

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกของผลทุเรียน
เพื่อใช้ทางการแพทย์

The Development of Polysaccharides from Hulls of Durian Fruit
for Pharmaceutical Uses

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ

รองศาสตราจารย์ ดร. วิมลมาศ ลิปิพันธ์

รองศาสตราจารย์ ชิตีรัตน์ ปานม่วง

รองศาสตราจารย์ ดร. ไกรสิทธิ์ อัมพรายน

รองศาสตราจารย์ เครือวัลย์ เอกรักษาศิลป์ชัย

รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ปีงบประมาณ 2542-2543

572.566

๗494

พ. 1

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตุลาคม 2544

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกของผลทุเรียน
เพื่อใช้ทางการแพทย์



The Development of Polysaccharides from Hulls of Durian Fruit
for Pharmaceutical Uses

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ พงษ์สามารถ
รองศาสตราจารย์ ดร. วิมลมาศ ลิปิพันธ์
รองศาสตราจารย์ ธิติรัตน์ ปานม่วง
รองศาสตราจารย์ ดร. ไกรสิทธิ์ อัมพรายนันท์
รองศาสตราจารย์ เครือวัลย์ เอกรักษาศิลป์ชัย
รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
ปีงบประมาณ 2542-2543

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตุลาคม 2544

การพัฒนาสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกของผลทุเรียนเพื่อใช้ทางเภสัชกรรม

ศุภันท์ พงษ์สามารถ วิมลมาศ ลิปิพันธ์ ธิดิรัตน์ ปานม่วง ไกรสิทธิ์ อัมพรายนธ์
 เครือวัลย์ เอกรักษาศิลปชัย และนิจศิริ เรืองรังษี

บทคัดย่อ

เจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) และเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (PF) สกัดได้จากเปลือกแห้งของผลทุเรียน (*Durio zibethinus* L.) ได้สารสกัด PG และ PF ประมาณ 7.3% และ 15.1% ของเปลือกแห้งตามลำดับ การวิเคราะห์ธาตุ พบว่าประกอบด้วย carbon (C) hydrogen (H) และ oxygen (O) ในอัตราส่วนอะตอมเท่ากับ 2.9 : 5.7 : 3.2 และ 3.5 : 6.4 : 3.1 ใน PG และ PF ตามลำดับและไม่พบมี nitrogen (N) และ sulfur (S) ในโพลีแซคคาไรด์ทั้งสองชนิด PG มีส่วนประกอบของเส้นใย 96.3±0.7 % ซึ่งไม่พบมีเส้นใยอยู่ใน PF ผลการวิเคราะห์เกลือแร่ใน PG และ PF พบมีองค์ประกอบของโซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และมีจำนวนน้อยมากของเหล็ก ทองแดง สังกะสีและแมงกานีส องค์ประกอบของน้ำตาลจากการวิเคราะห์ในสารละลาย acid hydrolyzate ของ PG และ PF โดยเทคนิค TLC และ HPLC ให้ผลว่า PG มีส่วนประกอบแสดงให้เห็น spots และ peaks ของน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน rhamnose arabinose fructose glucose และ galacturonic acid พบว่า PF ประกอบด้วย หนึ่ง peak ของน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน glucose ผลของ IR spectra และ X-ray diffraction patterns แสดงให้เห็นว่า PG มี band ของ IR spectrum ที่แตกต่างที่ 1749 cm^{-1} (C=O) 1639 cm^{-1} (COO) และ 1019-1105 cm^{-1} (C-OH) ที่อาจแสดงถึงหมู่ carbonyl ที่ไม่พบอยู่ใน PF พบว่า PG เป็น amorphous powder จากผล X-ray diffraction profiles ขณะที่ PF แสดงให้เห็นเป็น crystalline powder คล้ายกับ cellulose powder พบว่า PG มีขนาดโมเลกุล 500-1,400 kDa จากการตรวจสอบโดยใช้ Sepharose 4B column chromatography การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของ PG ให้ผลว่า PG ทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase และในความเข้มข้น 2% ของ PG สามารถกักเก็บ cholesterol ได้ถึง 86% ไว้ภายใน dialysis membrane จากการศึกษาในหลอดทดลองเมื่อผสม PG และ cholesterol ร่วมกับเกลือแร่ดี และทำการ dialyze นาน 10 ชั่วโมง ใน Ringer lactate buffer pH 7 และมีเพียง 5% ของ cholesterol ถูกปล่อยออกมาภายนอก dialysis membrane PG มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อที่ทดลอง *S. aureus* และ *E. coli* บนจานเลี้ยงเชื้อของอาหารเลี้ยงเชื้อ MNG agar เมื่อมี 1.25% และ 2.5% PG ตามลำดับ จากการทดลอง Agar Diffusion Test โดยเห็นขอบของ inhibition zone ชัดเจน การทดลอง Broth Dilution Test โดยใช้ MN broth

ที่มี glucose และที่มี PG ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า 1%PG ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* พบมี colony count ที่ 24 ชั่วโมงลดลงถึง 0 และ 15% ตามลำดับ ผลการทดลองที่น่าสนใจพบว่า 0.02%PG ใน normal saline ให้ผลเกิดการฆ่าเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* พบมี colony count ลดลงถึง 0 หลังการบ่มเชื้อนาน 24 ชั่วโมงที่ 37⁰ซ ขณะที่พบมีจำนวนเซลล์ระดับต่ำอยู่ใน normal saline และใน distilled water ที่ใช้เป็น control จากการเก็บเชื้อไว้นานถึง 1 และ 2 สัปดาห์ตามลำดับ ผลการทดลองกับสองสายพันธุ์ของ yeast คือ *C. albicans* และ *S. cerevisiae* ไม่ไวต่อการยับยั้งการเจริญโดย PG จากในการทดลองนี้และการใช้ประโยชน์ของ PG และ PF พบว่ามีประโยชน์ใช้ได้ในการเตรียม เกษพืชผลิตภัณฑ์และเตรียมผลิตภัณฑ์อาหาร ได้ผลว่าสารละลายน้ำ 3%PG และสูตรสารผสมของ 2.6%PG กับ 2.7% cellulose derivative polymer (HPMC E15) สามารถใช้เป็นน้ำยาเคลือบในการเคลือบยาเม็ดเคลือบได้ผลที่น่าพอใจ การเตรียมสูตรอาหารโดยใช้ PG ปริมาณ 3% ร่วมกับ 0.5%PF และ 2% fructose พบว่าได้สูตร instant food powder ที่พร้อมผสมน้ำก่อนดื่มที่น่าพอใจ ผลิตภัณฑ์อาหารกระจายตัวและผสมได้รวดเร็วเป็นเนื้อเดียวในน้ำภายใน 5-10 นาที มีเนื้อค่อนข้างเนียน มีตะกอนน้อยมากเมื่อตั้งทิ้งไว้ มีรสเปรี้ยวอมหวานเล็กน้อย มีความหนืด 503 cps. และดื่มได้ง่ายซึ่งอาจเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารทางการแพทย์ประเภทอาหารควบคุมน้ำหนัก

The Development of Polysaccharides from Hulls of Durian Fruit for Pharmaceutical Uses

Sunanta Pongsamart, Vimolmas Lipipun, Thitirat Panmaung,
Krisri Umprayn, Kreawan Ekraksasilpchai and Nijisiri Ruangrangi

ABSTRACT

Polysaccharide gel (PG) and polysaccharide fiber (PF) were isolated from dried fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.). PG and PF were obtained 7.3% and 15.1% of dried hulls, respectively. Elemental analysis showed the presence of carbon (C), hydrogen (H) and oxygen (O) in atomic ratio of 2.9 : 5.7 : 3.2 and 3.5 : 6.4 : 3.1 in PG and PF, respectively. Neither nitrogen (N) nor sulfur (S) was found. PF contained 96.3 ± 0.7 % fiber which was not found in PG. Mineral analysis of PG and PF showed composition of sodium, potassium, calcium, magnesium and traces of iron, copper, zinc and manganese. Sugar components were analyzed from acid hydrolyate of PG and PF by techniques of TLC and HPLC, PG composed of spots and peaks of sugars identical to standard rhamnose, arabinose, fructose, glucose and galacturonic acid. PF showed only one peak of sugar identical to standard glucose. IR spectra and X-ray diffraction patterns showed that PG composed of different bands of IR spectrum at wave number 1749 cm^{-1} (C=O), 1639 cm^{-1} (COO) and $1019\text{-}1105\text{ cm}^{-1}$ (C-OH) which was indicated that only PG appeared to contain carbonyl group; PG was amorphous powder, whereas PF was crystalline powder according to X-ray diffraction profiles. Average molecular weight of PG appeared in a range 500-1,400 kDa determined by using Sepharose 4B column chromatography. Biological properties of PG were studied, PG appeared to resist to α -amylase digestion. PG at 2% concentration trapped upto 86% of cholesterol inside dialysis membrane estimated by technique of semipermeable membrane dialysis, mixing PG and 20 mg. cholesterol in the presence of bile salts and dialyzed for 10 hours in Ringer lactate buffer at pH 7, only 5% of cholesterol was released to outside membrane. PG showed inhibitory activity against tested *S. aureus* and *E. coli* on MNG agar according to Agar Diffusion Test, zone margin of inhibition were sharp and clear delineated with PG at 1.25% and 2.5% concentration against *S. aureus* and *E. coli*, respectively.

Broth Dilution Test was performed using MN broth with glucose and with PG. The results indicated that 1% PG inhibited growth of *E. coli* and *S.aureus*, colony counts at 24 hours were declined to zero and 15% count, respectively. It was interesting that 0.02% PG in NSS showed killing effect against *S.aureus* and *E. coli*, colony counts were decreased to zero after 24 hours incubation at 37⁰C , in comparison with low colony counts observed in controls using NSS and distilled water (DW) during incubation as long as 1 and 2 weeks, respectively. Two yeast strains, *C. albicans* and *S. cerevisiae*, were not susceptible to PG by this assays. PG and PF were found useful in pharmaceutical and food preparations. PG at 3% concentration and mixture of 2.6% PG with 2.7% cellulose derivative polymer (HPMC E15) produced satisfactory coat in film coated tablet. Food preparation composed of 3% PG with 0.5% PF and 2% fructose showed satisfactory instant food powder preparation that ready to mix with water before drink. Food product was quickly dispersed and homogeneously mixed in water within 5-10 min., and produced rather smooth texture, 503 cps. viscosity, sour and sweet taste, easy to drink. Food product appeared suitable for medical uses as diet food preparation.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน คณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีงบประมาณ 2542-2543

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานและบุคลากรที่ให้ความอนุเคราะห์ในงานวิจัยดังต่อไปนี้

1. ศูนย์เครื่องมือ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการอำนวยความสะดวกการใช้เครื่องมือ ได้แก่ HPLC, Atomic Absorption Spectrometer CHNS/O analyzer Scanning Electron Microscope Master Sizer และ X-ray Diffractometer และ IR Spectrometer

2. คุณอนูรี แซ่ตั้ง คุณปิณฑร มิ่งโมฬี คุณรัชนิกร เจวประเสริฐพันธ์ คุณสุนทรียา ธรรมเมือง คุณอรพรรณ สุริยพันธ์ คุณบุศรา ใจสุทธิ คุณชลธิชา สุธีรังกูร

ในด้านเทคนิคของการทดลองจุลชีววิเคราะห์และเทคนิคการเตรียมน้ำยาเคลือบเมล็ดยาของการทดลองการเคลือบเมล็ดยา

3. คุณสุปราณี สุทธิไพโรจน์สกุล คุณวราภรณ์ เกิดดิษฐ์ และ คุณชุตินา ทิพย์กุล ในการทำหน้าที่ผู้ช่วยวิจัยในการวิจัยครั้งนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

ชื่อเรื่องและชื่อผู้วิจัย.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	iv
กิตติกรรมประกาศ.....	vi
สารบัญเรื่อง.....	vii
สารบัญตาราง.....	ix
สารบัญรูป.....	xi
บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
วัสดุและวิธีวิจัย.....	4
วัสดุ.....	4
วิธีวิจัย.....	5
การศึกษาการแยกสารโพลีแซคคาไรด์ไฟเบอร์ (polysaccharide fiber; PF).....	5
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)	5
การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัด PG และ PF.....	8
การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัด polysaccharide gel (PG).....	9
คุณสมบัติของ PG ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์.....	9
คุณสมบัติของ PG ต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase.....	11
คุณสมบัติของ PG ต่อการกักเก็บสารลิปิดพวก cholesterol.....	12
การศึกษาการใช้ประโยชน์ของสารสกัด polysaccharide gel (PG).....	13
การใช้สารสกัด PG ในการเคลือบเม็ดยา.....	13
การใช้สารสกัด PG และ PF ในผลิตภัณฑ์อาหารลดไขมัน.....	21
ผลการวิจัย.....	25
การสกัดและแยกสาร PG และ PF จากเปลือกแห้งของผลทุเรียน.....	25
องค์ประกอบทางเคมีของสาร PG และ PF.....	25
คุณสมบัติทางกายภาพของสาร PG และ PF.....	35

