอกออกหลังจากเตรียม มาสก์ต้องมีเนื้อเนียน ไม่ระคายเคืองผิว และไม่มีการลอกลอกออกหลังจากเตรียม มาสก์ควรแห้งเร็วหลังจากที่ทาบนใบหน้า สามารถลอกออกได้ง่าย เครื่องสำอางแบบพอกหน้ายังแบ่งได้เป็นอีก 2 แบบ<sup>(1)</sup>

#### 1.1 แบ่งตามส่วนประกอบของมาสก์

##### 1.1.1 ประเภทไขมัน (wax-base system)

มาสก์ประเภทนี้จะมีลักษณะแข็งเมื่ออยู่ในอุณหภูมิห้อง ก่อนใช้งานจำเป็นต้องหลอมก่อนแล้วจึงทาบนใบหน้า ดูดซับสิ่งสกปรก ทำความสะอาดใบหน้า โดยความร้อนจากการหลอมมาสก์ทำให้รูขุมขนเกิดการขยายตัวและทำให้เลือดไหลเวียนเพิ่มขึ้น มักจะมีส่วนประกอบของ paraffin wax, petrolatum jelly และ stearyl alcohol เป็นต้น<sup>(1)</sup>

### 1.1.2 ประเภทยาง (rubber-base system)

มาสก์ประเภทนี้จะกลายเป็นฟิล์มกันน้ำได้หลังจากทาลงบนใบหน้า มีความยืดหยุ่น มาสก์จะทำให้ผิวหนังมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้การไหลเลือดดีขึ้น มีส่วนประกอบของ rubber latex<sup>(1)</sup>

### 1.1.3 ประเภทฟิล์มสังเคราะห์ (vinyl-base system)

โดยส่วนมากนั้นมาสก์ประเภทนี้จะใช้ polyvinyl alcohol หรือ vinyl acetate ในการก่อฟิล์มและมักจะเติมสารจำพวกอนินทรีย์ ซึ่งจุดมุ่งหมายเพื่อให้มาสก์ดูดซับสิ่งสกปรกต่างๆ ทั้งที่ละลายในน้ำและละลายในไขมัน<sup>(1)</sup>

### 1.1.4 ประเภทฟิล์มละลายน้ำ (hydroloid-base system)

มาสก์ประเภทนี้นั้นมักจะอยู่ในลักษณะของสารละลายที่มีความหนืดสูง เพื่อให้ทำให้เกิดการดูดซับน้ำบนใบหน้ากลายเป็นฟิล์มที่มีความยืดหยุ่น ฟิล์มหดรตัว เป็นที่นิยมมากกว่ามาสก์ประเภทดิน เพราะสามารถใช้งานได้ง่ายแห้งเร็ว แต่ประสิทธิภาพในการทำความสะอาดน้อยกว่า มักจะประกอบด้วย gum ชนิดต่างๆ ทั้ง gum tragacacth, gelatin acacia และ sugar gum เป็นต้น อาจเติมสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว แอลกอฮอล์เพื่อเพิ่มความเร็วในการแห้งของฟิล์ม<sup>(1)</sup>

### 1.1.5 ประเภทดิน (earth-base system)

มาสก์ประเภทนี้ยังมีชื่อที่เรียกได้หลากหลาย ได้แก่ mud mask, paste mask และ clay facial mask เป็นต้น ทั่วไปมักจะมีปริมาณของแข็งอยู่มาก หลากหลายรูปแบบทั้งผงอัดแข็งหรือผสมน้ำพร้อมใช้งาน โดยมาสก์ประเภทนี้จะมีส่วนประกอบของ clay ที่นิยมกันมากคือ bentonite และ kaolin<sup>(1)</sup>

## 2. ส่วนประกอบของมาสก์

โดยทั่วไปมาสก์ชนิดลอกออกมักมีส่วนประกอบดังนี้

1. พอลิเมอร์ที่ใช้ในการก่อฟิล์ม ทำหน้าที่ก่อฟิล์ม
2. Co-Solvent ทำหน้าที่เป็นตัวช่วยทำละลาย
3. Humectant ทำหน้าที่เพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่มาสก์ รักษาความยืดหยุ่นของแผ่นน
- มาสก์
4. สารเพิ่มความหนืด ทำหน้าที่เพิ่มความหนืดให้แก่มาสก์ ช่วยให้เกลี่ยมาสก์ได้ง่าย
- ขึ้น
5. สารออกฤทธิ์ ในที่นี้อาจหมายถึงสารสกัด เป็นสารออกฤทธิ์ในมาสก์หน้า

### ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นส่วนประกอบของมาสก์

พอลิเมอร์ที่นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในมาสก์หน้าชนิดลอกออก ได้แก่

**Acacia** ได้จากธรรมชาติ มีน้ำหนักโมเลกุล 240,000 – 580,000 มักนำมาใช้กับ tragacanth มีหน้าที่เป็น emulsifying agent, stabilizing agent, viscosity-increasing agent, suspending agent และ tablet binder

**Chitin หรือ Chitosan** มีในเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู ปลาหมึก ส่วนไคโตซานนั้นเตรียมได้จากไคติน เนื่องจากไคตินละลายน้ำได้ยากจึงนำไปใช้ไม่สะดวก น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 10,000 – 1,000,000 ไคโตซานมักจะถูกนำไปใช้สร้างเจล มีหน้าที่ coating agent, disintegrant, film-forming agent, mucoadhesive, tablet binder และ viscosity-increasing agent

**Polymethacrylates** ถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก methacrylic acid, dimethylaminoethyl methacrylates และ methacrylic acid esters มีทั้งชนิดที่การละลายขึ้นอยู่กับการละลายและไม่ละลายน้ำ โดยชนิดที่ละลายในน้ำมักจะใช้ในการก่อเจล มีหน้าที่ film former, tablet binder, tablet diluents และ drug release modifier

**Pectin** พบได้ในพืช มักใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด ก่อเจล เพิ่มความคงตัว มีหน้าที่ adsorbent, emulsifying agent, gelling agent, thickening agent, stabilizing agent

**Tragacanth** ใช้ก่อกอิมัลชัน ช่วยแขวนตะกอนผลิตภัณฑ์จำพวก ครีม เจล อิมัลชัน มีหน้าที่เป็น suspending agent และ viscosity-increasing agent

**Polyvinyl alcohol (PVA)** ได้จากการสังเคราะห์ เป็นสารก่อกอฟิล์ม เพิ่มความหนืดและก่อกอิมัลชัน เป็นพิษต่ำ ยืดหยุ่นสูง นิยมใช้ในยาหยอดตา มีหน้าที่ Coating agent, lubricant, stabilizing agent, viscosity-increasing agent

### 3. การทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นมาสก์

#### 3.1 Static test

คือการทดสอบอัตราการเปลี่ยนแปลงที่ตามเวลาที่ทำการทดสอบ โดยทดสอบการดึง (tensile) กดอัด (compression) หรือการเฉือน (shear) ซึ่งการทดสอบที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ การทดสอบความต้านทานแรงดึง (Tensile test) โดยทำการยึดที่ปลายแผ่นพอลิเมอร์ที่ใช้ทดสอบทั้ง 2 ข้าง แล้วดึงออกด้วยอัตราคงที่บันทึกการเปลี่ยนแปลงของแรงและระยะยืดตรงกลางของพอลิเมอร์ โดยนำแรงและระยะทางที่ได้ มาคำนวณหาค่า tensile parameters ดังนี้<sup>(2)</sup>

### ค่าการยืดตัว (Elongation)

ในการคำนวณค่าความเครียด (strain) จะใช้ค่าระยะยืด ( $\Delta L$ ) ต่อความยาวเริ่มต้น ( $L_0$ ) ซึ่งค่า  $\Delta L$  ควรวัดโดยใช้ extensometer จะแม่นยำกว่า อย่างไรก็ตามกรณีที่เป็นพลาสติกแข็ง อาจจะไม่ยอมให้ใช้ระยะเดินทางของมือจับ (grip) เป็น  $\Delta L$  แทนได้ เนื่องจากพลาสติกแข็ง มักจะยืดตัวได้น้อยและฉีกขาดก่อนจะเกิดการยืด ส่วนค่าความยาวเริ่มต้นต้องดูตามมาตรฐานของ standard method มีระยะ gauge ไม่เท่ากัน<sup>(2)</sup>

### ค่าการทนแรงดึง (Tensile stain)

อาจจะรายงานเป็นค่า tensile strength โดยปกติหมายถึงค่า maximum tensile stress นอกจากนั้นบางกรณีอาจจะรายงานผลค่า tensile strength ที่จุดใด ๆ ก็ได้ จะได้ tensile strength at yield หรือที่จุดขาดจะได้ tensile strength break ส่วนคำว่า ultimate tensile stress (หรือ strength) หมายถึงค่า strength หรือ stress ที่จุดสูงสุดของกราฟ ซึ่งอาจจะเป็นที่ break point หรือ yield point ก็ได้<sup>(2)</sup>

### ค่าโมดูลัส (Tensile modulus)

ได้จากการคิดคำนวณจากกราฟในช่วง linear หรือช่วงที่ยังมีพฤติกรรมเป็นแบบฮิสเทรีติก (ช่วงการยืดตัวหรือ strain น้อย ๆ) บางครั้งอาจเรียกว่า Young's modulus หรือ Initial modulus นอกจากนั้นยังมีค่า โมดูลัสอีกลักษณะหนึ่งคือ secant modulus ซึ่งได้จากอัตราส่วนความเค้นต่อความเครียดที่วัดจากช่วงต่างๆ ในเส้นกราฟ<sup>(2)</sup>

### ค่าความเหนียว (Tensile stress)

เป็นการทดสอบการรับแรงดึง (tensile toughness) สามารถหาได้จากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างแรง (N) กับระยะทางการยืดตัว (m) ซึ่งสัมพันธ์กับค่า stress และ strain อย่างไรก็ตามการที่ตัวเลขเท่ากันอาจจะได้จากวัสดุที่มีพฤติกรรมต่างกันก็ได้ เช่น วัสดุแข็งเปราะกับยางที่นิ่มยืดตัวสูงแต่ไม่แข็งแรง<sup>(2)</sup>

## 3.2 Transient test

คือการทดสอบที่ขึ้นอยู่กับเวลา เช่น การทดสอบแบบ stress relaxation และการทดสอบแบบ creep test โดยการทดสอบแบบ creep test ถือเป็น การทดสอบที่ใกล้เคียงกับสภาวะการใช้งานจริงของพอลิเมอร์<sup>(2)</sup>

## 3.3 Impact test

เป็นการทดสอบความเหนียว หรือการทนแรงกระแทกของพอลิเมอร์ ซึ่งอาจจะได้ 2 รูปแบบ คือ pendulum test และ falling weight test<sup>(2)</sup>

#### 4. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องของสารสกัด

มะนาว ชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีชื่อสามัญว่า Acid Lime, Key lime (เม็กซิกัน), Kagzinimbu (ฮินดี) มีผลลักษณะเป็นรูปวงรีมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 เซนติเมตร มีสีเขียวอมเหลือง เนื้อมีสีเหลือง เมล็ดมีสีขาว ปลายแหลมยาว 1 เซนติเมตร<sup>(3)</sup>

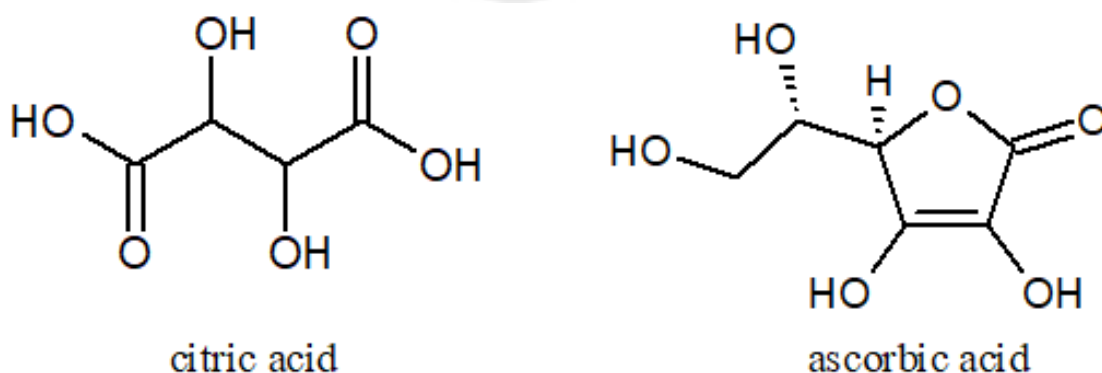
##### สรรพคุณ:

คือ แก้ไอ<sup>(4)</sup> แก้เจ็บคอ ขับลมในท้อง<sup>(5)</sup> แก้ท้องอืด จุกเสียด ป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน<sup>(6)</sup> ในทางแผนไทย แก้ไข้ในวสันตฤดู แก่น้ำลายพิการ ชัดเบา แก้ซั๊ก แก้ฟกช้ำบวม แก้เส้นพิการ แก้ลมจับหัวใจ โลหิต ลมกำเริบ แก้ตับหย่อนแลตับทรุด ล้อมตับไว้มิให้ทรุด แก้โรคริดสีดวงแห้ง<sup>(7)</sup> กระตุ้นน้ำลาย แก้กระหายน้ำและช่วยเจริญอาหาร<sup>(8)</sup> ลดอาการคลื่นไส้โดยผสมกับน้ำมะพร้าวอ่อน<sup>(9)</sup> รักษาสิ่ว ลดการอักเสบและระงับการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ลดไขมันบนใบหน้า<sup>(10)</sup> เป็นส่วนประกอบในตำรับยาแก้คัน<sup>(11)</sup> เป็นส่วนประกอบในตำรับยารักษาโรคริดสีดวงจมูก<sup>(12)</sup>

#### 5. สารสำคัญที่พบ

น้ำจากผลมะนาวมีกรดซิตริก, กรดมัลลิก, กรดแอสคอร์บิก, ผิวมะนาวมีน้ำมันหอมระเหยที่มาจากกรกลิ้นผิวผล ร้อยละ 0.3-0.4 ประกอบด้วย d-limonene (42-64%), alpha-berpineol (6.81%), bergamotene ผสมกับ terpinen-4-ol (3%), alpha-pinene (1.69%), geraniol (0.31%), linalool, terpineol, camphene, bergapten (furanocoumarin)<sup>(13)</sup>

เมล็ดมะนาว พบองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ limonin, limonexic acid, isolimonexic acid,  $\beta$ -sitosterol glucoside, limonin glucoside<sup>(13)</sup>



ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างสารในน้ำจากผลมะนาว

### Alpha hydroxy acid (AHA)

Alpha hydroxy acid (AHA) คือ สารประกอบที่มีฤทธิ์เป็นกรด สกัดได้จากผลไม้เช่น กรดซิตริกจากพืชตระกูลส้ม กรดมัลลิกจากแอปเปิ้ล กรดไกลโคลิกจากอ้อย นิยมใช้รักษาผิว ฝ้า จุดด่างดำ ผลัดเซลล์ผิวด้วยการทำให้เซลล์ที่เกาะกันแน่นแยกออกจากกัน และหลุดออก กระตุ้นให้เซลล์ใหม่เจริญแทนที่ ซ่อมแซมและเสริมสร้างเนื้อเยื่อในชั้นหนังแท้ ทำให้ผิวหนังดูเรียบเนียน และขาวสดใสมากขึ้นถ้า AHA เข้มข้นมากยิ่งขึ้นได้ผลมาก แต่อาจก่อให้เกิดอาการระคายเคืองผิวตามมา<sup>(14)</sup>

#### ผลข้างเคียง

AHA ที่มีความเข้มข้นสูง จะมีสมบัติที่ดีในการขจัดเซลล์ผิวหลุดออกเร็วขึ้น เซลล์ผิวใหม่เจริญขึ้นแทนที่ ทำให้ผิวเรียบเนียน แต่ก็อาจก่อให้เกิดการระคายเคือง ผื่นคัน และการไวต่อแสงมากขึ้น อาจทำให้เกิดรอยดำ เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งผิวหนัง<sup>(14)</sup>

#### คำแนะนำในการใช้<sup>(14)</sup>

1. เลือกใช้ AHA ที่มีความเข้มข้นน้อยเพื่อไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง
2. ใช้ครีมกันแดดเป็นประจำทุกวัน
3. หากเกิดระคายเคืองหรือเกิดผื่น ควรหยุดใช้ทันที และรีบปรึกษาแพทย์
4. การใช้เอเอชเอจำเป็นต้องใช้อย่างต่อเนื่อง หากหยุดใช้ผิวก็จะเหมือนเดิม
5. นอกจาก AHA ยังมี Beta hydroxy acid (BHA) เป็นสารสังเคราะห์ มีสมบัติทนความร้อน เสื่อมสภาพได้ยากกว่า AHA เช่น กรดซาลิไซลิก (salicylic acid) จากพริกมีฤทธิ์ปูด แสบปวดร้อน นิยมใช้เป็นส่วนผสมในยาหม่อง โดย BHA มีฤทธิ์ทำให้ผิวหนังชั้นซีไคผลัดตัวดีกว่า แต่ก็จะทำให้ผิวระคายเคือง ลอกเป็นขุย แดง แสบและคันได้ง่ายกว่า อาจทำให้ภูมิต้านทานโรคของเซลล์ผิวหนังต่ำ ติดเชื้อได้ง่าย จำเป็นต้องใช้ความเข้มข้นต่ำ ในตำรับเครื่องสำอางให้มีความเข้มข้นได้ไม่เกินร้อยละ 3<sup>(14)</sup>

### กรดซิตริก (citric acid)

กรดซิตริก (citric acid) หรือ กรดมะนาว ชื่อทางเคมีคือ 2-hydroxy-1,2,3-propane tricarboxylic acid ( $C_6H_8O_7$ ) เป็นกรดอ่อน ละลายได้ดีในน้ำ และเอทานอล ไม่ละลายใน benzene และ chloroform พบได้ในผักผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว สามารถเพิ่มระดับซีเทรตในปัสสาวะได้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และทางเภสัชกรรม ใช้เป็นสารเพิ่มความเปรี้ยว กรดซิตริก เป็นกรดในอาหาร ช่วยเพิ่มรสชาติ เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เป็นซีเทรต บัฟเฟอร์ในการเก็บเลือดจากผู้บริจาค ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางกรดซิตริกใช้เป็นสารแต่งกลิ่น



pH adjuster และ chelating agent โดยมีการศึกษาฤทธิ์ของซีเทรตในหนู พบว่าการให้ซีเทรต 1-2 g/kg ช่วยลด lipid peroxidation ได้<sup>(15)</sup>

## 6. เทคนิคการทำแห้ง

### 6.1 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง

เป็นการกำจัดน้ำจากวัตถุ โดยเปลี่ยนสถานะน้ำจากของแข็งลดความดันและกลายเป็นไอ ซึ่งก็คือการระเหิด (Sublimation) มีข้อดีข้อเสียดังนี้<sup>(16)</sup>

ข้อดีคือ ใช้อุณหภูมิต่ำ จึงไม่เกิดการสูญเสียสภาพหรือทำลายโครงสร้างของสารสำคัญที่เสื่อมสลายด้วยความร้อนในระหว่างกระบวนการ ทำให้เพิ่มระยะเวลาในเก็บรักษาได้มากขึ้น เนื่องจากสารที่ได้อยู่ในสภาพใกล้เคียงกับก่อนเริ่มกระบวนการ<sup>(16)</sup>

ข้อเสียคือ ค่าใช้จ่ายสูง เมื่อเจอความชื้นจะทำให้จับตัวเป็นก้อน<sup>(16)</sup>

ขั้นตอนการทำแห้งแบบเยือกแข็งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน<sup>(16)</sup>

1. แช่แข็ง (Freezing) ลดอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง เพื่อให้เกิดเป็นผลึก
2. การทำแห้งขั้นแรก (primary drying) เป็นการลดปริมาณของน้ำ (dehydration) โดยทำการระเหิดน้ำแข็งให้กลายเป็นไอดีด้วยการลดความดันลง เพื่อให้ผลึกเกิดการระเหิดที่ระดับของสุญญากาศ ระยะเวลาที่ขึ้นขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง และโครงสร้างของสาร

3. การทำแห้งขั้นสอง (secondary drying) น้ำแข็งจะละลาย ทำให้มีความชื้นต้องรทำแห้งด้วยการเพิ่มอุณหภูมิถึงความชื้นออก

### 6.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย

#### 6.2.1 Atomization

คือ การทำให้สารกลายเป็นหยดขนาดเล็ก เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการระเหยน้ำออกไป ช่วยในการควบคุมการไหลของสาร โดยจะส่งสารไปใส่อากาศอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ได้ขนาดของอนุภาคผลิตภัณฑ์ที่แห้งแล้วตามต้องการ<sup>(17)</sup>

#### 6.2.2 Mixing and flow

เป็นกระบวนการสำคัญของการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพราะเป็นการควบคุมขนาดอนุภาค ความร้อนที่ใช้ จะขึ้นอยู่กับการไหล จะเลือกใช้งานได้จากวัตถุประสงค์การใช้งาน โดยการทำแห้งจะใช้เทคนิคการผสมเร็ว และถ้าต้องการควบคุมขนาดจะใช้เทคนิคผสมช้า<sup>(17)</sup>



### 6.2.3 Volatile evaporation

เมื่อสารผสมกับอากาศภายในเครื่อง การระเหยจะเกิดขึ้นเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรก การระเหยจะเกิดขึ้นด้วยอัตราคงที่ เมื่อความชื้นลดลงถึงสภาวะที่ความชื้นอิ่มตัว และในขั้นที่สอง อัตราการระเหยของสารจะลดลง<sup>(17)</sup>

### 6.2.4 Separation

ในการแยกผลิตภัณฑ์ออกจากอากาศโดยใช้พัดลมแบบ Centrifugal fan ทั้งหมด 2 ตัว โดยตัวแรกจะอยู่บริเวณทางออกสำหรับเก็บผลิตภัณฑ์ และตัวที่ 2 จะอยู่บริเวณทางเข้าถึงอบ ยังมีส่วนประกอบอื่นอีก ได้แก่ cyclones, bag filters และ electrostatic precipitators<sup>(17)</sup>

## 7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 7.1 การต้านอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระทำลายสารชีวโมเลกุลในเซลล์เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้เซลล์ตาย เกิดการกลายพันธุ์ และก่อให้เกิดโรคทั้งโรคมะเร็ง ความจำเสื่อม ภูมิแพ้ ฯลฯ สารต้านอนุมูลอิสระคือสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันมีกลไกการทำงานที่หลายหลากรูปแบบ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่รู้จักกันดีคือ วิตามินซี, วิตามินอี และกลูตาไธโอน โดยอาหารที่มีวิตามินซีสูงได้แก่ มะนาว สับปะรด ฝรั่ง ตำลึง อาหารที่มีวิตามินอีได้แก่ น้ำมันเมล็ดพืช และธัญพืชต่างๆ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นมีหลากหลายวิธี โดยวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ วิธี DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย และตัวสาร DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรทำให้วิเคราะห์ได้แม่นยำ มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็วขึ้นด้วยการวิเคราะห์ใน 96 well plate โดยทำการผสม DPPH และสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ วิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 515-520 nm<sup>(18)</sup>

การมีสภาวะอนุมูลอิสระเกินส่งผลเสียต่อร่างกายมนุษย์ได้ มีศึกษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ประเมินภาวะอนุมูลอิสระเกินในผู้ป่วยเด็กโรคธาลัสซีเมีย เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้วิตามินซีและวิตามินอีพบว่าหลังจากได้รับวิตามินซีและวิตามินอี 3 เดือน ระดับของวิตามินซี วิตามินอี และกลูตาไธโอนเพิ่มสูงขึ้น ลดภาวะสารอนุมูลอิสระเกินได้<sup>(19)</sup>

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร 8 ชนิด คือ กะเพรา กานพลู ตะไคร้หอม ตะไคร้บ้าน แผลกหอม มะนาว โรสแมรี่ และอบเชยด้วยวิธี DPPH พบว่าน้ำมันจากกะเพรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันแผลกหอม, ตะไคร้หอม, กานพลู, ตะไคร้บ้าน, อบเชย, โรสแมรี่ และมะนาว ตามลำดับ และการวิเคราะห์ด้วยวิธี lipid peroxidation inhibition (TBARs) พบว่าน้ำมันจากตะไคร้บ้านมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

รองลงมาคือ น้ำมันอบเชย, กะเพรา, กานพลู, มะนาว, โรสแมรี่, แผลกหอม และตะไคร้หอม ตามลำดับ จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าในน้ำมันจากมะนาวนั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่เช่นกัน (20)

## 7.2 Freeze drying และ spray drying

Senevirathne และคณะ<sup>(21)</sup> ทำการพัฒนาวิธีการทำแห้งสารสกัดน้ำส้มด้วยการอบแห้งความเร็วสูงเปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าผลผลิต (yield) ของสารสกัดหลังการทำแห้งของทั้งสองวิธีให้ปริมาณใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ปริมาณของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากการทำแห้งทั้งสองวิธียังให้ปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าวิธีการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบความเร็วสูงเป็นวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากใช้เวลาน้อย สารสำคัญที่ได้ยังมีปริมาณใกล้เคียงกับวิธี การทำแห้งแบบเยือกแข็ง สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ การทำแห้งสารสกัดด้วยวิธีการทำแห้งเยือกแข็งสามารถเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกที่หลงเหลือได้ แต่การทำแห้งฟนฝอยเป็นการใช้ความร้อนสูงเพื่อทำให้ของเหลวหรือตัวทำละลายระเหยไปน้ำมันหอมระเหยอาจสลายตัวไปกับความร้อนได้