คุณสมบัติทางชีวภาพของ PG.....	47
ผลของสารสกัด PG ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	47
ผลของสารสกัด PG ต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase.....	49
ผลของสารสกัด PG ต่อการกักเก็บสารลิปิด cholesterol.....	58
การใช้ประโยชน์ของสารสกัด PG ในการเตรียมตำรับยาและอาหาร.....	63
การใช้สารสกัด PG ในการเคลือบเม็ดยาในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบ.....	63
การใช้สารสกัด PG และ PF ในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหาร.....	90
วิจารณ์และสรุป.....	93
การสกัดและแยกสาร โพลีแซคคาไรด์ PG และ PF จากเปลือกแห้งของผลทุเรียน.....	93
องค์ประกอบทางเคมีของสาร โพลีแซคคาไรด์ PG และ PF.....	93
คุณสมบัติทางกายภาพของโพลีแซคคาไรด์ PG และ PF.....	94
คุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ PG.....	96
คุณสมบัติของ PG ต่อเชื้อจุลินทรีย์.....	96
คุณสมบัติของ PG ต่อการย่อยด้วย α -amylase.....	97
คุณสมบัติของ PG ต่อการกักเก็บสารลิปิด cholesterol.....	98
การใช้ประโยชน์ของสารสกัด PG ในตำรับยาและอาหาร.....	99
การใช้ PG ในการเคลือบเม็ดยาในผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบ.....	99
การใช้ PG ในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหาร.....	99
เอกสารอ้างอิง.....	100

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1-1	สรุปผลของการสกัดและแยกสาร polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) จากเปลือกของผลทุเรียน.....26
2-1	องค์ประกอบของน้ำ เถ้า และเส้นใย ของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF).....27
2-2	องค์ประกอบของธาตุหลักของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF).....28
2-3	องค์ประกอบของเกลือแร่ของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF).....29
2-4	องค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF).....30
3-1	คุณสมบัติอื่นๆของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber(PF).....45
3-2	เปรียบเทียบคุณสมบัติเฉพาะของ polysaccharide fiber (PF) กับ Microcrystalline cellulose (MCC) และ powder cellulose.....46
4-1	ผลของ polysaccharide gel (PG) ต่อการเจริญของ bacteria และ yeast โดยวิธี agar diffusion method48
4-2	การเจริญของ <i>E. coli</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MN และใน normal saline ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose.....50
4-3	การเจริญของ <i>S. aureus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MN และใน normal saline ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose 51
4-4	การเจริญของ <i>E. coli</i> ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose.....52
4-5	การเจริญของ <i>S. aureus</i> ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose.....53
4-5	การเจริญของ <i>S. cerevisiae</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud broth without glucose ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose.....54
4-7	การเจริญของ <i>C. albicans</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud broth without glucose ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose.....55

4-8	การเจริญของ <i>S. cerevisiae</i> ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose.....	56
4-9	การเจริญของ <i>C. albicans</i> ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose.....	57
4-10	แสดงผลการย่อยสารสกัด PG ด้วย α -amylase เปรียบเทียบกับ soluble starch และ glucomannan.....	59
4-11	ผลของ polysaccharide gel (PG) ต่อการกักเก็บ cholesterol ภายใน dialysis membrane ภายหลังการทำ dialysis สารผสมของ PG กับ cholesterol ที่มีเกลือน้ำดี ภายใน dialysis bag ใน Ringer Lactate Buffer pH 7 เป็นเวลา 30 นาที.....	60
5-1	คุณสมบัติของฟิล์มเคลือบสัมพันธ์กับ % Strain at break และ Young's Modulus.....	67
5-2	ผลการวัดหาค่า tensile strength ของสูตรตำรับต่าง ๆ.....	69
5-3	แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐาน ที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์มระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	70
5-4	แสดงค่า tensile strength ของสูตรตำรับ F5.....	70
5-5	แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบกับคุณสมบัติฟิล์มระหว่าง HPMC E5, HPMC E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG).....	85
5-6	ตารางแสดงปริมาณและความหนาของแผ่นฟิล์ม.....	86
5-7	แสดงค่า tensile strength ของแผ่นฟิล์มของตำรับ F5A.....	88
5-8	แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบคุณสมบัติฟิล์มระหว่าง HPMC E5, HPMC E15 และ สารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG).....	89
5-9	สรุปผลของตำรับอาหารผงสำเร็จรูปสูตรตำรับเตรียมจาก polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF).....	91-92

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

- 2-1 TLC chromatogram ของสารละลาย PG จาก acid hydrolyzate บน silica gel 60 F₂₅₄ บน aluminum plate Mobile phase ใช้ solvent system ประกอบด้วย ethylacetate : acetic acid : water (4 : 2 : 3) spray reagent ประกอบด้วย 1-naphthol ใน ethanol และ sulfuric acid.....31
- 2-2 HPLC chromatograms ของ (a) สารละลายผสมของน้ำตาลมาตรฐาน 0.5 μ moles Rhamnose Arabinose Fructose และ Glucose ; (b) acid hydrolyzate ของโพลีแซคคาไรด์ เจล (PG), 20 μ l ; (c) PG ผสม 0.5 μ moles Rhamnose ; (d) PG ผสม 0.5 μ moles Arabinose; (e) PG ผสม 0.5 μ moles Fructose ; (f) PG ผสม 0.5 μ mole Glucose. Column, Lichrospher, NH₂ (5 μ m); Mobile phase, 90% acetonitrile in water; Flowrate, 1.8 ml/min ; Detector, refractive index (RI); Recorder speed, 4 mm/min.....32
- 2-3 TLC chromatogram ของสารละลาย PF จาก acid hydrolyzate บน silica gel G ใช้ mobile phase ประกอบด้วย acetone : methanol : water (75 : 10 : 15).33
- 2-4 HPLC chromatograms ของ (a) น้ำตาลมาตรฐาน Mannose (Man) Glucose (Glu) และ Galactose (Gal); (b) acid hydrolyze ของ polysaccharide fiber (PF); (c) acid hydrolyzate ของ PF ที่เติม 2 μ mole Man; (d) acid hydrolyzate ของ PF ที่เติม 0.7 μ mole Glu; (e) acid hydrolyzate ของ PF ที่เติม 2 μ mole Glu; Column, amino silica; mobile phase, 90% acetonitrile ในน้ำ; flowrate, 1.8 ml/min.; recorder speed, 4 mm/min; detector, IR spectrometer.....34
- 3-1 Scanning electron micrographs ของผงแห้งของ (a) polysaccharide gel (PG) ทำให้แห้งโดยอบที่ 50^oซ ปั่นเป็นผงและผ่านร่อนขนาด 60 mesh; (b) PG ทำให้แห้งโดย freeze drying (c) PG จาก freeze drying ปั่นเป็นผง; (d) PG ทำให้แห้งโดย spray drying.....37
- 3-2 Scanning electron micrographs ของผงแห้งของ (a) Microcrystalline cellulose ; (b) powder cellulose ; (c) polysaccharide fiber (PF) ทำให้แห้งโดยอบใน hot air oven บดเป็นผงและผ่านร่อนขนาด 80 mesh ; (d) PF ทำให้แห้งโดย freeze dryer และบดเป็นผง.....38

รูปที่

- 3-3 การวิเคราะห์ particle size distribution ของสารสกัด PG และ PF เปรียบเทียบกับ MCC และ powder cellulose (a) PG (b) PF (c) MCC (d) powder cellulose.....39
- 3-4 แสดงค่า Molecular weight ของ PG จากการทดลองโดยวิธี Gel filtration chromatography ของ Sepharose 4B ขนาด column (3.4 X 95 cm) flowrate 0.45 ml/min.....40
- 3-5 เปรียบเทียบ IR Spectra ของ PG และ PF จากเปลือกผลทุเรียน แสดงให้เห็น peaks ที่แตกต่างกันที่ 1749 cm^{-1} (C=O) ที่ 1639 cm^{-1} (COO) และที่ 1019 cm^{-1} (C-OH); PG = polysaccharide gel, PF = polysaccharide fiber.....41
- 3-6 เปรียบเทียบ IR spectra ของ PF, MCC และ powder cellulose. MCC = microcrystalline cellulose, PF = polysaccharide fiber จากเปลือกทุเรียน.....42
- 3-7 เปรียบเทียบ X-ray Diffraction patterns ระหว่าง polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) จากเปลือกผลทุเรียน PG แสดงลักษณะของ amorphous powder และ PF แสดงลักษณะเป็น crystal powder.....43
- 3-8 เปรียบเทียบ X-ray Diffraction patterns ของ PF และ powder cellulose แสดงให้เห็น ลักษณะของ crystallinity ในผงของ PF ที่คล้ายกับ cellulose.....44
- 4-1 แสดงปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บภายใน dialysis membrane ที่มี PG ใน ความเข้มข้นต่างๆที่ 0-2% ภายหลังจากการทำ dialysis เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง.....61
- 4-2 แสดงปริมาณ cholesterol ที่อยู่ภายนอก dialysis membrane ที่มี PG ใน ความเข้มข้นต่างๆที่ 0-2% ภายหลังจากการทำ dialysis เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง.....62
- 5-1 แสดงความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของฟิล์มเคลือบของ (A)สูตร F1B ประกอบด้วย 4%HPMC E5, 2.7% HPMC E15 และปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (B)สูตร F4B ประกอบด้วย 2% สารสกัดเปลือกทุเรียน และปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (C)สูตร F5B ประกอบด้วย 2.7% HPMC E15, 2.6% สารสกัดเปลือกทุเรียนและปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (D)สูตร F6B ประกอบด้วย 3% สารสกัดเปลือกทุเรียน และปริมาณ film coat solution 2.3 ml.....68
- 5-2 แสดงความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเคลือบต่าง ๆ (A) สูตร F5A ประกอบด้วย 10% PEG 6000 : (B) สูตร F5B ประกอบด้วย 26.4% PEG 6000 : (C)สูตร F5C ประกอบด้วย 15% PEG 6000 : (D) สูตร F5D ประกอบด้วย 20% PEG 6000 : (E) สูตร F5E ประกอบด้วย 30% PEG 6000.....71

5-3	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 1.....	73
5-4	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 2.....	74
5-5	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 3.....	75
5-6	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 4.....	76
5-7	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 5.....	77
5-8	ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 6.....	78
5-9	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 1.....	79
5-10	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 2.....	80
5-11	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 3.....	81
5-12	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 4.....	82
5-13	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 5.....	83
5-14	ภาพถ่ายจากอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบ โดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 6.....	84
5-15	แสดงความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเคลือบต่าง ๆ : (A)F5A1 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 2.3 ml, (B) F5A2 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 2.8 ml., (C) F5A3 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 3.3 ml.....	87



บทนำ

ในพืชบางชนิดพบว่ามีส่วนประกอบของโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนอยู่ร่วมกับโครงสร้างของเซลล์ลิวโลส ได้แก่ สารโพลีแซคคาไรด์พวกเพคตินซึ่งพบได้ในผลส้ม ผลแอปเปิ้ล เป็นต้น พืชเหล่านี้สามารถให้ผลผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่มีคุณค่าในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหาร (1) ดังนั้นการค้นคว้าวิจัยเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มดังกล่าวจากพืชจึงน่าสนใจสำหรับประเทศที่มีผลผลิตจากการเกษตรสูง เช่น ประเทศไทย การวิจัยด้านนี้จะมีคุณค่าและสามารถนำผลงานมาเป็นประโยชน์ในการพัฒนาใช้ผลิตผลการเกษตร รวมทั้งสิ่งเหลือทิ้งของมันได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดและการนำขยะจากภาคเกษตรกรรมมาทำให้เกิดผลผลิตที่มีมูลค่าเพิ่มช่วยลดค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ในการกำจัดขยะเหลือทิ้งเหล่านั้นได้ จะเป็นเป้าหมายสำคัญที่คณะผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาอย่างครบวงจร

ปัจจุบันสารต่างๆ ที่ใช้ช่วยเตรียมยาเม็ด ยาน้ำแขวนตะกอน ยาน้ำอิมัลชันและครีม หรือสารช่วยเตรียมอาหารพวกแยมและเยลลี่ มักจะใช้วัตถุดิบนำเข้าต่างๆ ได้แก่พวก cellulose derivatives starch derivatives gum ต่างๆ และ pectin เป็นต้น สารเหล่านี้จะทำหน้าที่ต่างๆกัน ได้แก่ ใช้เป็น disintegrator binder และ film coat ในยาเม็ดเป็น thickening agent ในยาน้ำแขวนตะกอน อิมัลชันหรือยาเตรียมพวกครีม หรือเป็นสารก่อเจลในยาและอาหารเยลลี่และแยมเป็นต้น วัตถุดิบเหล่านี้หลายชนิดที่มีราคาแพงมีมูลค่านำเข้าสูงในแต่ละปี ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะพัฒนาการใช้วัตถุดิบภายในประเทศอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมการผลิตเภสัชผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้ดำเนินการวิจัยมาแล้วในระดับหนึ่งได้ผลที่น่าพอใจโดยได้สกัดสาร polysaccharide จากเปลือกผลทุเรียน (2) ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากผลผลิตภาคเกษตรกรรมที่แต่ละปีมีวัสดุเหลือทิ้งอยู่ในปริมาณที่มากมายเป็นปัญหาการกำจัดทิ้ง สารสกัดที่ได้มานี้ได้ทำการวิจัยเพื่อใช้ประโยชน์ในยาเตรียมต่างๆ ได้แก่ เป็นสารช่วยกระจายตัวและสารยึดเกาะในการเตรียมยาเม็ด (3,4) เป็นสารช่วยแขวนตะกอนและสารเพิ่มเนื้อในยาน้ำแขวนตะกอน อิมัลชันและใช้ในการเตรียมอาหารประเภทเยลลี่และแยม (5,6) การศึกษาองค์ประกอบน้ำตาลเบื้องต้นพบว่าสารสกัดคาร์โบไฮเดรตนี้ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาล ได้แก่ glucose rhamnose arabinose และ fructose จับกันเป็น โมเลกุลใหญ่มีคุณสมบัติของตัวได้ในน้ำเป็นเจล (2) จากการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นแล้วคาดว่าสารสกัดที่ได้นี้นอกจากสามารถใช้ประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นแล้วมีแนวโน้มสามารถนำมาใช้ทางเภสัชกรรมได้หลายรูปแบบได้แก่ ใช้เคลือบยาเม็ด ใช้เป็นแผ่นฟิล์มปลดปล่อยด้วยซ้ำๆ รวมทั้งการใช้ในรูปแบบของยาควบคุมน้ำหนัก (diet food) หรือยาระบายเป็นต้น (1) จากการทดลองดูความปลอดภัยของการบริโภคสารโพลีแซคคาไรด์ ในสัตว์ทดลองหนูถีบจักรยังไม่พบการเกิดพิษรุนแรงที่จะทำให้สัตว์ทดลองตาย ขณะเดียวกันมีผลที่แสดงให้เห็นว่าการให้กินสารสกัดส่วนของโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide; PG) หรือ DFII จะทำให้ระดับ cholesterol ในเลือดของสัตว์

ทดลองมีระดับต่ำ (7,8) และจากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า ส่วนของโพลีแซคคาไรด์ (PG) สามารถกักเก็บสารอาหาร cholesterol ไว้ภายในได้ (9) สารสกัดโพลีแซคคาไรด์ (PG) ดังกล่าวสามารถสกัดได้ประมาณ 10% จากเปลือกทุเรียนแห้งและส่วนของกากที่เหลือยังสามารถนำมาเตรียมสาร polysaccharide fiber (PF) ซึ่งคล้ายพวก cellulose fiber พบว่าได้ผลผลิตประมาณ 30% ของกากที่เหลือ (10) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายพวก cellulose fiber อื่นๆ

สารเซลลูโลสและอนุพันธ์ของเซลลูโลสถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางใน อุตสาหกรรมต่างๆ รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตยาได้แก่ ใช้เป็น diluent binder และ film former เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง microcrystalline cellulose จะใช้ประโยชน์มากใน อุตสาหกรรมการเตรียมยาเม็ด แหล่งของเซลลูโลสจะพบเป็นสารธรรมชาติของพืชต่างๆ ประกอบด้วย polymer ของ glucose units ซึ่งแตกต่างจากแป้งคือโมเลกุลของ glucose จะต่อกันด้วย β -1,4 linkage ทำให้ได้เป็นสายเส้นตรงของน้ำตาล glucose แทนที่จะมีรูปร่างเป็นเกลียวของสาย glucose ในแป้งซึ่งต่อกันด้วย α -1,4 linkage เป็นสาย polymer ของ amylose หรือแป้ง (starch) จึงทำให้คาดว่าขยะจากเปลือกทุเรียนนอกจากจะสามารถแยกเอาสารพวก polysaccharide gel ยังน่าจะแยกได้สาร polysaccharide fiber ซึ่งอาจจะเป็นสารพวก cellulose fiber ออกมาใช้ประโยชน์เชิงอุตสาหกรรมได้ ผลที่ได้จะเป็นการเพิ่มมูลค่าของสารเหลือทิ้งจากภาคเกษตรกรรมทำให้สามารถนำผลผลิตเหล่านี้มาใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

เนื่องจากได้มีการศึกษาวิจัยมาในระดับหนึ่งแล้วพบว่าสารสกัดจากเปลือกทุเรียนมีความปลอดภัยในสัตว์ทดลองเมื่อใช้กินระยะยาวโดยการป้อนทางปาก และพบว่าสารสกัดดังกล่าวเป็นสารพวก polysaccharide ที่มีคุณสมบัติดูดน้ำและพองตัวออกเป็นเจลเหนียว ดังนั้นจึงสามารถอยู่ในกระเพาะและลำไส้ได้นานทำให้น่าสนใจศึกษาคุณสมบัติดูดซับสารอาหารพวกไขมันเช่นเดียวกับสารเส้นใยอาหารอื่นๆ นอกจากนั้นจากผลการวิจัยในเบื้องต้นพบว่าเมื่อให้หนูกินสารสกัดโพลีแซคคาไรด์เจล (PG) DF_{II} จากเปลือกทุเรียนแม่ในขนาดต่ำคือ 0.25 ก/กก/วัน ดูเหมือนช่วยลดระดับของ cholesterol ในเลือด ผลการวิจัยพบว่าอยู่ที่เกณฑ์ค่าปกติระดับต่ำ (8) นอกจากนั้นการศึกษาเบื้องต้นยังพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีคุณสมบัติทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase ในน้ำลาย (9) ทำให้ถูกขับถ่ายออกจากทางเดินอาหารเป็นการเพิ่มกากอุจจาระ ซึ่งเป็นผลดีต่อระบบขับถ่ายดีขึ้นและพบว่าสารสกัด polysaccharide อาจช่วยลดการดูดซึมอาหารพวกลิพิดที่ศึกษาในหลอดทดลอง (9) ยิ่งกว่านั้นคณะผู้วิจัยยังพบว่า สารสกัด polysaccharide gel (PG) นี้ยังมีความคงตัวของเจลในสภาวะกรด pH ประมาณ 3-6 และพบว่า 1% เจลสามารถห้ามการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงอาจนำสารสกัดมาพัฒนาเป็น gel base ที่คิงของยา เคื่องสำอาง หรือครีม/เจลบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของยาที่ละลายได้ง่ายที่คงตัวดีใน pH เป็นกรดได้แก่ วิตามิน ซี หรือวิตามิน อี เป็นต้น ซึ่งคาดว่าจะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่คงตัวดีของผลิตภัณฑ์ยาเหล่านั้น

คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนที่เอื้อต่อการพัฒนาเป็นอาหารทางการแพทย์ หรือใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ต่างๆ สำหรับผิวหนัง ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลมาสนับสนุนเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากผลิตผลทางเกษตรกรรมในการพัฒนาเพิ่มมูลค่าและใช้ผลผลิตธรรมชาติภายในประเทศอันนำไปสู่การพึ่งพาตนเองได้อย่างแท้จริง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. แยกสาร โพลีแซคคาไรด์ไฟเบอร์จากกากที่เหลือหลังการสกัด โพลีแซคค์ไรด์เจล จากเปลือกของผลทุเรียน
2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลที่ได้จาก aqueous extract และสาร โพลีแซคคาไรด์ไฟเบอร์
3. ศึกษาผลทางชีวภาพของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
4. ศึกษาการใช้ประโยชน์ของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยา
5. ศึกษาการใช้ประโยชน์ของสาร โพลีแซคคาไรด์เจลในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหารลดน้ำหนัก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัสดุและวิธีวิจัย

1. วัสดุ

1.1 สารเคมี

Citric acid Sodium hexametaphosphate Sodium potassium tartrate tetrahydrate ชนิด Pure grade จาก CARLO ERBA. Potassium hydroxide Copper sulfate Thiourea Potassium fluoride Potassium iodide Soluble starch Magnesium chloride Calcium chloride Potassium chloride Sodium chloride Sodium hydroxide ชนิด GR grade จาก E. Merck Darmstadt, Germany. Ethyl cellulose Diethyl phthalate Titanium dioxide Pyridine Polyethylene glycol Kieselguhr ชนิด purified grade Potassium bromide ชนิด IR grade Silica gel G TLC silica 60 F₂₅₄ TLC plate จาก E. Merck Darmstadt Germany. Cholesterol Maltose monohydrate Calcium gluconate Methyl cellulose Sorbic acid Isopropyl alcohol Galacturonic acid Glucuronic acid ชนิด AR grade จาก Sigma Chemical Co. U.S.A. Glucose Fructose Galactose Mannose Rhamnose Arabinose Xylose Maltose Lactose Sucrose ชนิด analytical reagent grade จาก Fluka-Garantie Switzerland. Ether ชนิด AR grade จาก J.T. Baker Co.

Hexane Chloroform Acetonitrile Propan-2-ol Dichloromethane Methanol ชนิด HPLC grade จาก Mallinckrodt. Glycerin Propylene glycol ชนิด pure grade จาก May & Baker Ltd, England. Carboxy methyl cellulose Sodium alginate Carbomer จากห้างขายยา ศรีจันทร์สหโอสถ กทม. Ethanol จากองค์การสุรา กรมสรรพสามิต

Hydroxypropyl methylcellulose E 5 (HPMC E 5), Hydroxypropyl methylcellulose E 15 (HPMC E 15), Propylene glycol (PEG 6000), Titanium dioxide, Talcum, Lactose, Corn starch Magnesium stearate ชนิด pure grade จาก E. Merck Co.

Magnesium sulfate Ammonium dihydrogen phosphate ชนิด pure grade จาก E. Merck Co. Agar Magnesium sulfate Ammonium dihydrogen phosphate Peptone from soymeal, Peptone from casein, Tryptic soy agar (TSA), Tryptic soy broth (TSB), Brain heart infusion broth, Brain heart infusion agar, ชนิด pure grade จาก E. Merck Co. Agar Sabouraud dextrose agar, Sabouraud dextrose broth, Mueller hinton broth, Mueller hinton agar, จาก Difco Laboratories

1.2 สารตัวอย่าง

เปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทอง เก็บจากตลาดที่เป็นขยะจากการแกะเนื้อขาย เป็นทุเรียนที่รับมาจากสวนในจังหวัดจันทบุรี ระยองและปราจีนบุรี

1.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ทดลอง

เชื้อ bacteria ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P และ *Escherichia coli* ATCC 25922

เชื้อ yeast ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 และ *Candida albicans* ATCC 10230

2. วิธีวิจัย

2.1 การศึกษาการแยกสาร polysaccharide fiber (PF) จากกากเปลือกทุเรียนที่แยกโพลีแซคคาไรด์เจลออกแล้ว

2.1.1 เก็บรวบรวมเปลือกทุเรียนมาบดละเอียด เก็บแช่แข็งจนกว่าจะนำมาอบให้แห้ง ประมาณ 200 กิโลกรัม หลังจากการอบแห้งได้เปลือกแห้งประมาณ 20% ของน้ำหนักสด ทำการบดละเอียดและป่นเป็นผงใน hammer mill ก่อนนำมาสกัดส่วน โพลีแซคคาไรด์เจล (polysaccharide gel) PG ตามวิธีที่พัฒนาจากวิธีของ Pongsamart and Panmaung (2) และ ส่วนของ โพลีแซคคาไรด์ไฟเบอร์ (polysaccharide fiber) PF ตามวิธีพัฒนาจากวิธี Padmadisastra, et al. (11)

2.1.2 เปลือกแห้งสามารถแยกส่วนสกัดของโพลีแซคคาไรด์เจล (PG) ได้ประมาณ 7% และ เหลือ fiber residue เป็นกากของส่วนไฟเบอร์ประมาณ 50-60%