## 7.3 Mask formulation

Vieira และคณะ<sup>(3)</sup> ได้ทำการพัฒนามาสก์หน้าโดยเตรียมเบสมาสก์ขึ้นมา 36 สูตรตำรับ คัดเลือกสูตรที่ดีที่สุด 1 สูตรตำรับคือสูตรตำรับที่ 35 ซึ่งมีปริมาณ PVA 15% และนำมาพัฒนาต่อโดยทำการปรับเปลี่ยนปริมาณของ PVA ที่ 15, 17, 18 และ 20% ตามลำดับ เติมน้ำแว็กซ์ 0.5% เพิ่ม พบว่าสูตรตำรับที่มีปริมาณ PVA 20% และแว็กซ์ 0.5% คือสูตรตำรับที่มี drying time น้อยที่สุด วิธีการประเมิน drying time ที่ใช้คือ เทมาสก์ลงพิมพ์นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ  $36.5 \pm 1.0$  °C เพื่อควบคุมอุณหภูมิตลอดการทดลอง ผู้วิจัยจึงนำวิธีการมาประยุกต์ใช้ในการประเมิน drying time แต่เนื่องจากในสูตรตำรับมีปริมาณของเอทานอลถึง 15% ในสูตรตำรับจึงไม่เหมาะที่จะนำเข้าตู้อบ จึงทำการควบคุมอุณหภูมิเช่นเดียวกัน

Beringhs และคณะ<sup>(22)</sup> พัฒนามาสก์หน้าที่มีส่วนผสมของสารสกัดว่านหางจระเข้ พอลิเมอร์ที่นำมาใช้ก่อฟิล์มคือ PVA และ carbomer 940 ทำการปรับเปลี่ยนปริมาณของ PVA, carbomer และ เอ ท า น อ ล ท ด ส อ บ โดย ประเมิน drying time, film forming และ Physicochemical Stability พบว่า สูตรที่ไม่มี carbomer มี PVA 13% และเอทานอล 10% คือสูตรที่ดีที่สุด และปริมาณของเอทานอลในสูตรตำรับมีผลต่อ drying time โดยปริมาณเอทานอลที่มากขึ้นจะทำให้ drying time น้อยลง ประเมิน drying time ด้วยการตรวจสอบทุกๆ 5 นาทีจนมาสก์แห้งสนิท

ชมพูนุช เวชชากุล และคณะ<sup>(23)</sup> ศึกษาผลของแอลกอฮอล์และสารก่อฟิล์มต่อสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของตัวรับมาสก์หน้าที่ใช้ Chitosan และ PVA เป็นสารก่อฟิล์ม ประเมินสมบัติทางกายภาพ ซึ่งได้แก่ ลักษณะภายนอกมาสก์ ค่า pH ความหนืด drying time และประเมินสมบัติเชิงกลของฟิล์ม พบว่า การผสม PVA ในสูตรตัวรับที่มี Chitosan เป็นสารก่อฟิล์มหลักนั้นส่งผลให้ความแข็งแรงของฟิล์มเพิ่มขึ้น การใส่แอลกอฮอล์ปริมาณ 20% ทำให้มาสก์ที่ได้มีลักษณะขุ่น ความหนืดต่ำ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากขึ้นทำให้ drying time ของมาสก์ลดลง โดยสูตรตัวรับที่ดีที่สุดที่สูตรนั้นประกอบด้วยไคโตซาน 2% PVA 1% และแอลกอฮอล์ 10% เราจึงนำผลที่ได้มาประยุกต์ใช้กับสูตรตัวรับโดยใช้ปริมาณเอทานอลเพียง 15%



### บทที่ 3

## วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การสกัดสารสกัดจากผลมะนาว
2. การทำแห้ง (drying) สารสกัดจากผลมะนาว
3. การหาปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดจากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีด้วย HPLC
4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีด้วย DPPH
5. การเตรียมตำรับมาสก์
6. การศึกษาความหนืดและพฤติกรรมการไหล
7. การประเมิน drying time
8. การประเมินสมบัติเชิงกล (Mechanical properties) ของมาสก์
9. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture)
10. การ sub culture
11. การนับเซลล์ด้วย Hemocytometer
12. การทดสอบความพิษต่อเซลล์ HaCaT ด้วยวิธี MTS assay
13. การศึกษาการปลดปล่อยของสารสกัด
14. การหาปริมาณสารสกัดจากผลมะนาวที่ปลดปล่อยด้วยวิธี HPLC
15. การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพโดยวิธี heating-cooling cycle

### อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. Autoclave (Meditip, TOMY SX-500, USA)
2. Dissolution tester (Agilent technology, Malaysai)
3. Freeze dryer
4. High Performance Liquid Chromatography (Agilent technology, USA)
5. Hot plate (Wisetherm, Korea)
6. Hot plate and stirrer

7. Incubator (New Brunswick, England)
8. Laminar flow hood (Safe FAST Classic 2212, Italy)
9. Microplate reader (Molecular Devices, USA)
10. Microscope (Nikon eclipse, Japan)
11. pH meter (Eutech instruments, Singapore)
12. Rheometer (Thermo scientific, Germany)
13. Spray dryer
14. Texture analyzer (TA 500, LLOYD instrument, United Kingdom)

### สารเคมีที่ใช้

1. Polyvinyl alcohol (Sigma, Germany)
2. Sodium carboxymethyl cellulose; NaCMC (Sigma, Germany)
3. Methyl cellulose; MC (Sigma, Germany)
4. Propylene glycol (SL Quality supply LTD PART, Thailand)
5. Glycerin (SL Quality supply LTD PART, Thailand)
6. 95% Ethanol (Merck, Germany)
7. สารสกัดจากผลมะนาว (บริษัท เชียงใหม่ไบโอเวทีกี่ จำกัด, Thailand)
8. Penicillin-streptomycin 1% (Gibco, USA)
9. Sodium pyruvate (Gibco, USA)
10. Trypsin-EDTA 0.25% (Gibco, USA)
11. Dulbecco's modified Eagle medium; DMEM (Corning, USA)
12. Fetal bovine serum; FBS (Gibco, USA)
13. MTS
14. Triton X-100<sup>®</sup> t-Octylphenoxyethoxyethanol (Sigma, Germany)
15. O-Phosphoric acid
16. Monopotassium phosphate;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
17. 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl; DPPH

### เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้ในการศึกษา

HaCaT (Human epidermal keratinocytes) CLS 300493

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การสกัดสารสกัดจากผลมะนาว (บริษัท เชียงใหม่ไบโอเวกกี จำกัด, Thailand)

- 1.1 นำกากผลมะนาวที่ผ่านการบีบคั้นน้ำจากผลมาผ่านน้ำกลั่น
- 1.2 บีบคั้นกากมะนาวจากข้อ 1.1
- 1.3 นำน้ำหรือสารสกัดที่ได้จากข้อ 1.2 บรรจุลงภาชนะ

### 2. การทำแห้ง (drying) สารสกัดจากผลมะนาว

#### 2.1 Freeze drying

- 2.1.1 นำสารสกัดจากผลมะนาวไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-80^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 12 ชม. ในขวดแก้วขนาด 100 mL ใส่สารสกัดจากผลมะนาว 50 mL
- 2.1.2 เมื่อครบเวลาจึงนำเข้าเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง โดยใช้สภาวะ ดังตาราง 1
- 2.1.3 ทำแห้งเยือกแข็งเป็นเวลา 76 ชม. จะได้สารสกัดที่แห้งเป็นก้อนเค้ก (cake)

ตาราง 1 แสดงสภาวะในการทำแห้งเยือกแข็ง

Freeze drying condition	
Process	B
Pressure	0.125 mPa
Temperature	$-60^{\circ}\text{C}$

#### 2.2 Spray drying

นำสารสกัดจากผลมะนาวไปเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิทำกับ  $140^{\circ}\text{C}$  nozzle cleaning 4-5 ครั้งต่อวันที่ pump 10% และปรับความเร็วของการดูดสารสกัดจนได้ละอองฝอยพ่นออกจาก nozzle เก็บผงสารสกัดแห้งเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดซิตริกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

### 3. การหาปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดจากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธี ด้วย HPLC<sup>(24)</sup>

3.1 ใช้คอลัมน์ C18 ขนาด 150 × 4.6 mm

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซิตริก โดยนำสารมาตรฐานกรดซิตริก 0.1 กรัม ละลายด้วย mobile phase 100 mL เตรียม 7 ความเข้มข้นคือ 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg/mL

3.3 เตรียมสารสกัดจากผลมะนาว โดยนำสารจากผลมะนาว 1 กรัม ละลายด้วย mobile phase 100 mL เตรียม 7 ความเข้มข้นคือ 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 mg/mL

3.4 เตรียม mobile phase นำ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.136 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 mL และปรับ pH ด้วย O-Phosphoric acid จนมีค่า pH เท่ากับ 2.60

ตาราง 2 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC

Column:	Luna C18; Phenomenex <sup>®</sup> (150 × 4.6 mm, 5 μm)
Mobile phase:	0.01 M $\text{KH}_2\text{PO}_4$ buffer (pH = 2.60)
Flow rate:	0.5 mL/min
Detector:	UV 210 nm
Temperature:	25 °C
Injection volume:	20 μl

### 4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากผลมะนาวจากการทำแห้งทั้ง 2 วิธีด้วย DPPH<sup>(25, 26)</sup>

4.1 เตรียมสารละลาย DPPH 0.5 mM โดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย และเตรียมสารสกัดจากผลมะนาวความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1 และ 10 mg/mL เจือจางด้วยน้ำ ใช้วิตามินซีเป็น positive control

4.2 ปิเปตสารสกัดที่เตรียมไว้ลงใน 96 well plate ปริมาตร 100 μL/หลุม ตามด้วยสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 μL/หลุม และใช้น้ำปริมาตร 100 μL เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 μL เป็น control นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 30 นาที



4.3 วัดค่าดูดกลืนแสงที่  $\lambda = 517 \text{ nm}$  ด้วยเครื่อง microplate reader ทำการทดสอบซ้ำ 4 ซ้ำ ( $n=4$ ) คำนวณเปอร์เซ็นต์ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%DPPH inhibition) ดังสูตร สร้างกราฟความสัมพันธ์ของความเข้มข้นในสารสกัดจากผลมะนาวกับเปอร์เซ็นต์ DPPH inhibition ได้เป็นกราฟเส้นตรงใช้ในการคำนวณหาค่า  $EC_{50}$  (50% Effective concentration = ค่าความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50%) เปรียบเทียบค่า  $EC_{50}$  ของสารสกัดกับสารมาตรฐานวิตามินซี ที่สภาวะเดียวกัน

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

โดย  $A_{control}$  คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารสกัด

$A_{sample}$  คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารสกัด

## 5. การเตรียมตำรับมาสก์

1. เตรียมสารละลาย polyvinyl alcohol (PVA) โดยเติม PVA ลงใน purified water ส่วนที่ 1 นำไปเข้าเครื่อง autoclave เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ผสมด้วย magnetic stirrer จน PVA ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
2. เมื่ออุณหภูมิของสารละลาย PVA เย็นลงที่อุณหภูมิห้องจึงเติมสารสกัดที่ละลายใน purified water ส่วนที่ 2 และเติม glycerin, propylene glycol และ ethanol ผสมให้เข้ากัน
3. โปรราย NaCMC ลงใน purified water ส่วนที่ 3 ผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer จนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (กรณีสูตรที่มีส่วนผสม NaCMC)
4. นำสารละลายในข้อ 2. ผสมกับสารละลาย NaCMC จนเป็นเนื้อเดียวกันและปรับน้ำหนักจนครบ 100% ด้วย purified water ดังแสดงในตาราง 2



ตาราง 3 แสดงส่วนประกอบมาสก์หน้าผสมสารสกัดจากผลมะนาว

Ingredients	%w/w							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Polyvinyl alcohol	9	10	11	12	10	10	11	11
NaCMC	-	-	-	-	1	2	1	2
Ethanol	15	15	15	15	15	15	15	15
Glycerin	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Propylene glycol	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
สารสกัดจากผล มะนาว	1	1	1	1	1	1	1	1
D.I. water q.s. to	100	100	100	100	100	100	100	100