2.1.3 ส่วนของกากจากข้อ 2.1.2 นำมาไฮโดรไลส์ ด้วย 1.5% โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรอง ล้างน้ำจนหมดค่า แล้วฟอกสีด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (4% คลอรีน) กรองแล้วล้างน้ำจน หมดกลิ่นคลอรีน อบแห้ง

2.1.4 นำตะกอนมาไฮโดรไลส์ด้วย 1.8 M กรดไฮโดรคลอริก แล้วล้างน้ำจนหมดกรด วัด pH เท่ากับ 7 ฟอกสีด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (4% คลอรีน) ล้างน้ำ ล้างกรดไฮโดรคลอริก เจือจางและล้าง 0.5 M NaCl และล้างน้ำจนหมดคลอไรต์ และอบแห้งได้ตะกอนขาวของ polysaccharide fiber (PF) ประมาณ 30% ของกากเปลือกทุเรียนที่สกัด PG แล้วหรือประมาณ 15% จากเปลือกแห้ง

2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสาร polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

2.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุหลัก (Elemental Analysis) ของธาตุต่างๆ ได้แก่ C H N S และ O โดยนำสาร polysaccharide gel (PG) ส่วนที่สกัดด้วยน้ำหลังการ treat ด้วย oxalic acid และสาร polysaccharide fiber (PF) มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบของธาตุ C,H,N,S และ O โดยใช้เครื่อง CHNS/O analyser (Perkin Elmer PE 2400 Series II) หลังจากอบตัวอย่าง 1 กรัม ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 5 ชั่วโมงและนำไปวิเคราะห์หาธาตุ C H N S และ O

2.2.2 การวิเคราะห์ส่วนประกอบของเกลือแร่ (Mineral Analysis) (12) ทำการตรวจวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างสาร polysaccharide gel (PG) และ สาร polysaccharide fiber (PF) มาวิเคราะห์หาสารเกลือแร่โดยมีขั้นตอนดังนี้

- (1) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน porcelain crucible
- (2) เติมกรดกำมะถันเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) จนตัวอย่างเปียก
- (3) เผาให้ร้อนบน hot plate จนหมดควัน เติมกรดไนตริก 2 ม.ล. และกรดกำมะถันเข้มข้น 5 หยด ให้ความร้อนต่อจนหมดควัน
- (4) นำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ $550^{\circ}C$ จนเผาไหม้สมบูรณ์ได้เถ้าสีขาวจึงนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
- (5) นำไปย่อยโดยการเติมกรดเกลือ (6M HCl) 4 ม.ล. ปิดฝาแล้วต้มให้ร้อนบนอ่างน้ำร้อน (water bath) เป็นเวลา 15 นาที จึงเปิดฝาทิ้งแล้วต้มต่อจนแห้ง เติมกรดเกลือ 1 หยด และน้ำ 10 ม.ล. ต้มให้ร้อนต่อ 2 นาทีจึงปรับ pH ให้เป็นด่างด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6M NH_4OH)
- (6) เจือจางด้วยน้ำเป็น 25 ม.ล. จึงปรับ pH เป็น 3-4 ด้วยกรดน้ำส้ม (1M CH_3COOH) กรองผ่านกระดาษกรองแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 50 ม.ล.
- (7) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer (Varian, Spectr AA-300)

2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (13) ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) นำมาวิเคราะห์โดยมีขั้นตอนดังนี้

- (1) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในจานแก้วที่มีฝาปิด ซึ่งได้ทำความสะอาดและอบความร้อนจนแห้งและมีน้ำหนักคงที่ไว้แล้ว
- (2) อบตัวอย่างที่ $105^{\circ}C$ นาน 3 ชั่วโมงใน hot-air oven นำออกมาทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (Desiccator) บันทึกรน้ำหนัก
- (3) อบตัวอย่างซ้ำที่ $105^{\circ}C$ จนได้น้ำหนักคงที่ และคำนวณหาปริมาณความชื้น

2.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (14)

ตัวอย่าง polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) นำมาวิเคราะห์โดยมีขั้นตอนดังนี้

- (1) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน porcelain crucible ที่ทราบน้ำหนักแล้ว
- (2) หยดกรดกำมะถันเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) จนตัวอย่างเปียก นำไปเผาให้ร้อนบน hot plate เผาตัวอย่างไหม้จนหมดควัน

(3) นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550°C จนเผาไหม้สมบูรณ์ เหลือเถ้าสีขาว

(4) นำออกมาทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (desiccator) บันทึกน้ำหนักและคำนวณหา ปริมาณเถ้า

2.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย (Fiber) (15) ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) นำมาวิเคราะห์โดย มีขั้นตอนดังนี้

(1) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม เติม 1.25% H₂SO₄ 200 มล. นำไป reflux นาน 30 นาที

(2) นำไปกรองและล้างด้วยน้ำเดือดจนเป็นกลาง

(3) นำกากที่ได้จากการกรองใส่ใน beaker แล้วเติม 1.25% NaOH 200 มล. นำไป reflux อีก 30 นาที

(4) นำมากรองแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำเดือดและล้างด้วยแอลกอฮอล์

(5) นำตะกอนเส้นใยที่เหลือไปอบที่ 100-105°C นาน 3 ชม. นำไปชั่ง และนำไปอบ อีก 15 นาที แล้วชั่ง ทำเช่นนี้จนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่บันทึกน้ำหนัก

(6) ล้างเส้นใยในภาชนะออกจนหมด แล้วนำไปอบที่ 100-105°C แล้วชั่งจนได้น้ำหนักคงที่บันทึกน้ำหนัก

(7) นำน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาปริมาณเส้นใย

2.2.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัด PG และ PF หลังการทำ acid hydrolysis ใน N HCl (16) และตรวจวิเคราะห์หาน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC ดังต่อไปนี้

(1) เตรียมสาร Polysaccharide 100 มก. และ 200 มก. LiCl ละลายใน 2 N HCl 3 มล. ทำ hydrolysis ที่ 70°C เป็นเวลา 6 ชม.

(2) ละเหยน้ำและกรดจนเกือบแห้งให้กรดระเหยออกหมด เติมน้ำกลั่น 2 ml กรองเอา ส่วนน้ำใส

(3) ล้างตะกอนและรวบรวม filtrate ทั้งหมดมาระเหยเกือบแห้งและเติมน้ำ 1 มล. ทำขั้นตอนสารละลายหมดฤทธิ์กรด

(4) ละเหยสารละลายจนเหลือ 0.5 ml นำ acid hydrolyzate ของสารสกัด PG และ PF ไปวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลโดยเทคนิค TLC และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับ กับ standard suger ได้แก่ glucose mannose galactose fructose rhamnase arabinose xylose maltose lactose sucrose galacturonic acid glucuronic acid เป็นต้น และวิเคราะห์สาร ตัวอย่าง Polysaccharide fiber เปรียบเทียบกับสาร standard microcrystalline cellulose หรือ powder cellulose

(5) การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC บน silica gel G เคลือบบนแผ่น aluminum plate เลือก Solvent system ของ mobile phase ประกอบด้วย acetone : methanol : water (75 : 10 : 15) สำหรับการวิเคราะห์ PF และ Solvent system ประกอบด้วย ethylacetate : acetic acid : water (4 : 2 : 3) สำหรับการวิเคราะห์ PG ใช้ spray reagent เป็น 1-naphthol ใน ethanol และ sulfuric acid เป่าลมร้อนให้ร้อนจนเกิดสี วัดความสูงของ spot และ solvent front เพื่อคำนวณค่า Rf value ของจุดตัวอย่างเปรียบเทียบกับน้ำตาตามมาตรฐาน

(6) การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu, LC-3 A) ใช้ amino column และ 90% acetonitrile ในน้ำเป็น mobile phase ที่ flowrate 1.8 ml/min ที่อุณหภูมิห้องใช้ RI detector

2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสาร PG และ PF

ตัวอย่างสาร polysaccharide gel (PG) และสาร polysaccharide fiber (PF) นำมาทดลองคุณสมบัติทางกายภาพต่อไปนี้

2.3.1 การวิเคราะห์รูปร่าง 3 มิติภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน Scanning Electron Microscope (SEM)

(1) เตรียมตัวอย่าง PG และ PF ที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างแห้งด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การอบแห้งด้วยความร้อน spray dry และ freeze dry เป็นต้น

(2) เตรียมตัวอย่างโดยวิธีโรยผงตัวอย่างหรือ ตัดขวางตัวอย่างที่ได้จากแผ่นแห้งด้วย freeze dryer ลงบน stub แล้วทำการฉายด้วยทองในเครื่องฉายทอง (Balzers Union SCDO40)

(3) นำไปดูภาพ 3 มิติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน Scanning electron microscope SEM (JEOL, JSM 5410 LV)

2.3.2 การวิเคราะห์ลักษณะของ IR spectrum

(1) เตรียมตัวอย่างแห้งของสารสกัด PG หรือ PF อย่างละ 1 มก. ผสมกับ 300 มก. KBr

(2) อัดเป็นเม็ดด้วยเครื่องอัดไฮดรอลิก (CARVER, Model C Series No. 25576-710)

(3) นำ KBr pellet ไปตรวจวิเคราะห์ลักษณะ IR Spectrum ด้วยเครื่อง FTIR Spectrometer (Perkin Elmer, FTIR Spectrum 2,000)

2.3.3 การวิเคราะห์ Particle Size Distribution

วิเคราะห์หาขนาดของ Particle size และ Particle Size Distribution ของสารสกัด PG และ PF ด้วยเครื่อง Master sizer S

2.3.4 การวิเคราะห์ดัชนีความเป็นผลึก (Crystallinity index) ด้วยวิธี X-ray Diffractometry ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัด PG และ PF ด้วยเครื่องตรวจผลึก X-ray Diffractometer (JEOL, XRD JDX-8030)

2.3.5 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด PG (17,18)

ทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้เทคนิค Gel Filtration Chromatography โดยเตรียม Sepharose CL 4B ในน้ำกลั่นจนอิ่มตัว บรรจุ 0.5% เจลในน้ำกลั่นในคอลัมน์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.4 cm x ความสูง 95 cm ใช้น้ำกลั่นเป็น mobile phase ที่ flow rate 0.45 ml/min หาค่า Void volume โดยใช้สารละลาย Blue dextran เขียนกราฟมาตรฐานแสดงน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Standard dextran ที่น้ำหนักโมเลกุลต่างๆหาน้ำหนักโมเลกุลของสารสกัดจากเปลือกทุเรียน โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำหนักโมเลกุลของเดกซ์แทรน ที่เขียนกราฟระหว่างค่า $\log MW$: กับค่า Relative elution volume V_e / V_t หรือ K_{av} ของเดกซ์แทรน ($K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$)

2.4 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัด polysaccharide gel (PG)

2.4.1 คุณสมบัติของ polysaccharide gel (PG) ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

2.4.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบประกอบด้วย เชื้อ bacteria 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P และ *Escherichia coli* ATCC 25922 และเชื้อรา 2 ชนิดคือ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 และ *Candida albicans* ATCC 10230

2.4.1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

(1) อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรียประกอบด้วยสารอาหารดังนี้

ส่วนประกอบ	MN broth/agar	MNG broth/agar
(Agar)	(20.0 กรัม)	(20.0 กรัม)
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0 กรัม	1.0 กรัม
KCl	1.0 กรัม	1.0 กรัม
MgSO ₄	1.0 กรัม	1.0 กรัม
Glucose	-	10.0 กรัม
น้ำกลั่นจนครบปริมาตร	1000 มล.	1000 มล.

(2) อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเชื้อราประกอบด้วยสารอาหารดังนี้

ส่วนประกอบ	Sabouraud without Glucose broth/agar	Sabouraud with glucose Broth/agar
Neopeptone	10.0 กรัม	10.0 กรัม
Glucose	-	40.0 กรัม
(Agar)	(15.0 กรัม)	(15.0 กรัม)
น้ำกลั่นจนครบปริมาตร	1000. มล.	1000 มล.

2.4.1.3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Agar Diffusion Method (22,23)

หลักการ ทดสอบฤทธิ์ของสาร polysaccharide gel (PG) ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยหยอดสารในความเข้มข้นต่างลงใน Cylinder cup ที่วางบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดดูผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส (Inhibition zone)

วิธีทำ

- (1) เตรียมสารละลาย polysaccharide gel (PG) ในความเข้มข้น 10,5,2.5,1.25,0.625% ใน NSS
- (2) เตรียมชั้นพื้นของเชื้อแต่ละชนิด (*S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, *S. cerevisiae* ATCC 9763 และ *C. albicans* ATCC 10230) ที่มีความขุ่นของเชื้อเท่ากับ Mc Farland no. 0.5
- (3) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ (ที่หลอม และทำให้อุ่นที่ 55⁰ซ) ลงในเพลท ปริมาณ 20 มล./เพลท ตั้งทิ้งไว้ในแข็ง เทอาหารเลี้ยงเชื้อ (ที่หลอมและทำให้อุ่นที่ 55⁰ซ) ที่ผสมเชื้อแต่ละชนิด ในข้อ (2) ปริมาตร 1% v/v โดยเททับลงบนอาหารชั้นแรกที่ยังแข็งแล้ว
- (4) วาง Cylinder cup ลงบนพื้นผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ
- (5) หยอดสารละลาย polysaccharide gel (PG) จากข้อ (1) ลงในแต่ละ cup 300 μ l/cup (ใช้ NSS หยอดเป็น control)
- (6) บ่มเชื้อที่ 37⁰ซ สำหรับแบคทีเรีย และ 25⁰C สำหรับเชื้อรา 24-48 ชม. ดูผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone)
- (7) ทำซ้ำโดยใช้วิธีการในข้อ (1)-(6) แต่ใช้สารละลาย glucose ในความเข้มข้น 40,20,10,5,2.5,1.25, และ 0.625 %

2.4.1.4 การทดสอบฤทธิ์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Broth dilution method (22,24)

หลักการ ทดสอบฤทธิ์ของสาร polysaccharide gel (PG) ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยผสมสาร polysaccharide gel (PG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (broth medium) เปรียบเทียบกับการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสาร polysaccharide gel (PG) วัดปริมาณของจุลินทรีย์โดยนับปริมาณเป็น colony forming unit/ml (CFU/ml)

วิธีทำ

- (1) ผสมสาร PG ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ให้ได้ความเข้มข้น 0.5 และ 0.1% สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ 1% และ 0.5% สำหรับเชื้อรา ในปริมาตร 4.5 มล. ในหลอดแก้วปราศจากเชื้อ
- (2.) เตรียมซัสเพนชันของเชื้อแต่ละชนิด (*S. aureus* ATCC 6538P, *E. coli* ATCC 25922, *S.cerevisiae* ATCC 9763 และ *C. albicans* ATCC 10230) ที่มีความขุ่นของเชื้อเท่ากับ McFarland no. 0.5
- (3.) เตรียมซัสเพนชันของเชื้อแต่ละชนิด (*S. aureus* *E. coli* *S. cerevisiae* และ *C. albicans*) ที่เตรียมได้จากข้อ (2) ปริมาตร 0.5 มล. ลงในสารละลายข้อ (1)
- (4.) ปั่นเชื้อที่ 37°C สำหรับแบคทีเรีย และ 25°C สำหรับเชื้อรา เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยจะสุ่มตัวอย่างมานับโคโลนีของเชื้อ ในวันที่ 1,3,5,7,9,11 และ 13
- (5.) ทำ control โดยเติมซัสเพนชันของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีคาร์บอน (MN media) อาหาร MNG media และเติมซัสเพนชันของเชื้อราแต่ละชนิดใน peptone solution และใช้ซัสเพนชันของเชื้อใน NSS และ NSS+1% glucose เป็น control
- (6.) ทำซ้ำโดยใช้วิธีการในข้อ (1)-(4) แต่ใช้สารละลาย glucose ในความเข้มข้น 0.5 และ 0.1% สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ 1 และ 0.5% สำหรับเชื้อรา

2.4.2 คุณสมบัติของ polysaccharide gel (PG) ต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase (19)

โดยมีหลักการ คือ เอนไซม์ α -amylase สามารถย่อยแป้งได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ คือ dextrin และ maltose ที่มีปลายรีดิวัลส์ ตรวจสอบการย่อยแป้งที่เหลือเป็น โมเลกุลเล็กกลง โดยการทดสอบสีน้ำเงินจนถึงม่วงแดงซึ่งขึ้นกับความสั้นหรือยาวของสายโพลีแซคคาไรด์ที่เกิดปฏิกิริยากับ iodine solution (14) ตรวจสอบการย่อย α -1,4 glycosidic linkage ซึ่งจะให้มี reducing end ของน้ำตาลที่เกิดขึ้นหลังการย่อยโดยเอนไซม์โดยวิธี Fehling's test (19) หรือวิธี O-Toluidine test (20) ทำการทดลองความสามารถในการย่อย PG ด้วย α -amylase และตรวจวัดผลการย่อยของเอนไซม์

Iodine solution test ใช้ตัวอย่าง PG 2.5% ในบัฟเฟอร์ pH 7.0 นำมา 1 มล. และเติมเอนไซม์ 10-25 ยูนิต ทั้งให้ย่อยด้วย α -amylase ใน water bath 37°C นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยการนำไปแช่ในน้ำเย็น และวิเคราะห์ผลการย่อยที่เวลา 0 นาที และ 30 นาที โดยการทดลองการเกิดสีกับน้ำยา iodine solution ทำการทดลองโดยใช้ soluble starch เป็น control และ น้ำกลั่น เป็น blank

Fehling's test

เพื่อทดสอบโพลีแซคคาไรด์ที่ถูกย่อยจนได้น้ำตาลที่มีปลายรีดิวซ์หลังการย่อยแล้ว โดยนำสารละลายตัวอย่าง PG ที่ผสมให้เข้ากันกับ 10-25 ยูนิต α -amylase ที่ให้ย่อยที่ 37°C นาน 30 นาที แล้วนำ PG ทั้งก่อนและหลังการย่อยมา 1 มล. ทดสอบกับ Fehling's reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วนำมาอุ่นใน boiling water bath สังเกตผลที่เกิดขึ้นเห็นเป็นตะกอนแดงอิฐภายในไม่เกิน 1 นาทีของ cuprous oxide และจับเวลาการเปลี่ยนแปลง ถ้ามีตะกอนแดงอิฐเกิดขึ้นแสดงว่า ในสารทดสอบมี reducing sugar ที่เกิดจากการย่อย การทดลองใช้ soluble starch เป็น control และน้ำกลั่นเป็น blank

O-Toluidine test ทดสอบสารโพลีแซคคาไรด์ PG ทั้งก่อนและหลังจากการย่อยด้วย α -amylase เพื่อตรวจวัดปริมาณน้ำตาลที่มีปลาย reducing end ที่ $\text{C}_1\text{-OH}$ โดยนำตัวอย่าง PG ที่ถูกย่อยด้วย α -amylase 10-25 Units ที่ 37°C นาน 30 นาที จำนวน 0.5 มล. เติม 6% TCA 0.5 มล. กรองหรือ centrifuge เอน้ำใส 0.5 ml เติม 4.5 มล. O-Toluidine reagent (Thiourea 1.5 กรัม ใน glacial acetic acid 940 มล. เติม O-Toluidine 60 มล.) ต้ม 8 นาที ในน้ำเดือดตั้งทิ้งให้เย็นแล้ววัดสีที่ OD 630 หาปริมาณน้ำตาลเปรียบเทียบกับ Standard maltose หรือ glucose ได้

2.4.3 คุณสมบัติของ polysaccharide PG ต่อการกักเก็บสาร lipid พวกร cholesterol

การทดลองใช้เทคนิค membrane dialysis ในหลอดทดลอง และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol (21) ที่ถูกกักเก็บไว้โดย PG ให้อยู่ภายในถุง membrane โดยการทำปฏิกิริยาเคมีกับ ferric chloride reagent และวัดสีที่ OD 630 หรือวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่อง HPLC ทำการทดลองดังนี้

(1) ใช้ตัวอย่าง PG ในความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% ผสมกับสารลิปิดที่ใช้ทดลองคือ 20 มก. Cholesterol และ 1% triton X-100 หรือ 0.2% เกลลีนน้ำดี ช่วยการละลายลิปิดเติม Ringer Lactate Buffer pH 7 จนมีปริมาตรรวมทั้งหมด 7 มล.

(2) เทสารละลาย PG และ Cholesterol ใส่ใน dialysis membrane ที่มีขนาด pore size ขอมให้สารที่มีโมเลกุลขนาดต่ำกว่า 15,000 ผ่านเข้าออกได้ ใส่ถุง Dialysis membrane ที่มีดปิดสนิทลงในบีกเกอร์บรรจุ 200 มล. Buffer กวนตลอดเวลาบน magnetic stirrer 8-10 ชม. ตรวจวัดปริมาณ Cholesterol ที่ถูกเก็บอยู่ภายในและที่ถูกปล่อยให้ผ่านออกมาภายนอก dialysis membrane โดยทำการสกัด cholesterol ด้วย ether เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ cholesterol

(3) วิเคราะห์หาปริมาณ Cholesterol โดยการทำให้ปฏิกิริยากับ ferric chloride reagent วัดสีที่เกิดขึ้นที่ 550 nm ด้วย spectrophotometer (21) หรือตรวจวิเคราะห์ cholesterol ด้วยเครื่อง HPLC reverse phase ; column, Symetry C18; mobile phase, acetonitrile : 2-propanol (7 : 3) 30 ทำการทดลองเปรียบเทียบกับ control ที่มี 0% PG โดยใช้น้ำกลั่นแทน PG

2.5 การศึกษาการใช้ประโยชน์ของสารสกัด polysaccharide gel (PG)

2.5.1 การใช้สารสกัด polysaccharide gel (PG) ในการเคลือบเม็ดยาในผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบนำสารตัวอย่าง polysaccharide gel (PG) เป็นสารโพลีเมอร์สำหรับเคลือบยาเม็ดในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบคั่งมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

2.5.1.1 การพัฒนาฟิล์มสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานในการเคลือบเม็ดยา

พัฒนาฟิล์มสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานโดยใช้ Hydroxypropyl methylcellulose E5 (HPMC E 5) และ Hydroxypropyl methylcellulose E 15 (HPMC E 15) เป็นสารก่อกฟิล์ม สูตรน้ำยาเคลือบที่ใช้ในการทดลอง มี 2 คำรับตามสูตรน้ำยาเคลือบที่ใช้ในการเคลือบยาเม็ด ดังนี้

สารที่ใช้	สูตรตำรับ F1	สูตรตำรับ F2
HPMC E5	-	4%
HPMC E15	4%	2.70%
PEG 6000	1.40%	1.40%
Titanium Dioxide	2.40%	2.40%
Talcum USP	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%

หมายเหตุ : HPMC E5, E15 เป็นสารก่อกฟิล์ม, PEG 6000 เป็นสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม, Titanium Dioxide และ Talcum USP เป็น Pigment

าลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.5.1.2 การเปรียบเทียบ สภาวะที่ใช้ในการเคลือบ

แสดงการเปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการเคลือบยาเม็ดดังต่อไปนี้

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	T1	T2	T3	T4
สูตรน้ำยาเคลือบ	ตำรับที่ F1	ตำรับที่ F1	ตำรับที่ F1	ตำรับที่ F2
อุณหภูมิเม็ดยา	30-35 °C	30-35 °C	30-35 °C	30-35 °C
ระยะห่างระหว่างหัวพ่น น้ำยากับเม็ดยา	3 นิ้ว	3 นิ้ว	3 นิ้ว	3 นิ้ว
Pan speed	8 รอบ / นาที	8 รอบ / นาที	8 รอบ / นาที	8 รอบ / นาที
Pressure	3.5 Bar/kg/cm	3.5 Bar/kg/cm	3.5 Bar/kg/cm	3.5 Bar/kg/cm
Spray rate	8 รอบ / นาที	6 รอบ / นาที	5 รอบ / นาที	5 รอบ / นาที
Inlet	57.5 °C	53.7 °C	53.1 °C	55.6 °C
Outlet	36.2 °C	40.0 °C	40.7 °C	40.1 °C
เวลาที่ใช้ในการเคลือบ	75 นาที	90 นาที	135 นาที	150 นาที
น้ำหนักเม็ดยาที่เพิ่มขึ้น	2.6 mg/เม็ด	2.15 mg/เม็ด	3.2 mg/เม็ด	6.13 mg/เม็ด

2.5.1.3 การเตรียมแกนเม็ดยา

แกนเม็ดยาที่ใช้เคลือบเตรียมครั้งละ 12 กิโลกรัม สูตรมาตรฐานที่ใช้ในการเตรียมแกนเม็ดยาที่ใช้ในการทดลองนี้ดังต่อไปนี้

สารที่ใช้	ปริมาณที่ใช้ (kg)
Lactose	10.00
Avicel	0.65
Corn Starch	0.6
PVP K90 (12% in H ₂ O)	0.45
Magnesium Stearate	0.3
Total Weight	12