โดยส่วนประกอบในมาสก์มีหน้าที่ดังนี้

1. Polyvinyl alcohol (PVA) ทำหน้าที่เป็นสารก่อฟิล์ม เพิ่มความเหนียว
2. Sodium carboxymethyl cellulose (NaCMC) ทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความเหนียว ช่วยให้เกลี่ยมาสก์ได้ง่ายขึ้น
3. Ethanol ทำหน้าที่เป็น Co-Solvent ตัวช่วยทำละลาย
4. Glycerin ทำหน้าที่เป็น Humectant เพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่มาสก์ รักษาความยืดหยุ่นของแผ่นมาสก์
5. Propylene glycol ทำหน้าที่เป็น Moisturizer ให้ความชุ่มชื้น
6. สารสกัดจากผลมะนาว ทำหน้าที่เป็นสารออกฤทธิ์ในมาสก์หน้า
7. D.I. water ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลาย

## 6. การศึกษาความเหนียวและพฤติกรรมการไหล

ศึกษาความเหนียวและพฤติกรรมการไหลโดยใช้เครื่องวัดพฤติกรรมการไหลด้วยเครื่อง rheometer หัววัดเป็นชนิด plate-plate ใช้เทคนิคในการวัดแบบขั้นบันได กำหนดช่วงในการวัดค่า shear rate ในช่วง 0.01-500 1/s. ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  เพื่อศึกษาพฤติกรรมการไหลและวัดด้วย

เทคนิคในการวัดแบบจุด กำหนดจุดในการวัดค่า shear rate เป็น 0.1, 1, 10 และ 100 1/s. ที่ อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  °C เพื่อศึกษาค่าความหนืดของตัวรับมาสก์

## 7. การประเมิน drying time

- 7.1 ชั่งมาสก์ 3.5 กรัม กระจายลงบนพิมพ์ขนาด  $7.7 \times 7.7$  cm. ให้ทั่ว
- 7.2 ให้ความร้อน โดยวางพิมพ์ลงบน hot plate ควบคุมอุณหภูมิที่  $37.0 \pm 0.5$  °C
- 7.3 ชั่งน้ำหนักทุกๆ 10 นาที จนอัตราการระเหยน้อยกว่า 0.01 g/min โดยสังเกตจาก น้ำหนักของมาสก์ที่ลดลง

## 8. การประเมินสมบัติเชิงกล (Mechanical properties) ของมาสก์

- 8.1 เตรียมมาสก์หน้าดังตาราง 3 เทมาสก์ลงบนพิมพ์ขนาด  $7.0 \times 10.0$  ซม.
  - 8.2 ตั้งทิ้งไว้ใน hood ให้มาสก์แห้งสนิท ตัดให้ได้ขนาด  $0.4 \times 8.0$  ซม.
  - 8.3 นำมาสก์ที่ได้ไปทดสอบด้วยเครื่อง Texture analyzer ทดสอบซ้ำ 3 ครั้งในทุก
- สูตรตัวรับ

## 9. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture)

เซลล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและการทดสอบ คือ HaCaT (human epidermal keratinocyte)

- 9.1 นำเซลล์ที่แช่แข็งละลายใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C ทำความสะอาดก่อน นำเข้า Laminar flow hood ด้วย 70% ethanol

- 9.2 นำเซลล์ที่ทำการละลายแล้วใส่ลงใน centrifuge tube จากนั้นเติมอาหารเลี้ยง เซลล์ DMEM ลงไปจนครบ 10 mL ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm/min เป็นเวลา 3 นาที

- 9.3 ถ่ายอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ปริมาตร 5 mL ที่ ประกอบด้วย 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% penicillin และ streptomycin ลงใน centrifuge tube เคาะด้วยนิ้วเบาๆ ที่ปลาย centrifuge tube ทำการ cell re-suspension

- 9.4 เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ เซลล์ DMEM ปริมาตร 5 mL ที่ประกอบด้วย 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% penicillin และ streptomycin ลงใน T-flask

- 9.5 ถ่ายเซลล์จากข้อ 9.3 ลงใน T-flask บ่มด้วย 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง และเปลี่ยนอาหารเลี้ยง

เซลล์ DMEM ทุก 48 ชั่วโมงก่อนทำการ subculture เมื่อเซลล์มีความหนาแน่นเท่ากับ 80 - 90% ของพื้นที่ผิว T-flask

#### 10. การ sub culture

10.1 ถ่ายอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง ล้างด้วย phosphate buffer saline (PBS) 5 mL และถ่ายออกเพื่อเติม Trypsin-EDTA 0.25% 3 mL บ่มใน 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3-5 นาที

10.2 ส่งเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อสังเกตการหลุดลอกออกจากพื้นผิวใน T-flask ของเซลล์

10.3 เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ปริมาตร 5 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยา trypsinization

10.4 ถ่าย cell suspension ปริมาตร 4 mL ใส่ลงใน T-flask 2 flask ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ปริมาตร 6 mL นำไปบ่มใน 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C

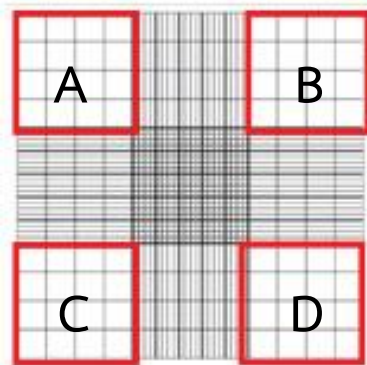
#### 11. การนับเซลล์ด้วย Hemocytometer

11.1 หลังหยุดเกิดปฏิกิริยา trypsinization แล้วจึงทำการถ่าย cell suspension ลงใน centrifuge tube

11.2 เจือจาง 4 เท่า หยดลงใน hemocytometer จำนวน 2 หยดๆ ละ 10 µL นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับเซลล์และคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{จำนวนเซลล์} = \frac{A + B + C + D}{4} \times 10^4$$

โดย A, B, C และ D คือพื้นที่ดังภาพประกอบ 1 ทำการนับเซลล์ก่อนการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกครั้ง



ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะภาพในของ hemocytometer ที่ใช้ในการนับจำนวนเซลล์

## 12. การทดสอบความพิษต่อเซลล์ HaCaT ด้วยวิธี MTS assay

12.1 ถ่ายเซลล์ลงใน 96 well plate หลุมละ 5,000 เซลล์ ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ซึ่งมีส่วนประกอบของ 10% FBS กับ 1% penicillin และ streptomycin นำไปบ่มใน 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C จนเซลล์เจริญและเกาะบนผิวภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง 90-100 เปอร์เซ็นต์

12.2 ถ่ายอาหารเลี้ยงเซลล์ออก เติมสารสกัดที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มีความเข้มข้น 0.0003125, 0.003125, 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05 และ 0.1 mg/mL ปริมาตร 100 µL/หลุม และใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM เป็น control ใช้ Triton X-100<sup>®</sup> เป็น negative control บ่มใน 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

12.3 ถ่ายสารสกัดเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ออก ล้างด้วย PBS หลุมละ 100 µL/หลุม 2-3 ครั้ง เติมหาอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ปริมาตร 100 µL/หลุม เติมสารละลาย MTS ปริมาตร 20 µL/หลุม บ่มใน 5% CO<sub>2</sub> incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

12.4 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm ด้วยเครื่อง microplate reader ทดสอบละ 6 ซ้ำ (n=6) และคำนวณหาค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ โดยใช้สูตรดังนี้

$$Cell\ viability = \frac{A_{sample} 490}{A_{control} 490} \times 100$$

โดย  $A_{sample} 490$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร formazan ในเซลล์ HaCaT ที่ทำการทดสอบกับสารสกัดจากผลมะนาวที่ 490 nm

$A_{\text{control}}$  490 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร formazan ในเซลล์ HaCaT กลุ่ม control ที่ 490 nm

ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมะนาวที่นำมาผสมในมาส์กหน้านั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่มากที่สุดที่มีร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 90

## 12. การศึกษาการซึมผ่านของสารสกัด

ทำการศึกษาการซึมผ่านของสารสำคัญด้วยเครื่อง Franz-diffusion cells (perme gear, USA) ขนาด 15 mL โดยทดสอบผ่านเมมเบรน cellulose acetate ขนาด  $0.45 \mu\text{m}$  ใช้ตัวกลางการละลายใน receiver เป็น phosphate buffer pH 7.4 ที่อุณหภูมิ  $37 \pm 0.5$  องศาเซลเซียส เติมหาสกีใส่ใน donor สุ่มตัวอย่างจาก receiver ปริมาตร 3 mL ตามเวลาที่ 15, 30, 60, 120, 180 นาที ตามลำดับ ทำการดูดสารละลายใน receiver phase แล้วจึงเติม phosphate buffer pH 7.4 ใหม่ ปริมาตร 3 mL แทนที่ลงไป นำไปการปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี HPLC (Agilent technology, USA)

## 13. การหาปริมาณสารสกัดจากผลมะนาวที่ปลดปล่อยด้วยวิธี HPLC<sup>(24)</sup>

13.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซิตริกและสารสกัดจากผลมะนาว โดยนำสารจากผลมะนาวและสารมาตรฐานกรดซิตริก 0.1 กรัม ละลายด้วย mobile phase 100 mL

13.2 เตรียม mobile phase นำ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.136 g ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 mL และปรับ pH ด้วย O-Phosphoric acid จนมีค่า pH เท่ากับ 2.60

ตาราง 4 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC

Column:	Luna C18; Phenomenex <sup>®</sup> (150 × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )
Mobile phase:	0.01 M $\text{KH}_2\text{PO}_4$ buffer (pH = 2.60)
Flow rate:	0.8 mL/min
Detector:	UV 210 nm
Temperature:	25 °C
Injection volume:	20 $\mu\text{l}$

#### 14. การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพโดยวิธี heating-cooling cycle

การศึกษาคงสภาพทางกายภาพ ของマスクด้วยวิธี heating-cooling cycle 4 วัฏจักร เก็บマスクที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 48 ชม. และอุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 ชม. จะนับเป็น 1 วัฏจักร โดยการศึกษาความชื้นและพฤติกรรมการไหล การประเมิน drying time และประเมินสมบัติเชิงกลของマスク



## บทที่ 4

### ผลการดำเนินงานวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

การพัฒนาマスクจากสารสกัดกากผลมะนาว โดยเริ่มจากการเปรียบเทียบการทำแห้งสารสกัด 2 วิธี คือ การทำแห้งแบบเยือกแข็งและการทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อเลือกสารสกัดจากวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นตำรับマスク ซึ่งทำเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่ได้หลังการทำแห้ง หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัด ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH ทดสอบความพิษของสารสกัดกากผลมะนาวในเซลล์ไลน์ ทดสอบสมบัติต่างๆ ของเบสมาร์คและมาร์คผสมสารสกัดกากผลมะนาวด้วยความเข้มข้นของพอลิเมอร์ก่อฟิล์มที่ต่างกัน ซึ่งได้แก่ การศึกษาความหนืดและพฤติกรรมการไหล ประเมิน drying time และประเมินสมบัติเชิงกลของมาร์ค ทำการศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพตำรับマスクโดยวิธี heating-cooling cycle และศึกษาการซึมผ่านของสารสำคัญ โดยมาร์คที่ต้องการนั้นต้องมีความยืดหยุ่น เกลี้ยง่าย เมื่อแห้งลอกเป็นแผ่นได้ และสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ ดังนั้นผลการทดลองและอภิปรายผลจึงแบ่งออกเป็นหัวข้อดังนี้

1. การทดสอบสารสกัดกากผลมะนาว
2. สมบัติของมาร์ค
3. เสถียรภาพของมาร์ค

#### 4.1 การทดสอบสารสกัดกากผลมะนาว

สารสกัดกากผลมะนาวผ่านการทำแห้ง 2 วิธี คือ การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) โดยวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นวิธีไม่ใช้ความร้อน ส่งผลต่อการสลายของสารสำคัญน้อยกว่าวิธีทำแห้งพ่นฝอยที่ต้องใช้ความร้อน สารสำคัญในสารสกัดกากผลมะนาวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้แก่ วิตามิน, แร่ธาตุบางชนิด, สารกลุ่มฟีนอลิก และสารกลุ่มเทอร์ปีน<sup>(27)</sup> สารที่พบในพืชตระกูลส้ม เช่น วิตามินเอ, วิตามินซี, gallic acid, hesperidin, coumaric acid, quercetin, rutin และ limonoids<sup>(27, 28)</sup> เป็นต้น

การศึกษากปริมาณกรดซิตริกในสารสกัดกากผลมะนาวที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งและการทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยวิธี HPLC พบว่าสารสกัดกากผลมะนาวที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งให้ปริมาณกรดซิตริกมากกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยในสารสกัดกากผลมะนาว



ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งและทำแห้งพ่นฝอย 1 g มีปริมาณกรดซิตริกเท่ากับ  $324.28 \pm 61.87$  และ  $295.63 \pm 43.31$  mg ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ )

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะนาวจากการทำแห้งแบบเยือกแข็งและแบบพ่นฝอยด้วย DPPH (ตาราง 6) โดยเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกพบว่าสารสกัดจากผลมะนาวที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งให้ค่า  $EC_{50}$  น้อยกว่าสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดังนั้นวิธีการทำแห้งเยือกแข็งให้สารสกัดจากกากผลมะนาวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตาราง 5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะนาวจากวิธีการทำแห้งทั้ง 2 วิธี

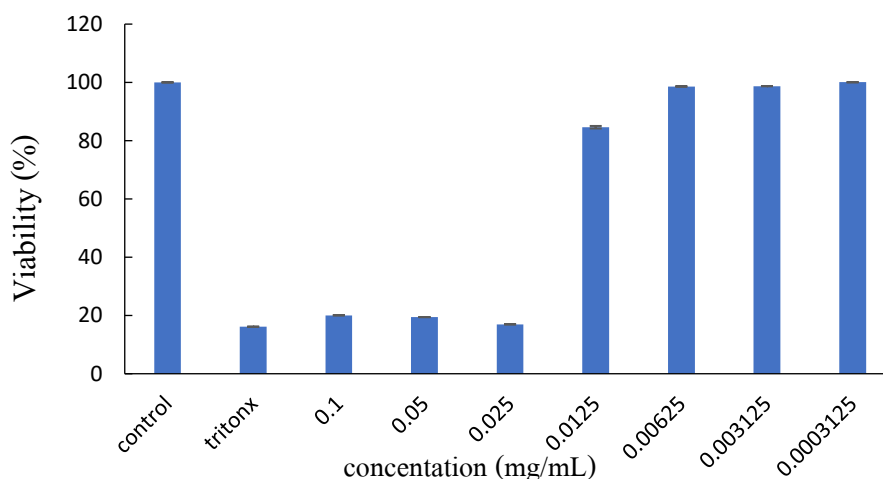
วิธีการทำแห้ง	$EC_{50}$ (Effective concentration)
แบบเยือกแข็ง	$5.05 \pm 0.16$
แบบพ่นฝอย	$5.97 \pm 0.16$

เมื่อเปรียบเทียบการทำแห้งแบบพ่นฝอยและแบบเยือกแข็งจากการทำแห้งสารสกัดสมุนไพรอื่น พบว่า การทำแห้งผงเห็ดตับเต่าแบบเยือกแข็งให้ปริมาณของสารแอนโทไซยานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งเป็นผลการทดลองที่สอดคล้องกับการวิจัยการพัฒนามาส์กจากสารสกัดจากผลมะนาว<sup>(29)</sup> และจากการทดลองเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาผงใบหม่อนที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งนั้นให้ผลดีกว่าชาผงใบหม่อนที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เนื่องด้วยความร้อนมีผลทำให้สารฟีนอลิกบางชนิดเกิดการเสื่อมสลายหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจึงทำให้การทำแห้งแบบพ่นฝอยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า<sup>(30)</sup>

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ต่อสารสกัดจากผลมะนาวที่ทำแห้งแบบเยือกแข็งด้วยวิธี MTS assay ใช้กำหนดปริมาณสารสกัดจากผลมะนาวที่นำมาพัฒนามาส์ก โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาใช้ต้องไม่มีผลต่อเซลล์ผิวหนัง ผลการทดสอบพบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด (Viability) ของสารสกัดจากผลมะนาวที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.0125 mg/mL จะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT และจากข้อมูลความเป็นพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลอง (in vitro) โดยใช้



HaCaT เซลล์เปรียบเทียบกับสารระคายเคืองผิวหนังมนุษย์พบว่าสารจำพวกสารลดแรงตึงผิวประจุลบ (anionic surfactant) จะไวกับ HaCaT เซลล์มากกว่าผิวหนังมนุษย์ถึง 10-100 เท่า<sup>(31)</sup> ดังนั้นความเข้มข้นของสารสกัดกากผลมะนาวจึงควรใช้ในความเข้มข้นต่ำกว่า 1.25% ดังนั้นในการเตรียมตำรับมาสก์จึงใช้ความเข้มข้นของสารสกัดกากผลมะนาวเป็น 1%



ภาพประกอบ 3 แสดงผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ด้วยวิธี MTS assay

#### 4.2 การพัฒนามาสก์จากสารสกัดกากผลมะนาว

การพัฒนามาสก์โดยการศึกษาความเหนียวและพฤติกรรมการไหล การประเมิน drying time และการประเมินสมบัติเชิงกลของมาสก์ไม่ผสมสารสกัดกากผลมะนาวและมาสก์ที่ผสมสารสกัดกากผลมะนาว ใช้ PVA เป็นสารก่อกฟิล์มเดี่ยวเปรียบเทียบกับสูตรตำรับที่ผสม NaCMC พบว่าสูตรตำรับที่ใช้ PVA เป็นสารก่อกฟิล์มเดี่ยวลักษณะภายนอกเป็นสารละลายชั้นเหนียวคล้ายเจลลี่ใสเมื่อแห้งสามารถลอกออกเป็นแผ่นได้ เมื่อเติม NaCMC ในตำรับมาสก์จะได้สารละลายชั้นเหนียวคล้ายเจลลี่ลักษณะขุ่นมากขึ้น เมื่อแห้งสามารถลอกออกเป็นแผ่นได้เช่นกัน

##### 4.2.1 สมบัติของมาสก์

จากการศึกษาความเหนียวและพฤติกรรมการไหลของเบสมาสก์พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PVA ทำให้ความเหนียวเพิ่มขึ้น (F1-F4) (ตาราง 7) เช่นเดียวกับงานวิจัยเกี่ยวกับมาสก์ป้องกันสิวแบบลอกออกจากสารสกัดมัลเบอร์รี่ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของพอลิเมอร์ก่อกเจลที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความเหนียวของมาสก์เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการสร้างพันธะและยึดเกาะกันของของเหลวที่มากขึ้นทำให้ความเหนียวเพิ่ม<sup>(32)</sup>

การเพิ่ม NaCMC ลงในสูตรตำรับทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมาก (F5-F8) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรตำรับที่ใช้ PVA เดียว โดยความหนืดจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่มากขึ้น (ตาราง 7) การผสมกันของพอลิเมอร์สองชนิดส่งผลต่อความหนืดของมาสก์ และการเพิ่มขึ้นของ NaCMC ที่เป็นสารเพิ่มความหนืดทำให้มาสก์มีความหนืดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยมาสก์หน้าจากกรีนเคลย์และว่านหางจระเข้ พบว่าหากเพิ่มเข้มข้นของ PVA และ Carbopol ทั้งคู่จะเพิ่มความหนืดเพิ่มขึ้น และการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์หนึ่งชนิดใดก็ทำให้ความหนืดของมาสก์เพิ่มขึ้นเช่นกัน<sup>(22)</sup> โดยความหนืดของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นได้ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นและเพิ่มอุณหภูมิให้กับพอลิเมอร์<sup>(33)</sup>

ความหนืดของสูตรตำรับมาสก์ลดลงเมื่อผสมสารสกัดจากผลมะนาว (ตาราง 7 และ 8) การเติมสารสกัดทำให้ตำรับมาสก์มีความหนืดลดลง เนื่องจากสารสกัดจากผลมะนาวมีความเป็นกรดสูงและมีสารกลุ่มฟีนอลิกที่มีหมู่ hydroxyl จำนวนมาก อาจเกิดอันตรกิริยาที่ acetyl group ทำให้การละลายหรือการพองตัวของ PVA ลดลง ส่งผลให้ความหนืดของมาสก์ลดลง<sup>(34)</sup> เช่นเดียวกับตำรับมาสก์หน้าที่ผสมสารสกัดบัวบกความเข้มข้น 5% w/w ที่พบว่าค่า pH และความหนืดของมาสก์ผสมสารสกัดบัวบกลดลงเมื่อเทียบกับมาสก์พื้นฐาน เนื่องจากปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นจากสารสกัดและในสารสกัดบัวบกมีองค์ประกอบหลักสารจำพวก triterpenoid ซึ่งมีหมู่ hydroxyl มาก รบกวนการเกิด hydrogen bond ของน้ำและโคโตซานหรือ PVA ทำให้การพองตัวของพอลิเมอร์ลดลง ความหนืดของมาสก์จึงลดลง<sup>(35)</sup>

ตาราง 6 แสดงความหนืดของเบสมาสก์

Formulation	Viscosity ( $\eta$ ), cP			
	% PVA	%NaCMC	Shear rate 1 s <sup>-1</sup>	Shear rate 10 s <sup>-1</sup>
F1	9	-	214.33 ± 2.49	189.42 ± 1.58
F2	10	-	324.83 ± 0.81	293.42 ± 2.60
F3	11	-	464.12 ± 3.51	429.27 ± 1.97
F4	12	-	613.70 ± 0.85	560.82 ± 0.54
F5	10	1	11062.79 ± 49.11	5871.34 ± 29.28
F6	10	2	52446.30 ± 17.27	18884.02 ± 850.86
F7	11	1	92002.97 ± 10523.93	21985.93 ± 924.36
F8	11	2	143863.83 ± 2772.19	35914.44 ± 1899.27

ตาราง 7 แสดงความหนืดของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลไม้

Formulation	Viscosity ( $\eta$ ), cP			
	% PVA	%NaCMC	Shear rate 1 s <sup>-1</sup>	Shear rate 10 s <sup>-1</sup>
F1	9	-	174.98 ± 0.49	151.84 ± 0.41
F2	10	-	234.56 ± 0.35	269.39 ± 0.81
F3	11	-	401.51 ± 4.66	394.25 ± 2.04
F4	12	-	652.34 ± 8.54	470.21 ± 5.23
F5	10	1	7254.09 ± 8.60	4150.23 ± 7.64
F6	10	2	30618.92 ± 48.75	11728.51 ± 164.23
F7	11	1	9519.70 ± 7.86	5878.67 ± 21.72
F8	11	2	43606.75 ± 181.60	18363.24 ± 315.05

ผลการประเมิน drying time พบว่าความเข้มข้นของ PVA ที่เพิ่มขึ้นในสูตรตำรับทำให้มาสก์แห้งช้า (ตาราง 7) เนื่องด้วย PVA สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำ เกิดการพองตัวส่งผลให้ของเหลวถูกกักเก็บ เมื่อความเข้มข้นของ PVA มากขึ้นจึงทำให้ น้ำระเหยได้ยากและทำให้มาสก์แห้งช้า<sup>(36)</sup> เมื่อเปรียบเทียบสูตรตำรับที่มี NaCMC กับสูตรตำรับที่มี PVA เดียว การผสม NaCMC ส่งผลให้มาสก์แห้งช้าลง (ตาราง 7) อาจเนื่องจากมาสก์สูตรที่มีความหนืดน้อยกว่าจะแห้งได้เร็วกว่าตัวทำละลายที่ระเหยได้จะเคลื่อนที่ออกจากมาสก์ได้ง่ายกว่าหากความหนืดของตำรับน้อย สูตรตำรับที่มี PVA เดียวที่มีความหนืดน้อยกว่าจึงแห้งได้เร็วกว่า (ตาราง 7 และ 8)

การเติมสารสกัดกากผลมะนาวในมาสก์ทำให้มาสก์แห้งช้าลงเมื่อเทียบกับเบสมาสก์ (ตาราง 9) เนื่องด้วยสารสกัดกากผลมะนาวมีวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกและสารอื่นที่ชอบน้ำ เนื่องด้วยสกัดกากผลมะนาวโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย<sup>(37)</sup> สารดังกล่าวสามารถดูดซับน้ำและความชื้นได้ดี<sup>(38)</sup> การเติมสารสกัดกากผลมะนาวลงในตำรับจึงทำให้มาสก์ที่ได้อแห้งช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับเบสมาสก์

ตาราง 8 แสดงผล drying time ของมาสก์

Formulation	%PVA	%NaCMC	Drying time (min)	
			เบสมาสก์	ผสมสารสกัด
F1	9	-	90.00 ± 10.00	116.67 ± 11.55
F2	10	-	96.67 ± 15.28	110.00 ± 0.00
F3	11	-	96.67 ± 5.77	106.67 ± 5.77
F4	12	-	93.33 ± 5.77	106.67 ± 5.77
F5	10	1	93.33 ± 15.28	103.33 ± 5.77
F6	10	2	90.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
F7	11	1	110.00 ± 10.00	156.67 ± 5.77
F8	11	2	133.33 ± 5.77	153.33 ± 5.77

ทำการทดสอบ Tensile strength เพื่อดูความต้านทานแรงการดึงของมาสก์ Elongation at break เพื่อดูความสามารถในการยืดตัวของมาสก์ และ Young's modulus เพื่อดูความนุ่มของฟิล์มหลังจากที่มาสก์แห้งบนใบหน้า โดยค่า Young's modulus มากจะแสดงให้เห็น