มีขั้นตอนการเตรียมแกนเม็ดยาดังนี้

- (1) เตรียมสารยึดเกาะ โดยนำ PVP K90 มา 0.45 kg โปรมลงในน้ำ 3.75 kg ตั้งทิ้งไว้จน PVP พองตัว แล้วนำไปอังไอน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 50 °C
- (2) ผสม Lactose Avicel และ Corn Starch ด้วยเครื่องผสม (Plantary Mixer, Kenwood, U.S.A.) นานประมาณ 15 นาที เพื่อให้ส่วนผสมทั้ง 3 ชนิดเข้ากันดี
- (3) ค่อย ๆ เติมสารยึดเกาะที่เตรียมไว้ลงไปผสมจนผงเปียกทั่ว มีลักษณะเป็น damp mass

- (4) นำ mass ที่ได้ไปผ่านเครื่องทำแกรนูล (Oscillating Granulator, Parmaceutical and Medical Supply Ltd., Thailand)
- (5) นำแกรนูลที่ได้ไปอบใน Hot-air Oven ที่อุณหภูมิ 60°C (Copenhagen, Lyngby-Denmark) จนกระทั่งแกรนูลแห้ง
- (6) นำแกรนูลที่อบแล้วมาผ่านเครื่องทำแกรนูลอีกครั้ง เพื่อให้ได้เป็นแกรนูลที่มีขนาดสม่ำเสมอและไม่เกาะติดกันเป็นก้อน
- (7) นำแกรนูลที่ผ่านเครื่องทำแกรนูลแล้วมาผสมกับ Magnesium stearate ในเครื่องผสม (Cube Mixer, Erweka, Germany)
- (8) นำไปตอกด้วยเครื่องตอกยาเม็ด (Rotary tablet press) ให้ได้เม็ดยาที่มีรูปร่างตามต้องการและให้มีความแข็งแรงประมาณ $8 \pm 2\text{ kp}$ ด้วยเครื่อง Hardness tester (Schleuniger, England)
- (9) นำยาเม็ดที่ตอกได้เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนซึ่งเป็นรูปที่ยากต่อการเคลือบเม็ดยาไปตรวจสอบ Hardness Disintegration (Disintegration apparatus, Hanson Research, U.S.A) Friability (Roche Friabilator Erweka, Germany)

2.5.1.4 การคำนวณปริมาณโพลีเมอร์ที่ใช้

รูปร่างเม็ดยา : รูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน

คำนวณหาพื้นที่ผิวของเม็ดยา (Core tablet) โดยใช้โปรแกรม EUDRAGIT

ขนาด เม็ดยา(core tablet) ที่ตอกได้

$$\text{มีความกว้าง} = 7.0 \text{ mm.}$$

$$\text{ความหนา} = 6.0 \text{ mm.}$$

$$\text{พื้นที่ผิวของเม็ดยา 1 เม็ด(A)} = 266 \text{ mm}^2$$

การคำนวณหาปริมาณ polymer ที่ใช้เคลือบเม็ดยามีข้อกำหนดต่อไปนี้

ต้องการให้มี polymer 1.5 mg. เคลือบอยู่บนผิวเม็ดยา 1cm^2

ปริมาณของเม็ดยาที่ทำการเคลือบแต่ละครั้ง(batch size) = 2.0 kg

$$\text{น้ำหนักเฉลี่ยของเม็ดยา} = 322 \text{ mg}$$

$$\text{เม็ดยา 2.0 kg มีพื้นที่ผิว} = 2,000,000 \text{ mg X } 266 \text{ mm}^2$$

$$322\text{mg}$$

$$= 16,024.1 \text{ cm}^2$$

$$\text{ดังนั้น ต้องใช้ polymer} = 16,024.1 \text{ cm}^2 \text{ X } 1.5 \text{ mg/cm}^2$$

$$= 24,036.15 \text{ mg}$$

$$= 24.036 \text{ g}$$

คำนวณปริมาณ Polymer ที่ใช้เกิน 40%

$$\begin{aligned} \text{คำนวณปริมาณ Polymer ที่ใช้จริง} &= \frac{(24,036 \times 40)}{100} + 24,036 \text{ g} \\ &= 33.65 \text{ g} \end{aligned}$$

2.5.1.5 สูตรน้ำยาเคลือบที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีดังต่อไปนี้

(1) แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 1 ที่มีปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม PEG 6000 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

สารที่ใช้	สูตร F1A	สูตร F1B	สูตร F1C	สูตร F1D	สูตร F1E
HPMC E5	4%	4%	4%	4%	4%
HPMC E15	2.70%	2.70%	2.70%	2.70%	2.70%
PEG 6000	10%	20.90%	15%	25%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
Kinglake Color					
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ได้ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(2) แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 2 ใช้โพลีเมอร์จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ระดับความเข้มข้น 1% และที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารที่ใช้	สูตร F2A	สูตร F2B	สูตร F2C	สูตร F2D	สูตร F2E
สารสกัดเปลือกทุเรียน PG	1%	1%	1%	1%	1%
PEG 6000	15%	40%	20%	25%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ได้ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

(3) แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 3 ใช้โพลีเมอร์จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ระดับความเข้มข้น 1.3% และที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารที่ใช้	สูตร F3A	สูตร F3B	สูตร F3C	สูตร F3D	สูตร F3E
สารสกัดเปลือกทุเรียน PG	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
HPMC E5	2.72%	2.72%	2.72%	2.72%	2.72%
PEG 6000	15%	35.68%	20%	25%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ได้ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

(4) แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 4 ใช้โพลีเมอร์จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ระดับความเข้มข้น 2% และที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารที่ใช้	สูตร F4A	สูตร F4B	สูตร F4C	สูตร F4D	สูตร F4E
สารสกัดเปลือกทุเรียน PG	2%	2%	2%	2%	2%
PEG 6000	15%	70%	20%	25%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

(5) แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 5 ใช้โพลีเมอร์จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ระดับความเข้มข้น 2.6% และที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารที่ใช้	สูตร F5A	สูตร F5B	สูตร F5C	สูตร F5D	สูตร F5E
สารสกัดเปลือกทุเรียน PG	2.60%	2.60%	2.60%	2.60%	2.60%
HPMC E15	2.70%	2.70%	2.70%	2.70%	2.70%
PEG 6000	10%	26.4%	15%	20%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

(6) แสดงส่วนประกอบสูตรนำยาเคลือบมาตรฐานสูตร 6 ใช้โพลีเมอร์จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ระดับความเข้มข้น 3% และที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สารที่ใช้	สูตร F6A	สูตร F6B	สูตร F6C	สูตร F6D	สูตร F6E
สารสกัดเปลือกทุเรียน PG	3%	3%	3%	3%	3%
PEG 6000	15%	47.67%	20%	25%	30%
TiO ₂	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Talcum	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%	2.40%
Erythrosine Kinglake Color	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%	0.50%
DI water to	100%	100%	100%	100%	100%

หมายเหตุ : ในการทำการทดลอง จะยังไม่ใส่ Erythrosine Kinglake Color เนื่องจากอาจไปรบกวนการประเมินคุณภาพของฟิล์มได้

2.5.1.6 การประเมินคุณภาพของฟิล์มสูตรมาตรฐาน และฟิล์มจากเปลือกทุเรียน (PG) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน รวมถึงการปรับเปลี่ยนปริมาณของ PEG 6000 และความหนา

วิธีดำเนินการเตรียมนำยาเคลือบฟิล์มตามสูตรตำรับดังที่ได้ทำการทดลองมาแล้วทั้ง 6 สูตรตามข้อ 2.5.1.5 สูตร (1)-(6) โดยแต่ละสูตรจะทำการปรับปริมาณ ของ PEG 6000 อีกตำรับละ 5 สูตร โดยปริมาณของ PEG 6000 จะอยู่ในช่วง 10-50 เปอร์เซ็นต์ ของโพลีเมอร์ นำนำยาเคลือบฟิล์มแต่ละสูตรเทลง plate สูตรละ 6 plate ในปริมาณที่แตกต่างกันเพื่อเป็นการ ปรับเปลี่ยนความหนาของฟิล์ม ดังนี้

plate 1 และ 2 ใช้ film coat solution 2.3 ml.

plate 3 และ 4 ใช้ film coat solution 2.8 ml.

plate 5 และ 6 ใช้ film coat solution 3.3 ml.

จากนั้นนำฟิล์มที่ลอกได้จากแต่ละ plate ไปหาค่า tensile strength ด้วยเครื่อง Tensometer (Instron® 5565, England)

เตรียมนำยาเคลือบฟิล์ม (สำหรับเท plate) ดังนี้

- (1) ต้มน้ำ 50 ml. ในบีกเกอร์ ค่อยๆ โปรมสารสกัดเปลือกทุเรียนลงไป คนจนละลายหมด จากนั้นเติม HPMC disperse ให้เข้ากัน
- (2) ละลาย PEG 6000 ในน้ำ 40 ml. แล้วเทลงใน (1) คนให้เข้ากัน
- (3) เติม Talc และ TiO₂ตามลำดับ

(4) ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml.

(5) นำไป homogenize ประมาณ 5 นาที

(6) นำไปผ่าน sieve No.80 ก่อนนำไปเท plate

หมายเหตุ : การเตรียมน้ำยาเคลือบฟิล์มสำหรับใช้เคลือบเม็ดยา จะเติมสี Erythrosine Kinglake Color ในขั้นตอนที่ (3)

2.5.1.7 การศึกษาเปรียบเทียบ ความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเคลือบมาตรฐาน จากการใช้ HPMC E5 HPMC E15 และสารสกัดเปลือกทุเรียน PG เป็นสารเคลือบฟิล์ม

มีส่วนประกอบของสูตรเคลือบมาตรฐานสูตรต่าง ๆ เพื่อวัดหาค่า tensile strength ดังนี้

สารที่ใช้	สูตร F1B	สูตร F4B	สูตร F5B	สูตร F6B
HPMC E5	4.00	-	-	-
HPMC E15	2.70%	-	2.70%	-
สารสกัดเปลือกทุเรียน (PG)	-	2.00%	2.60%	3.00%
ปริมาณ film coat solution	2.3 ml	2.3 ml	2.3 ml	2.3 ml

นำฟิล์มที่ได้ไปวัดหาค่า tensile strength

2.5.1.8 จากการทดลองเคลือบตามข้อ 2.5.1.2 ถึง 2.5.1.7 แล้วด้วยเครื่อง Tablet coater (Thaicoater, PMS Co., Ltd., Thailand จะได้สภาวะเคลือบที่ ดีที่ สุดและเวลาที่ เหมาะสมในการเคลือบ สภาวะเคลือบที่ดีที่สุดสรุปได้ดังนี้

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

1. อุณหภูมิเม็ดยา	30-35 °C
2. ระยะห่างระหว่างหัวพ่นน้ำยา กับเม็ดยา	3 นิ้ว
3. ความเร็วหม้อเคลือบ (Pan Speed)	8 รอบ/นาที
4. ความดันลมสปร์ย์ (Pressure)	3.5 Bar/Kg/cm
5. อัตราเร็วของการพ่นน้ำยา(Spray Rate)	5 รอบ/นาที
6. อุณหภูมิลมเข้า(Inlet)	55.6 °C
7. อุณหภูมิลมออก(Outlet)	40.1 °C
8. เวลาที่ใช้ในการเคลือบ	150 นาที

สภาวะเคลือบนี้ได้นำมาใช้เคลือบเปรียบเทียบระหว่าง HPMC E5 E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG)

2.5.1.9 สูตรเคลือบที่ใช้เปรียบเทียบคุณสมบัติฟิล์มระหว่าง HPMC E5 HPMC E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG)มีดังนี้

สารที่ใช้	สูตร F1	สูตร F2	สูตร F3	สูตร F4	สูตร F5	สูตร F6
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)
HPMC E5	20.09	-	20.09	-	-	-
HPMC E15	13.56	-	-	-	13.56	-
สารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG)	-	5.02	9.78	10.04	13.09	22.59
PEG 6000	7.02	7.03	10.54	7.03	7.03	10.54
TiO ₂	12.05	12.05	18.08	12.05	12.05	18.08
Talcum	12.05	12.05	18.08	12.05	12.05	18.08
Erythrosine Kinglake Color	2.51	2.51	3.76	2.51	2.51	3.76
DI water to	435	464	659	464	515	680

2.5.2 การใช้สารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) ในผลิตภัณฑ์อาหารลดไขมัน

2.5.2.1 การทดลองเบื้องต้นเพื่อศึกษาศักยภาพและความสามารถของ PG ในการกักเก็บสารลิปิดพวก Cholesterol

โดยมีหลักการ คือ นำ PG ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน มาทดลองคุณสมบัติการกักเก็บสารลิปิด ได้แก่ cholesterol โดยเทคนิค membrane dialysis ในหลอดทดลอง ใช้วิธีทางเคมีในการตรวจวิเคราะห์ cholesterol และวัดสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง spectrophotometer หรือตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องมืออื่นๆ ได้แก่ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เป็นต้น มีลำดับการทดลองดังนี้

(1) เตรียมตัวอย่าง PG ในความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0% ในน้ำผสมกับ cholesterol ปริมาณ 20 มิลลิกรัม และ 1% triton x-100 หรือเกลือน้ำดีช่วยการกระจายไขมัน ให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติม Ringer Lactate Buffer, pH 7.0 จนสารละลายมีปริมาตร 7.0 มล.