ว่าฟิล์มมีความแข็ง ดังนั้นสิ่งที่อยากได้คือ มาสก์มีค่า Tensile strength และค่า Elongation at break สูง เพื่อให้ฟิล์มลอกออกเป็นแผ่นไม่ขาดระหว่างลอก ค่า Young's modulus ควรจะลดลง หรือมีค่าน้อย เพื่อให้ฟิล์มมีความนุ่มและยืดหยุ่น

การประเมินสมบัติเชิงกลของฟิล์มจากเบสมาสก์ ระหว่างสูตรตำรับที่ใช้ PVA เป็นสารก่อฟิล์มเดียวกับสูตรตำรับที่มี NaCMC เมื่อเปรียบเทียบค่า Tensile strength, Elongation at break และ Young's modulus พบว่าสูตรตำรับ F1 - F4 มีค่า Tensile strength, Elongation at break (%) และ Young's modulus มากกว่าสูตรตำรับ F5 - F8 แสดงว่า การผสม PVA กับ NaCMC ทำให้ฟิล์มเมื่อแห้งอ่อนนุ่ม แต่ยืดหยุ่นใกล้เคียงกับการใช้ PVA เดียว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรตำรับ F1 - F4 จะเห็นว่าความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ PVA ส่งผลให้ค่า Tensile strength เพิ่มขึ้น นั่นคือมีความแข็งเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ตาราง 10)

การศึกษาเส้นใยนาโนไคโตซานผสม PVA เมื่อเปรียบเทียบสารละลาย PVA เดียวกับสารละลายไคโตซานผสม PVA พบว่า สารละลาย PVA เดียวทำให้ได้ฟิล์มมีความแข็งมากกว่าเป็นผลจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ทำให้สารละลายผสมมีความหนืดมากกว่าส่งผลให้ค่า Tensile strength และค่า Young's modulus ลดลงเมื่อเทียบกับสารละลาย PVA เดียว<sup>(39)</sup>

ตาราง 9 แสดงสมบัติเชิงกลของเบสมาสก์

Formulation	%PVA	%NaCMC	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Young's modulus (MPa)
F1	9	-	34.14 ± 1.24	332.20 ± 94.49	171.08 ± 10.30
F2	10	-	75.79 ± 3.84	1345.30 ± 55.73	199.24 ± 26.41
F3	11	-	81.45 ± 3.56	980.38 ± 88.77	188.35 ± 20.88
F4	12	-	90.53 ± 2.42	1648.50 ± 46.19	192.80 ± 23.76
F5	10	1	2.54 ± 0.17	998.44 ± 17.61	5.58 ± 1.86
F6	10	2	2.63 ± 0.46	1040.45 ± 144.57	4.70 ± 0.51
F7	11	1	2.76 ± 0.42	1099.08 ± 190.82	7.88 ± 1.58
F8	11	2	1.56 ± 0.44	501.78 ± 146.63	5.43 ± 1.49

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของฟิล์มจากมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาวกับมาสก์ไม่ผสมสารสกัด พบว่าในสูตรตำรับที่มีสารสกัดกากผลมะนาวมีค่า Tensile strength และค่า Young's modulus ลดลง แสดงว่ามาสก์ที่มีสารสกัดกากผลมะนาวมีความอ่อนนุ่มมากกว่าฟิล์มจากเบสมาสก์ แต่ยังสามารถยืดหยุ่นได้ดี (ตาราง 10 และ 11) ด้วยการเติมสารสกัดมีสารจำพวกกรดเช่น กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิกที่มีทั้งหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลทำให้ความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อผสมสารสกัดกากผลมะนาวลงในมาสก์ ซึ่งเป็นสารที่สามารถดูดซับน้ำและความชื้นได้ดี

จากการศึกษาสมบัติเชิงกลของสารเติมแต่งในฟิล์ม PVA ผสมกับแป้ง พบว่า การเติมกรดมาลิก, กรดทาร์ทาริก และกรดซิตริกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลทำให้ฟิล์มแข็งแรงและมีความยืดหยุ่นมากกว่าฟิล์มเติมกลีเซอรอล, ซอร์บิทอล และกรดซัคซินิก เนื่องจากฟิล์มที่มีกรดมาลิก, กรดทาร์ทาริก และกรดซิตริกสร้างพันธะไฮโดรเจนกับ PVA<sup>(40)</sup>



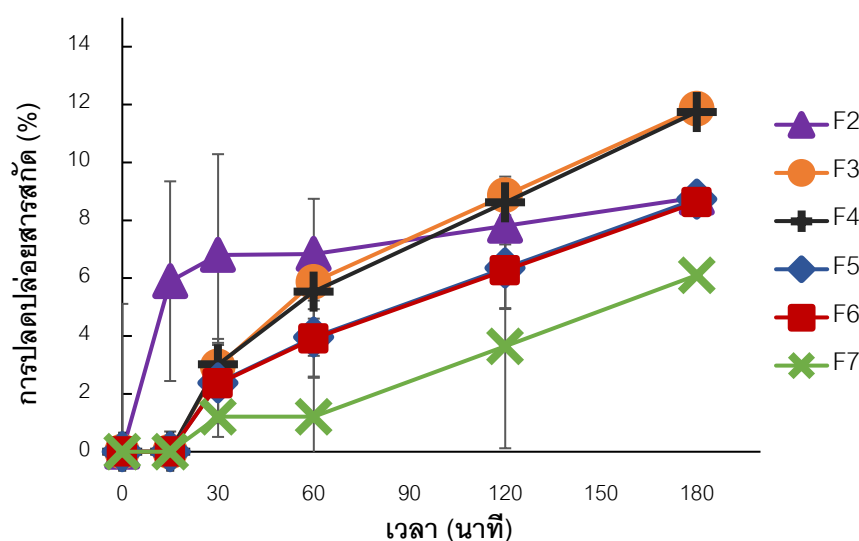
ตาราง 10 แสดงสมบัติเชิงกลของมาสที่ผสมสารสกัดจากผลมะนาว

Formulation	%PVA	%NaCMC	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	Young's modulus (MPa)
F1	9	-	1.29 ± 0.08	1548.60 ± 246.42	2.87 ± 0.33
F2	10	-	1.37 ± 0.27	1388.93 ± 285.71	3.13 ± 0.54
F3	11	-	1.01 ± 0.24	897.86 ± 375.18	2.60 ± 1.00
F4	12	-	1.56 ± 0.34	1575.58 ± 293.97	3.19 ± 0.54
F5	10	1	1.65 ± 0.72	844.14 ± 21.94	5.05 ± 1.93
F6	10	2	2.01 ± 0.56	512.05 ± 140.05	6.68 ± 0.86
F7	11	1	1.98 ± 0.28	942.24 ± 129.46	4.99 ± 0.75
F8	11	2	2.31 ± 0.60	653.30 ± 153.83	5.00 ± 1.04

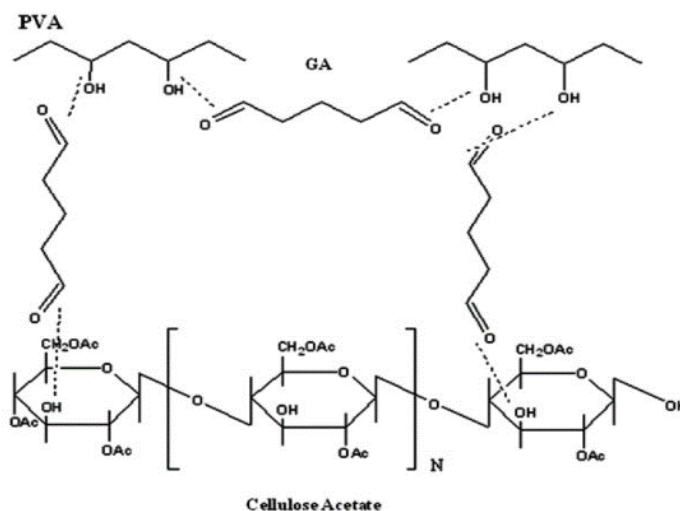


จากผลการศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับ พบว่าสูตรตำรับ F1 มีลักษณะเหลวเกินไป และสูตรตำรับ F8 มีความหนืดมากเกินไปทำให้เกลี่ยเป็นแผ่นได้ยาก จึงคัดเลือกสูตรตำรับ F2 – F7 ทำการศึกษาการซึมผ่านของสารสกัด โดยศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดด้วยเครื่อง Franz diffusion cells โดยคิดสัดส่วนของสารสกัดที่ปลดปล่อยออกมาด้วยการใช้ peak area ของสารออกมาสูงสุด ที่ไม่ใช่กรดซิตริก เนื่องจากโครงสร้างกรดซิตริกมีหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิล จึงเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับ PVA ขึ้น<sup>(41)</sup> ทำให้กรดซิตริกไม่สามารถปลดปล่อยออกมาได้ โดยการปลดปล่อยสารสกัดขึ้นกับความหนืดของตำรับมาส์ก (ภาพประกอบ 4 และตาราง 8) ตำรับ F5 - F7 ซึ่งเป็นตำรับที่ผสมระหว่าง PVA กับ NaCMC ที่มีความหนืดสูง จึงทำให้สารสกัดปลดปล่อยออกมาช้ากว่าตำรับ F2 – F4 ซึ่งเป็นตำรับ PVA เดียวที่มีความหนืดต่ำกว่า

เมื่อเปรียบเทียบการปลดปล่อยสารสกัดจากผลมะนาวจากตำรับ F2-F4 ที่ปลดปล่อยจากตำรับที่มีความเข้มข้น PVA สูงขึ้น กลับให้ผลการปลดปล่อยสารสกัดเพิ่มขึ้น อาจเกิดจาก กระบวนการ cross-linking ของ cellulose acetate ซึ่งใช้เป็นเมมเบรนในการศึกษาการปลดปล่อย กับ PVA มีการศึกษาพบว่า การเตรียมเมมเบรน cellulose acetate ที่เกิดกระบวนการ cross-linking กับ PVA ทำให้การไหลของน้ำผ่านเมมเบรนที่มี PVA ดีกว่าเมมเบรน cellulose acetate ที่ไม่ได้ cross-linking กับ PVA โดย PVA ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำของพื้นผิวเมมเบรน การไหลของน้ำจึงเพิ่มขึ้น<sup>(42)</sup> จึงอาจเป็นสาเหตุให้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PVA ในตำรับกลับทำให้สารสกัดจากผลมะนาวปลดปล่อยได้มากขึ้นที่เวลา 2-3 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 4 แสดงผลการศึกษาการปลดปล่อยของสารสกัด



ภาพประกอบ 5 แสดงการ cross-linking ของ Cellulose acetate กับ PVA<sup>(42)</sup>

#### 4.2.2 เสถียรภาพของมาสก์

การศึกษาเสถียรภาพทางกายภาพด้วยวิธี heating-cooling cycle พบว่าความหนืดและพฤติกรรมการไหลของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาว เมื่อผ่านไปทั้ง 2 และ 4 cycles พบว่ามาสก์หนืดมากขึ้น โดยที่ 4 cycles มาสก์มีความหนืดมากกว่า 2 cycles และสูตรตำรับที่มี NaCMC เริ่มมีเนื้อแข็งลักษณะคล้ายแอสลี้ เนื่องจากมีสูญเสีย น้ำบางส่วนเพราะเกิดการระเหยในขณะเก็บที่อุณหภูมิ 45 °C (ตาราง 12) โดยความหนืดของมาสก์ระหว่าง 0 และ 2 cycles มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 แต่ความหนืดของมาสก์ที่ 2 และ 4 cycles ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

การประเมินสมบัติเชิงกลของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาว พบว่าฟิล์มจากมาสก์มีค่า Tensile strength และค่า Young's modulus เพิ่มขึ้น แสดงถึงความแข็งตัวมากขึ้นเมื่อแห้งของมาสก์หลังการเก็บรักษา (ตาราง 13)

การประเมิน drying time ของมาสก์ผสมสารสกัดกากผลมะนาว เมื่อนำมาสก์ที่ผ่านการเก็บ 2 และ 4 cycles พบว่ามาสก์แห้งช้าลง เนื่องด้วยความหนืดที่เพิ่มมากขึ้น (ตาราง 14) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรตำรับ 2-4 ที่มี PVA เป็นสารก่อฟิล์มเดียวกับสูตรตำรับ 5-7 ที่มี NaCMC แล้วนั้น พบว่าสูตรตำรับ 5-7 แห้งเร็วกว่า อาจเนื่องจากการระเหยของของเหลวมากกว่า (ตาราง 14) เมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพ โดยค่า drying time ของ 0, 2 และ 4 cycles ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