(2) เลือก dialysis membrane ที่มีขนาด pore size ที่ยอมให้สารน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่ำกว่า 15,000 ดัลตัน ผ่านเข้า-ออกได้ เหมาะสมยอมให้ cholesterol ผ่านเข้า-ออกได้ บรรจุสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ลงในถุง dialysis ทำการวิเคราะห์ปริมาณการกักเก็บ

cholesterol ไว้ใน PG ภายในในถุง dialysis และปริมาณที่ซึมผ่านออกมาภายนอกในระยะ เวลาต่างๆ ที่ 0-8 ชม. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสาร PG ตั้งแต่ 0-2 % เปรียบเทียบผลการทดลองกับ control ซึ่งไม่ได้ใส่สาร PG

(3) เก็บตัวอย่างสารละลายนอกถุงและในถุง dialysis ตามระยะเวลาที่กำหนด มาทำการ วิเคราะห์สารลิปิด cholesterol โดยทำปฏิกิริยากับ ferric chloride reagent จนเกิดสีแล้วนำมา วัดค่า absorbance ที่ 550 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer หรือวิเคราะห์ปริมาณ cholesterol โดยเทคนิค HPLC

2.5.2.2 สูตรตำรับอาหารของสารสกัด PG

การเตรียมสูตรตำรับอาหารของสารสกัด PG จำเป็นต้องใช้สารช่วยให้สารสกัด PG กระจายตัวได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเทลงในน้ำเนื่องจากสารสกัด PG เมื่อเติมลงในน้ำมักจะเกาะ กันเป็นก้อนจะใช้เวลานานจึงจะละลายเป็นเนื้อเดียว ดังนั้นเพื่อลดปัญหานี้สามารถทำได้ โดยการเติมสารช่วยให้เกิดการกระจายตัว จะทำให้ได้ตำรับอาหารที่กระจายตัวได้รวดเร็วดี ขึ้น และป้องกันไม่ให้สารสกัด PG เกาะเป็นก้อน การทดลองได้เตรียมตำรับต่างๆ ในรูป แบบของผงแห้งสำเร็จรูปสำหรับผสมกับน้ำจนครบ 100 มล. ก่อนดื่ม เมื่อผสมน้ำแล้วจะ ได้ความเข้มข้นของ PG เท่ากับ 3% แต่แต่ละตำรับแต่งกลิ่นและสีของรสส้ม ทำการทดลอง เตรียมตำรับต่างๆ มีส่วนประกอบต่อไปนี้

ส่วนประกอบของสูตรตำรับอาหารที่ทดลอง

ตำรับที่ 1	3.0% polysaccharide gel (PG) 0.1% citric acid
ตำรับที่ 2	3.0% PG 0.1% citric acid 3.0% maltodextrin
ตำรับที่ 3	3.0% PG 0.1% citric acid 6.0% maltodextrin
ตำรับที่ 4	3.0% PG 0.1% citric acid 3.0% polysaccharide fiber (PF)

ตำรับที่ 5	3.0% PG 0.1% citric acid 6.0% PG
ตำรับที่ 6	3.0% PG 0.1% citric acid 3.0% maltodextrin 3.0% PF
ตำรับที่ 7	3.0% PG 0.1% citric acid 0.5% PF
ตำรับที่ 8	3.0% PG 0.1% citric acid 0.5% PF 0.5% calcium carbonate 0.5% fructose
ตำรับที่ 9	3.0% PG 0.1% citric acid 0.5% PF 0.5% calcium carbonate 1.0% fructose
ตำรับที่ 10	3.0% PG 0.5% PF 1.5% calcium lactate 1.0% fructose
ตำรับที่ 11	3.0% PG 0.5% PF 2.0% fructose

หมายเหตุ แต่ละตำรับเติมสี 0.005% โดยบดผสมกับ PF ให้เป็นสีเจือจางเป็นเนื้อเดียวก่อน
แล้วนำมาเติมในแต่ละตำรับให้มสีตามที่กำหนดและเติมกลิ่นตามที่ต้องการ

วิธีทำ : ใช้โกร่งบดผสม PG กับสารผสมอื่นๆ โดยเติม PG ที่ละน้อยบดผสมสารช่วยการกระจายตัวของ PG ได้แก่ มัลโทเด็กซ์ทริน หรือ PF และแคลเซียมแลคเตต ที่ละน้อยบดให้เข้ากันเติมสารที่กำหนดในตำรับอาหารสลับกับการบดจนครบหมดทุกตัว เทผสมให้เข้ากันใน mixer ผสมให้เข้ากัน 15 นาที จะได้ตำรับอาหาร PG เป็นรูปผงแห้งเมื่อเทผสมน้ำ 100 มล. สามารถคนให้กระจายตัวได้ง่ายและคนให้กระจายและพองตัวประมาณ 5-10 นาที ก่อนดื่ม



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย

1. การสกัดและแยกสาร polysaccharide gel และ fiber จากเปลือกแห้งของผลทุเรียน

เก็บรวบรวมเปลือกทุเรียนมาล้างทำความสะอาดแล้วบดด้วยเครื่องบดละเอียด นำไปอบแห้งที่ 90-100^oซ จนมีน้ำหนักคงที่ได้เปลือกทุเรียนแห้ง 20% ของน้ำหนักสด นำเปลือกแห้งที่ป่นเป็นผงมาทำการสกัดสาร polysaccharide gel ได้ 7.3% กากที่เหลือนำมาแยกสาร polysaccharide fiber ได้ 15% จาก fiber residue แห้งที่เหลือหลังจากแยกเอา polysaccharide gel ออกแล้วหรือประมาณ 30% จากเปลือกแห้งผลของการสกัดแยกสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งสองชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 1-1

2. องค์ประกอบทางเคมีของสาร polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

2.1 องค์ประกอบของ PG และ PF ได้แก่ ปริมาณน้ำ เถ้า และไฟเบอร์ แสดงไว้ในตารางที่ 2-1

สารสกัด PG ประกอบด้วย ความชื้น 2.2% เถ้า 4.5% และไฟเบอร์ 0% ส่วน PF ประกอบด้วย ความชื้น 3.7% เถ้า 0.21% และไฟเบอร์ 96.3%

2.2 องค์ประกอบของธาตุที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ carbon (C) hydrogen (H) oxygen (O)

nitrogen (N) และ sulfur (S) ในสารสกัด PG และ PF แสดงองค์ประกอบเป็น atomic ratio ของ C, H และ O ไว้ในตารางที่ 2-2 สารสกัด PG ประกอบด้วย C : H : O เท่ากับ 2.9 : 5.7 : 3.2 ไม่พบมี N และ S ส่วนสาร PF ประกอบด้วย C : H : O เท่ากับ 3.5 : 6.4 : 3.1 และไม่พบมี N และ S เช่นเดียวกับ PG ซึ่งอาจเขียนสูตรชัดเจนเบื้องต้นได้เป็น $[CH_2O]_n$

2.3 องค์ประกอบของเกลือแร่ของสารสกัด PG และ PF ที่ทำการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ sodium potassium calcium magnesium manganese iron copper zinc aluminium silicon และ lead แสดงผลไว้ในตารางที่ 2-3 พบว่าสารสกัด PG และ PF มีองค์ประกอบของเกลือแร่ที่พบมากที่สุดได้แก่ sodium potassium calcium และ magnesium และพบมีเกลือแร่ส่วนน้อยได้แก่ manganese iron copper zinc และ aluminum ส่วน lead ไม่พบหรือพบมีน้อยกว่า 0.05 ppm

2.4 องค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัด PG และ PF

2.4.1 การวิเคราะห์หาน้ำตาลโดยเทียบกับน้ำตาลมาตรฐานชนิดต่างๆ โดยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) ของสารสกัด PG และ PF ที่ได้หลังจากการ hydrolysis ด้วยกรด HCl แสดงไว้ในตารางที่ 2-4 และรูปที่ 2-1 และ 2-2 ตามลำดับผลการทดลองพบว่าสารสกัด PG ประกอบด้วยน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐานได้แก่ rhamnose arabinose fructose glucose และ galacturonic acid ส่วน PF ประกอบด้วยน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน glucose

ตารางที่ 1-1 สรุปผลของการสกัดและแยกสาร polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) จากเปลือกของผลทุเรียน

Products	Total weight	
	(g)	(%)
Dried durian fruit-hulls (blended)	1000.0	100.0
Dried fiber residue	513.7	51.4
Crude polysaccharide gel	118.6	11.9
Polysaccharide gel (PG)	72.8	7.3
Polysaccharide fiber (PF)	151.1	15.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบของน้ำ เถ้า และเส้นใย ของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

Product	Moisture (%)	Ash (%)	Fiber (%)
Polysaccharide gel (PG)	2.14 ± 0.11	4.50 ± 0.23	NONE
Polysaccharide fiber (PF)	3.7 ± 0.7	0.21 ± 0.15	96.3 ± 0.7



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2-2 องค์ประกอบของธาตุหลักของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

Products	Elements (in atomic ratio)				
	C	H	O	N	S
Polysaccharide gel (PG)	2.9	5.7	3.2	None	None
Polysaccharide fiber (PF)	3.5	6.4	3.1	None	None



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2-3 องค์ประกอบของเกลือแร่ของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

Products	Minerals									
	Weight (mg/100 g)									ppm
	Na	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn	Al	Pb
PG	558	126	265	441	4.25	3.50	1.40	7.95	2.95	<0.05
PF	23.50	3.80	5.56	11.45	0.00	3.20	0.37	0.56	0.00	0.00



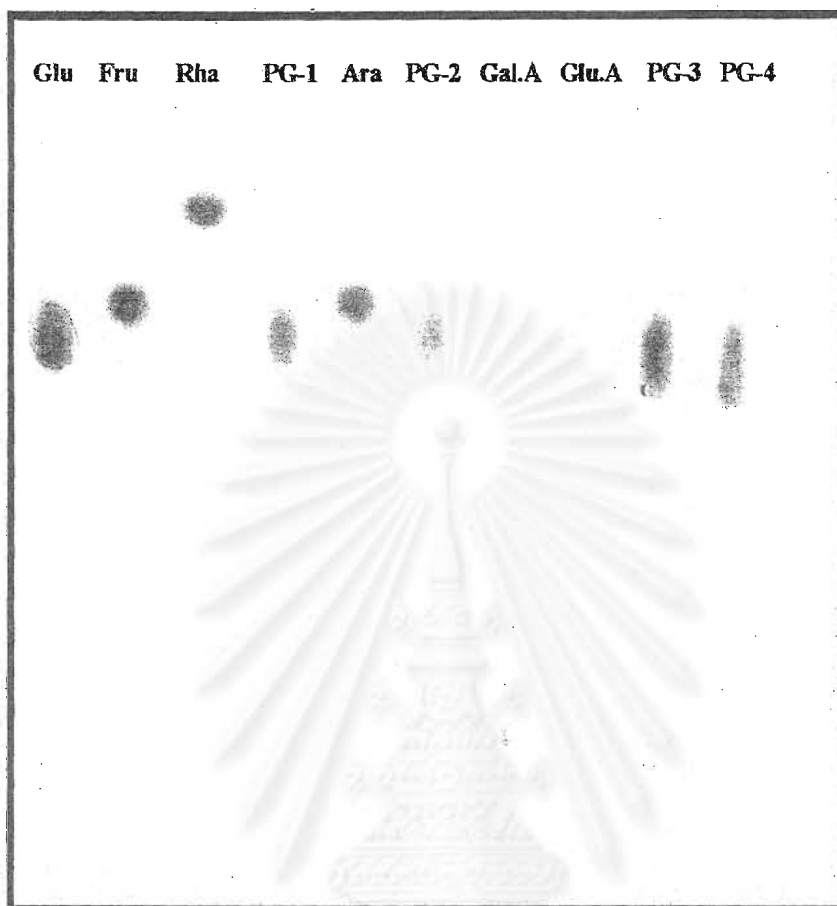
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2-4 เปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

Products	Sugars (in molar ratio)				
	Arabinose	Rhamnose	Fructose	Glucose	Galacturonic acid
Polysaccharide gel (PG)	+	+	+	+	+
Polysaccharide fiber (PF)	-	-	-	+	-