จากการสืบค้นเกี่ยวกับเสถียรภาพทางกายภาพของมาสก์ ก็พบเกิดการเปลี่ยนแปลงของความหนืดและ drying time จากงานวิจัยการประเมินความเสถียรภาพทางกายภาพและเคมีของมาสก์ผสมสารสกัดถั่วเหลือง โดยมาสก์มีแนวโน้มที่จะมีความหนืดมากขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงของ drying time สูตรตำรับซึ่งมีส่วนผสมของ PVA 17% และ Guar gum 0.5% เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าตำรับที่มี PVA เดียว<sup>(3)</sup> ซึ่งจากงานผสม PVA กับ NaCMC ก็เช่นเดียวกัน แม้ความหนืดจะเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากพอลิเมอร์เดี่ยว แต่ drying time เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า (ตาราง 14) แสดงถึงการมีเสถียรภาพมากขึ้นเมื่อผสม PVA กับ NaCMC



ตาราง 11 แสดงผลการศึกษาค่าความหนืดและพฤติกรรมการไหลของมาสต์ที่ 2 และ 4 cycles

Formulation	Viscosity ( $\eta$ ), cP						
	Shear rate 1 s <sup>-1</sup>			Shear rate 10 s <sup>-1</sup>			
	0 cycle	2 cycles	4 cycles	0 cycle	2 cycles	4 cycles	
F2	234.56±0.35	739.14±10.56	19818.01±127.75	269.39±0.81	529.44±2.35	2757.83±268.49	
F3	401.51±4.66	3979.35±25.06	170713.27±883.04	394.25±2.04	1959.88±32.98	26859.78±6577.90	
F4	652.34±8.54	123246.95±15417.79	201908.43±16692.07	470.21±5.23	14419.06±1696.23	64005.86±3382.14	
F5	7254.09±8.60	102828.71±7217.50	206899.66±17117.65	4150.23±7.64	12237.61±752.44	28710.08±5118.04	
F6	30618.92±48.75	477331.73±56378.81	603175.60±16075.72	11728.51±164.23	76591.66±6358.46	92210.13±8029.56	
F7	9519.70±7.86	447150.24±246788.43	464456.76±6552.77	5878.67±21.72	59100.72±6486.24	92267.01±5032.97	

ตาราง 12 แสดงสมบัติเชิงกลของวัสดุที่ 2 และ 4 cycles

Formulation	Tensile strength (MPa)				Elongation at break (%)				Young's modulus (MPa)			
	0 cycle	2 cycles	4 cycles	4 cycles	0 cycle	2 cycles	4 cycles	4 cycles	0 cycle	2 cycles	4 cycles	4 cycles
F2	1.37±0.27	15.35±2.66	24.29±1.22	1388.93±285.71	1252.55±204.09	618.42±122.10	3.13±0.54	46.34±14.24	75.89±24.82			
F3	1.01±0.24	23.81±1.41	26.23±2.54	897.86±375.18	1498.08±175.44	1299.40±194.90	2.60±1.00	80.23±16.59	78.32±6.01			
F4	1.56±0.34	23.56±1.86	13.43±2.85	1575.58±293.97	1575.37±278.64	610.90±289.69	3.19±0.54	65.39±11.15	51.50±15.08			
F5	1.65±0.72	17.47±1.69	13.85±1.89	844.14±21.94	637.05±89.17	556.65±96.88	5.05±1.93	64.93±3.12	47.69±10.68			
F6	2.01±0.56	17.83±5.07	14.43±2.40	512.05±140.05	429.90±75.95	346.75±60.12	6.68±0.86	58.45±8.91	48.61±8.79			
F7	1.98±0.28	11.17±2.00	14.55±2.16	942.24±129.46	342.55±70.77	428.34±54.95	4.99±0.75	62.11±17.32	53.93±6.17			

ตาราง 13 แสดงผลการประเมิน drying time ของมาสก์ที่ 2 และ 4 cycles

Formulation	Drying time (min)		
	0 Cycle	2 Cycles	4 Cycles
F2	110.00 ± 0.00	123.33 ± 5.77	116.67 ± 5.77
F3	106.67 ± 5.77	123.33 ± 5.77	113.33 ± 11.55
F4	106.67 ± 5.77	136.67 ± 5.77	116.67 ± 15.28
F5	103.33 ± 5.77	110.00 ± 10.00	110.00 ± 0.00
F6	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	103.33 ± 5.77
F7	156.67 ± 5.77	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาวัสดุหน้าจากรสสารสกัดจากผลมะนาว โดยเริ่มทำการสกัดจากผลมะนาว พบว่าสารสกัดที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งให้ค่า  $EC_{50}$  น้อยกว่าวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดังนั้นวิธีการทำแห้งเยือกแข็งให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากรสสารสกัดจากผลมะนาว ได้ดีกว่า สารสกัดจากผลมะนาวที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 1.67% ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT เมื่อพัฒนาวัสดุหน้าจากรสสารสกัดจากผลมะนาว พบว่าความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ PVA เดี่ยวส่งผลให้ความเหนียวของวัสดุเพิ่มขึ้น วัสดุแห้งช้าลง และค่า tensile strength เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการสร้างพันธะและยึดเกาะกันมากขึ้น เมื่อผสม PVA กับ NaCMC ทำให้ความเหนียวของตัวรับเพิ่มมากขึ้น วัสดุแห้งได้ช้ากว่า มีค่า Tensile strength, Elongation at break และ Young's modulus น้อยกว่าการใช้ PVA เดี่ยว ฟิล์มแห้งจึงมีความอ่อนนุ่มกว่า

การเติมสารสกัดจากผลมะนาว 1% ลงในวัสดุ ทำให้ความเหนียวของวัสดุลดลง วัสดุแห้งเป็นฟิล์มได้ช้าลง ค่า Tensile strength และค่า Young's modulus ลดลง ฟิล์มจากวัสดุที่ผสมสารสกัดจากผลมะนาวมีความอ่อนนุ่มมากกว่าฟิล์มจากเบสวัสดุ แต่ยังยืดหยุ่นได้ดี การปลดปล่อยสารสกัดขึ้นกับความเหนียวของวัสดุ และความเข้มข้นของ PVA วัสดุที่มีความความเหนียวสูง จึงทำให้สารสกัดปลดปล่อยออกมาช้า แต่วัสดุที่เตรียมด้วยความเข้มข้น PVA สูงกลับให้ผลการปลดปล่อยสารสกัดเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการ cross-linking ของ cellulose acetate กับ PVA ทำให้สารสกัดออกมาเพิ่มขึ้นแม้ความเข้มข้น PVA เดียวสูง

แม้ความเหนียวของวัสดุจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบเสถียรภาพ วัสดุที่มีส่วนผสมของ NaCMC แสดงให้เห็นว่ามีเสถียรภาพมากกว่าตัวรับ PVA เดี่ยว และเมื่อพิจารณาจากการศึกษาเสถียรภาพของวัสดุร่วมกับสมบัติของวัสดุผสมสารสกัด จึงสรุปได้ว่าสูตร F5 และ F6 ซึ่งเป็นตัวรับวัสดุที่เตรียมจาก 10% PVA ผสม 1% และ 2% NaCMC ตามลำดับ เป็นตัวรับวัสดุที่เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปทางการค้าต่อไป

#### ข้อเสนอแนะ

1. ทดสอบความเป็นกรด-ด่างของวัสดุทั้งก่อนและหลังผสมสารสกัดเพิ่มเติม
2. ศึกษาชนิดของพอลิเมอร์ที่นำมาผสมเพื่อเป็นสารก่อกเจลเพิ่มเติม
3. ศึกษาการเตรียมตัวรับวัสดุรูปแบบอื่นเพื่อให้วัสดุสามารถแห้งได้เร็วขึ้น

## บรรณานุกรม

1. อรัญญา ม. เครื่องสำอาง. เชียงใหม่ : โอเดียนสโตร์; 2529.
2. จตุพร ว. การทดสอบสมบัติทางกายภาพของพอลิเมอร์. [6 ตุลาคม 2562].  
<http://www.seem.kmutt.ac.th/research/pentec/download/MTT656%20-Chapter%206%20Polymer%20testing1.pdf>
3. Vieira RP, Fernandes AR, Kaneko TM, Consiglieri VO, Pinto CASdO, Pereira CSC, และคณะ. Physical and physicochemical stability evaluation of cosmetic formulations containing soybean extract fermented by bifidobacterium animalis. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2009;45(3):515-25.
4. เสนาะ ข, เทวัญ ธ, พระปลัดสมชาย ป. The use of herbal medicine by the buddha's permission for primary health care. Journal of MCU Peace Studies. 2017;5(2):219-31.
5. บังอร เ. การศึกษาการนำผักพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์ของชุมชนบ้านไร่พิจิตรภายใต้กรอบแนวคิดเศรษฐกิจพอเพียง. The Golden Teak: Humanity and Social Science Journal. 2006;12(2):106-24.
6. อุทัยวรรณ พ. การดูแลสุขภาพแบบองค์รวมด้วยภูมิปัญญาไทย. JOURNAL OF THE POLICE NURSES. 2014;6(2):250-62.
7. ยุทธยา อ. Medicinal plants in that wipagcs textbook. Research Journal Phranakhon Rajabhat: Science and Technology. 2017;12(2):109-34.
8. กัญญ์สิริ จ, พันธ์ยา ว, จุฬารวี ช. อาหารพื้นบ้านภาคใต้วิถีการดำรงชีวิตพิชิตสุขภาพดี the traditional southern food: A treasure for health. The Southern College Network Journal of Nursing and Public Health. 2017;4(2):281-90--90.
9. วรรัตน์ ส, ปิยวรรณ ธ, เพ็ญพักตร์ แ, วิritti จ. อดีตถึงปัจจุบันแนวทางการพัฒนาอาหารท้องถิ่นที่เป็นอัตลักษณ์ของจังหวัดนครปฐม. Journal of Management Science Nakhon Pathom Rajabhat University. 2018;5(1):130-42.
10. พิทยา ภ, อรุณี บ, วชิราภรณ์ ก. The activities of citrus aurantifolia and citrus hystrix juice on coagulase positive staphylococco isolated from dogs (thai). Asia-Pacific Journal of Science and Technology. 2008;13(7):866-72.



11. รุ่งรัตน์ ท. "ข้าวยา" เมืองกราฎง... คุณค่าแห่งภูมิปัญญาพื้นบ้าน" khao yam"  
muangkraphoonga.... Values of indigenous wisdom. Chophayom Journal.  
2018;29(1):313-22.
12. กรุณา จ, กัลยารัตน์ ก. การรักษาโรคด้วยสมุนไพรและตำรับยาโบราณของหมอพื้นบ้าน  
(treatment with herbs and the ancient recipe of traditional medicine). Journal of  
Medicine and Health Sciences. 2017;24(2):48-57.
13. คณะเภสัชศาสตร์ ม. ะนาว. [5 ตุลาคม 2562].  
<http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=105>
14. Aha และ bha ขาวเนียนสดใสจริงหรือ? นิตยสารหมอชาวบ้าน; [6 ตุลาคม 2562].  
<https://www.doctor.or.th/article/detail/2694>
15. พิมพ์สุดา ก. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้่วไตที่ได้รับมะนาวผง.  
จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
16. พิมพ์เพ็ญ พ, นิธิยา ร. Freeze drying / การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง. [6 ตุลาคม 2562].  
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3133/freeze-drying-การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง>
17. จันทิรา โ, อัญชลียา อ. การออกแบบและพัฒนาเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับ  
ห้องปฏิบัติการ.
18. ยุภาพร ส. การพัฒนาวิธีดีฟี่ฟี่เอชบนอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อการวิเคราะห์แบบรูปผลรวดเร็ว  
ของความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในอาหารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.
19. สุสิณห์ ด. การศึกษาระดับผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กธาลัสซี  
เมียที่ได้รับการรักษาด้วยวิตามินซีและวิตามินอี. จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
20. Veerapan P. คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยในหลอดทดลอง.  
IJPS. 2011;7(3):30-8.
21. Senevirathne M, Jeon Y-J, Ha J-H, Kim S-H. Effective drying of citrus by-product by  
high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity. Journal  
of Food Engineering. 2009;92(2):157-63.
22. Berings AOR, Rosa JM, Stulzer HK, Budal RM, Sonaglio D. Green clay and aloe vera  
peel-off facial masks: Response surface methodology applied to the formulation  
design. AAPS PharmSciTech. 2013;14(1):445-55.

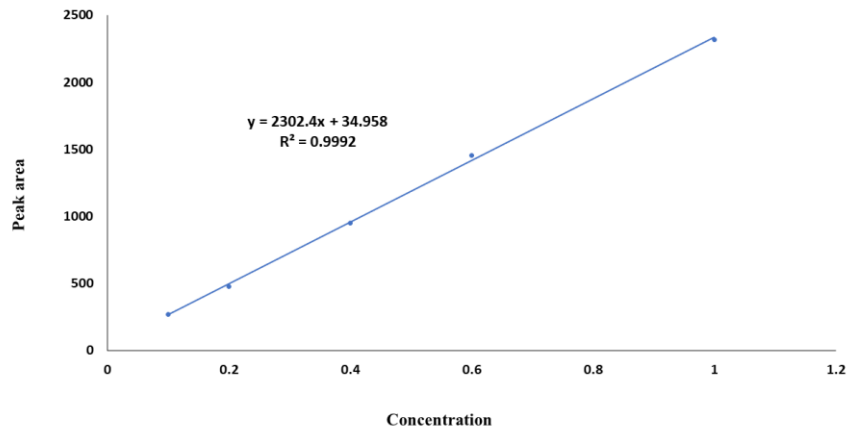
23. ชมพูนุท เ, อุษณา พ, วิชาฎา ศ. Effect of alcohol and co-film former on the physical and mechanical properties of facial mask formulations. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;11(5):25-32.
24. Scherer R, Rybka ACP, Ballus CA, Meinhart AD, Teixeira Filho J, Godoy HT. Validation of a hplc method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry*. 2012;135(1):150-4.
25. สุานิดา ร, สมใจ ข. ปริมาณแอนโทไซยานินฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากซังข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงด้วยวิธีการสกัดแบบอัลตราโซนิก. *Research Journal Phranakhon Rajabhat: Science and Technology*. 2019;14(1):47-61.
26. ณพัฐอร บ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หิ้. *VRU Research and Development Journal Science and Technology*. 2018;13(2):53-63.
27. Zou Z, Xi W, Hu Y, Nie C, Zhou Z. Antioxidant activity of citrus fruits. *Food chemistry*. 2016;196:885-96.
28. สมานสุขแก้ว อ, จาเอาะ ด, โรจนสุวรรณ ส, สนิโซ อ. ผลของการเอนแคบซูเลชันสารสกัดหยาบจากเปลือก มะนาว (*citrus aurantifolia* (christm)) ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *bacillus cereus* atcc 11778 และ *pseudomonas fluorescens* tistr 358.
29. Liaotrakoon W, Liaotrakoon V. ผล ของ การ ทำ แห้ง แบบ ฟน ฝอย และ แบบ แซ่ เยื่อก แห้ง ต่อ ปริมาณ แอน โทไซ ยา นิ น และ กิจกรรม การ ต้าน อนุมูล อิสระ ของ ผง เหน็ด ตับเต้า. *Journal of Food Technology, Siam University*. 2021;16(2):134-47.
30. เมธาจักรเดชา ณ, ศรีโสภา อ. ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบ หม่อนและชาผงใบหม่อนชนิดละลายน้ำ. *Thai Journal of Science and Technology*. 2020;9(2):230-42.
31. Wilhelm KP, Samblebe M, Siegers CP. Quantitative in vitro assessment of n-alkyl sulphate-induced cytotoxicity in human keratinocytes (hacat). Comparison with in vivo human irritation tests. *British journal of dermatology*. 1994;130(1):18-23.
32. Budiman A, Aulifa DL, Kusuma ASW, Kurniawan IS, Sulastri A. Peel-off gel formulation from black mulberries (*morus nigra*) extract as anti-acne mask. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2017;7(9):987-94.

33. Moritz HU. Increase in viscosity and its influence on polymerization processes. *Chemical Engineering & Technology*. 1989;12(1):71-87.
34. นิยมกุลรัตน์ ส. สารเพิ่มความหนืด (viscosity-imparting agents). *คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*; 2548.
35. เวชชากุล ช. การพัฒนาตำรับมาร์กหน้าแบบลอกออกจากไคโตซานและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ผสมผสานสกัดหยาบบัวบก. *คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*. <http://www.esanpedia.oar.ubu.ac.th/e-research/?q=node/1603>
36. Apriani EF, Miksusanti M, Fransiska N. Formulation and optimization peel-off gel mask with polyvinyl alcohol and gelatin based using factorial design from banana peel flour (*musa paradisiaca* l) as antioxidant. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 2022.
37. Nagy S. Vitamin c contents of citrus fruit and their products: A review. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1980;28(1):8-18.
38. เสาวนิตย์ ดาวรัตน์ชัย, จันทอ อ. การพัฒนาตำรับวิตามินซีจากสมุนไพร. *คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล: มหาวิทยาลัยมหิดล*; 2544. <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=18&year=2544>
39. Koosha M, Mirzadeh H. Electrospinning, mechanical properties, and cell behavior study of chitosan/pva nanofibers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2015;103(9):3081-93.
40. Yun Y-H, Na Y-H, Yoon S-D. Mechanical properties with the functional group of additives for starch/pva blend film. *Journal of Polymers and the Environment*. 2006;14(1):71-8.
41. Park H-R, Chough S-H, Yun Y-H, Yoon S-D. Properties of starch/pva blend films containing citric acid as additive. *Journal of Polymers and the Environment*. 2005;13(4):375-82.
42. Ahn HR, Tak TM, Kwon Y-N. Preparation and applications of poly vinyl alcohol (pva) modified cellulose acetate (ca) membranes for forward osmosis (fo) processes. *Desalination and Water Treatment*. 2015;53(1):1-7.

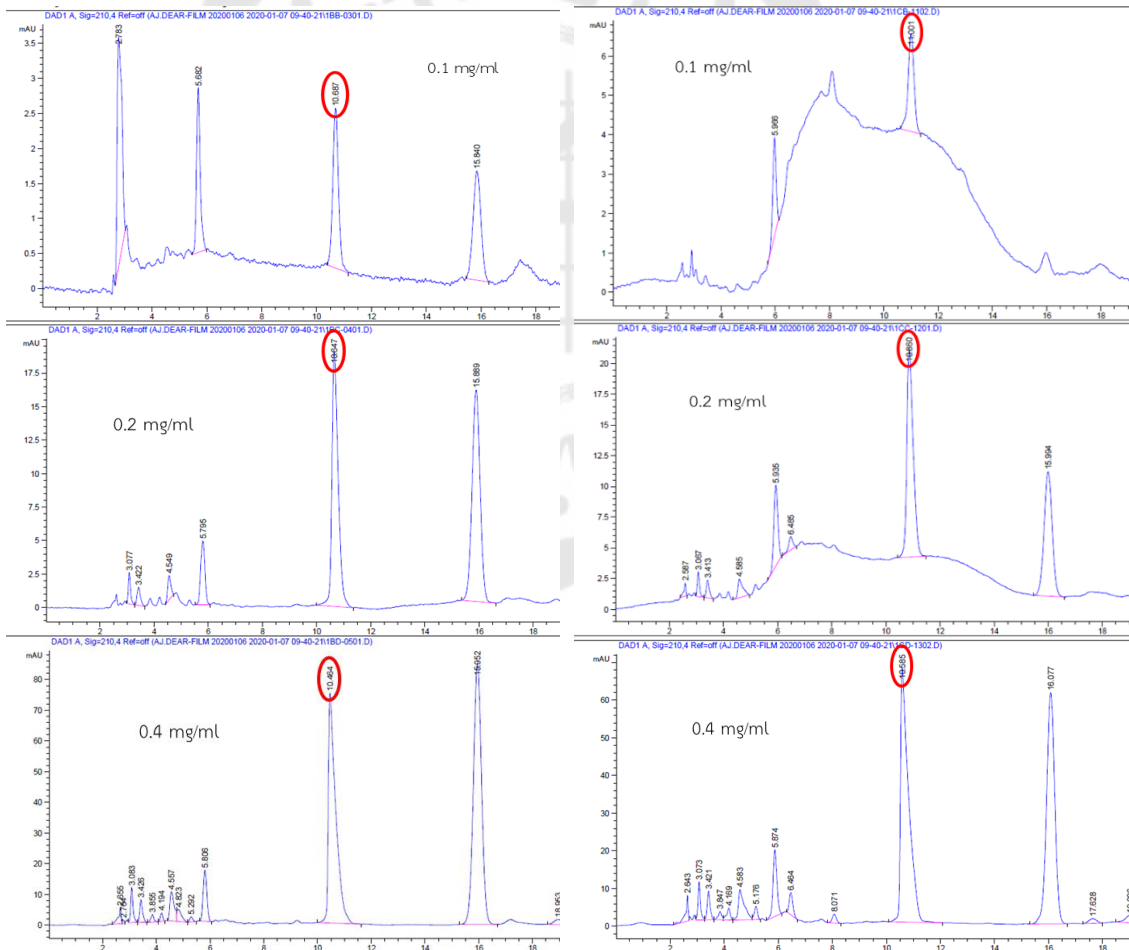


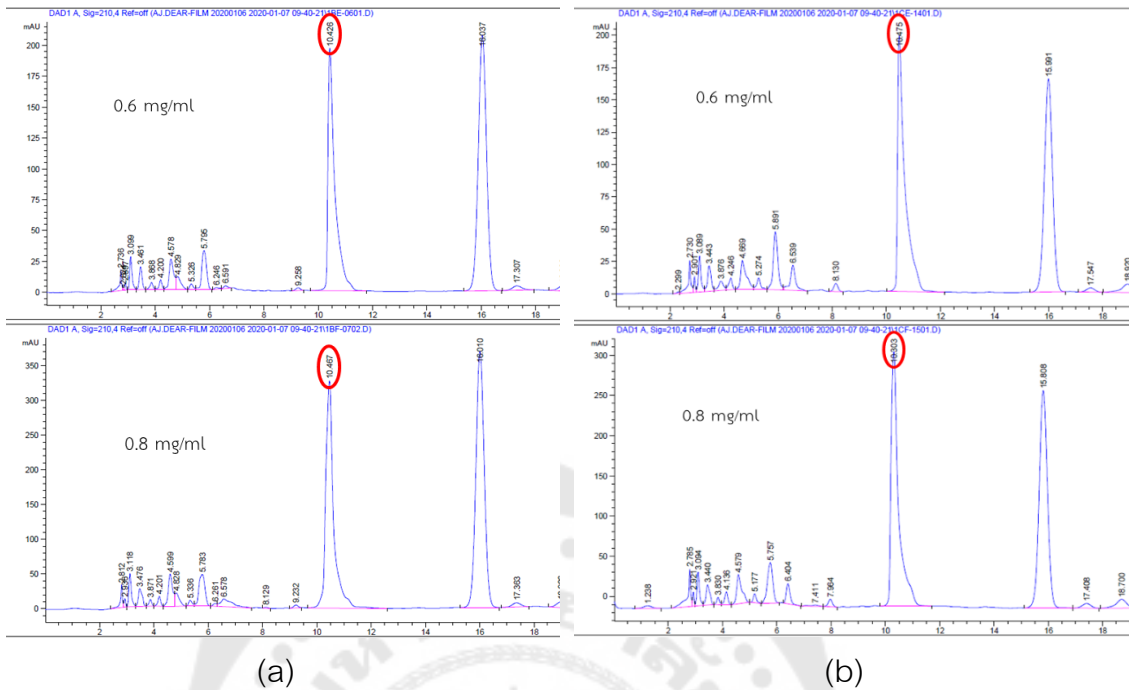
ภาคผนวก

Standard curve of Citric acid



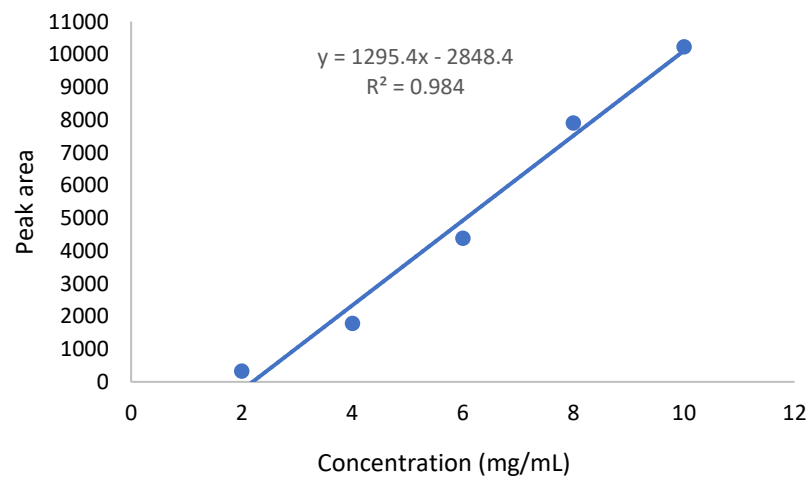
ภาพประกอบ 6 แสดง standard curve ของกรดซิตริก





ภาพประกอบ 7 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดจากผลมะนาว (a) = สารสกัดจากวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง และ (b) = สารสกัดจากวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย

Standard curve of (A)



ภาพประกอบ 8 แสดง standard curve ของสารสกัดจากผลมะนาว

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวภูษิษา รัตนศีล
วัน เดือน ปี เกิด	8 ธันวาคม 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 ปริญญาการแพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต (พท.ป.บ) จาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ธัญบุรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	265/1 ม.17 ต.บางกระสั้น อ.บางปะอิน จ.พระนครศรีอยุธยา