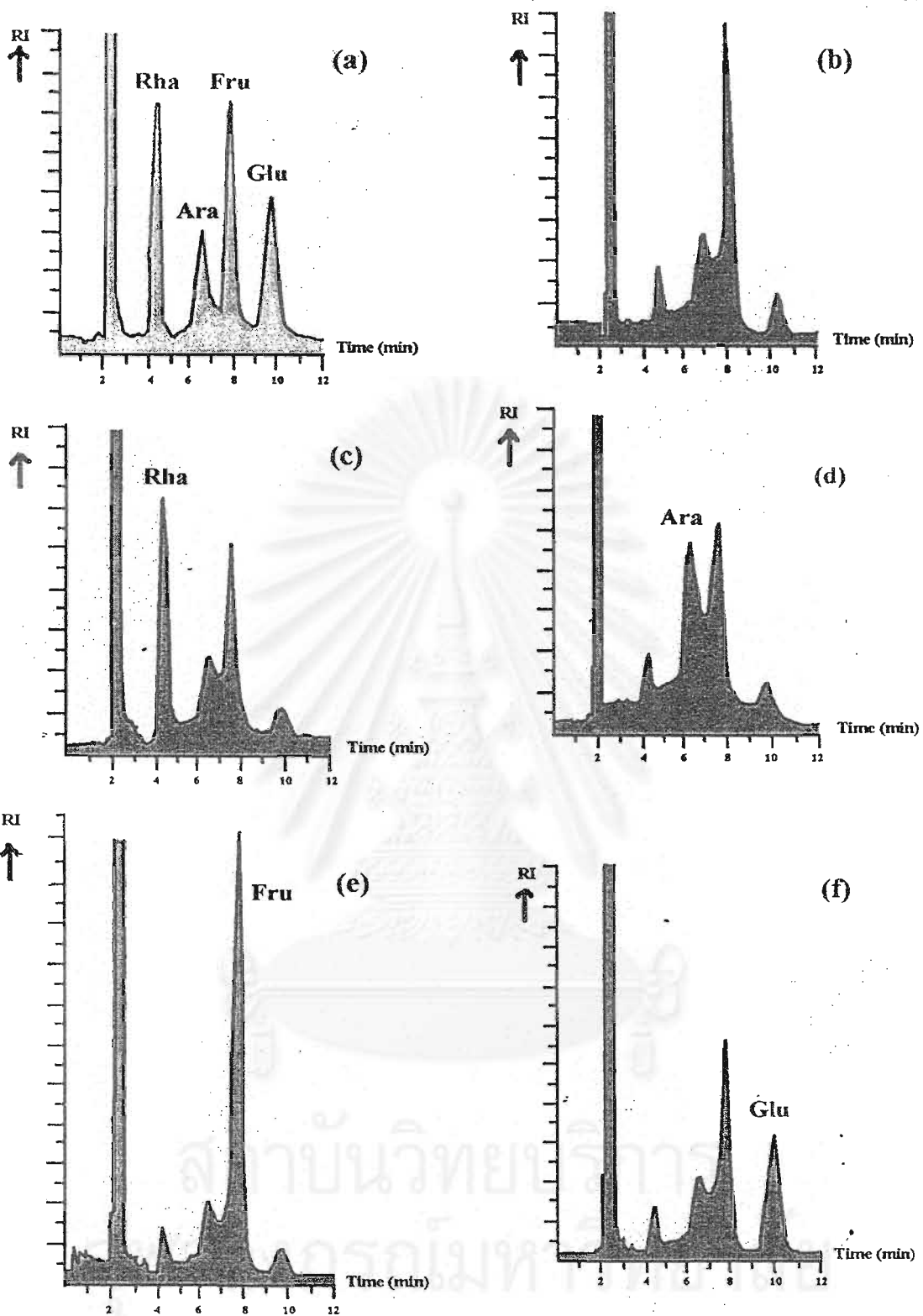


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

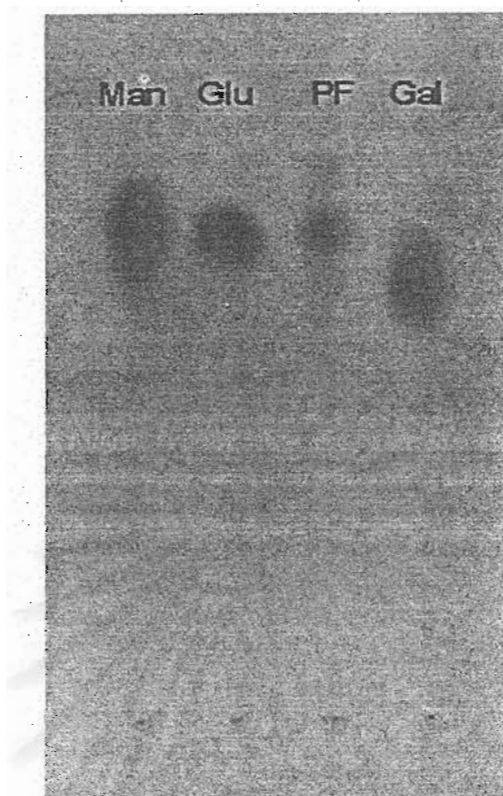


รูปที่ 2-1 TLC chromatogram ของสารละลาย PG จาก acid hydrolyzate บน silica gel 60 F₂₅₄ บน aluminum plate mobile phase ใช้ solvent system ประกอบด้วย ethylacetate : acetic acid : water (4 : 2 : 3) spray reagent ประกอบด้วย 1-naphthol ใน ethanol และ sulfuric acid

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

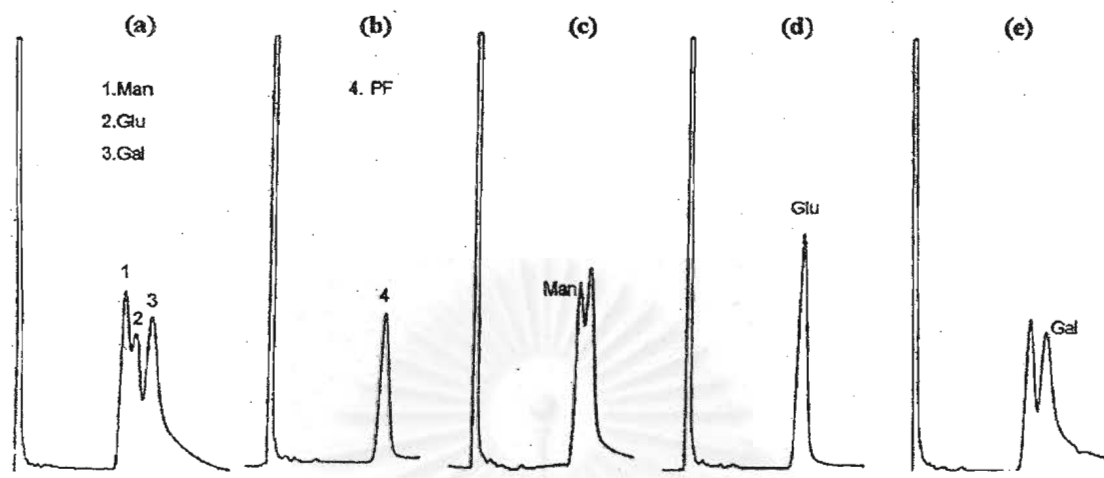


รูปที่ 2-2 HPLC chromatograms ของ (a) สารละลายผสมของน้ำตาลมาตรฐาน 0.5 μ moles Rhamnose Arabinose Fructose และ Glucose ; (b) acid hydrolyzate ของโพลีแซ็กคาไรด์เจด(PG), 20 μ l ; (c) PG ผสม 0.5 μ moles Rhamnose ; (d) PG ผสม 0.5 μ moles Arabinose; (e) PG ผสม 0.5 μ moles Fructose ; (f) PG ผสม 0.5 μ moles Glucose. Column, Lichrospher, NH_2 (5 μ m); mobile phase, 90% acetonitrile in water; Flow rate, 1.8 ml/min; Detector, refractive index(RI); Recorder speed, 4 mm/min.



รูปที่ 2-3 TLC chromatogram ของสารละลาย PF จาก acid hydrolyzate บน silica gel G ใช้ mobile phase ประกอบด้วย acetone : methanol : water (75:10:15). Man = standard mannose, Glu = standard glucose, Gal = standard galactose and PF = acid hydrolyzate ของ polysaccharide fiber

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2-4 HPLC chromatograms ของ (a) น้ำตาลมาตรฐาน Mannose (Man) Glucose (Glu) และ Galactose (Gal) ; (b) acid hydrolyzate ของ polysaccharide fiber (PF) ; (c) acid hydrolyzate ของ PF ที่เติม 2 μ mole Man ; (d) acid hydrolyzate ของ PF ที่เติม 0.7 μ mole Glu ; (e) acid htdrolyzate ของ PF ที่เติม 2 μ mole Gal ; Column, amino silica; mobile phase, 90% acetronitrile ในน้ำ ; flow rate, 1.8 ml/min ; recorder speed, 4 mm/min ; detector, RI spectrometer.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4.2 การวิเคราะห์หาน้ำตาลโดยเทคนิค HPLC พบว่าสารละลาย acid hydrolyzate ของสารสกัด PG มีองค์ประกอบน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน rhamnose arabinose fructose และ glucose ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2-3 ขณะที่สารละลาย ละลาย acid hydrolyzate ของสาร PF มีองค์ประกอบน้ำตาลเพียงชนิดเดียวที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน glucose ดังแสดงไว้ในรูปที่ 2-4

3. คุณสมบัติทางกายภาพของสาร PG และ PF

3.1 การศึกษาโครงสร้าง 3 มิติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Scanning Electron Microscope

สารสกัด PG ที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างโดยการทำให้แห้งด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การอบแห้งใน hot air oven ที่ 70°C และปั่นเป็นผง การทำให้แห้งด้วย freeze dryer และปั่นเป็นผง และการทำให้แห้งโดยเครื่อง Spray dryer แสดงให้เห็นรูปร่าง 3 มิติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของสารสกัด PG ที่เตรียมในรูปแบบตัวอย่างต่างๆดังกล่าว แสดงไว้ในรูปที่ 3-1

สาร PF ที่ปั่นเป็นผงที่ได้หลังจากการอบแห้งใน hot air oven และที่ได้จากการทำให้แห้งโดย freeze dryer มีรูปร่าง 3 มิติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของผง PF ในรูปแบบดังกล่าวได้แสดงให้เห็นดังรูปที่ 3-2

3.2 การศึกษา particle size distribution ของสารสกัด PG และ PF

นำผงของสารสกัด PG และ PF มาตรวจวัดขนาดด้วยเครื่องตรวจวัด particle size distribution สารสกัด PG มีขนาด particle เฉลี่ยในช่วง 222-301 μm ขณะที่ PF มีขนาด particle ในช่วง 140-164 μm เมื่อเทียบกับ Cellulose powder และ Microcrystalline cellulose มีขนาด particle เฉลี่ยในช่วง 56-66 μm และ 35-48 μm ตามลำดับ ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 3-3

3.3 การศึกษาขนาด Molecular Weight (M.W.) ของสารสกัด PG

การวิเคราะห์หาขนาด M.W. ของ PG โดยวิธี Column chromatography ของ Sephadex CL 4 B มี mobile phase เป็นน้ำกลั่น เทียบกับ Standard dextran ขนาดต่างๆ พบว่า PG มีขนาด average molecular weight อยู่ในช่วง 500-1,400 กิโลดัลตัน ดังแสดงในกราฟรูปที่ 3-4

3.4 การวิเคราะห์ลักษณะของ IR Spectrum ของสารสกัด PG และ PF โดยวิธี IR Spectroscopy

สารสกัด PG และ PF มีลักษณะ profile ของ IR Spectrum ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3-5 และรูปที่ 3-6 ตามลำดับสารสกัด PG แสดงให้เห็น band ของ light absorption ของ functional groups ที่สำคัญที่แตกต่างจาก PF โดย PG มี functional groups ที่แสดงให้เห็นที่ absorption band ต่างๆ ได้แก่ band ที่ wave number 3436 cm^{-1} (OH), 2937 cm^{-1} (C-H), 1749 cm^{-1} (C=O), 1639 cm^{-1} (COO), $1237\text{-}1335\text{ cm}^{-1}$ (C-O-H) และ $1019\text{-}1105\text{ cm}^{-1}$ (C-OH) ขณะที่ PF แสดงให้เห็น band ต่างๆ ที่แสดงให้เห็นมี functional groups ที่คล้ายกับ absorption band ของ commercial cellulose standard ได้แก่ MCC และ cellulose powder ได้แก่ band ที่ wave number 3411 cm^{-1} (OH), 2908 cm^{-1} (C-H), 1632 cm^{-1} (C-O), และ $1033, 1061, 1109\text{ cm}^{-1}$ (C-OH) เป็นต้น

3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติของ X-ray Diffraction ของสารสกัด PG และ PF

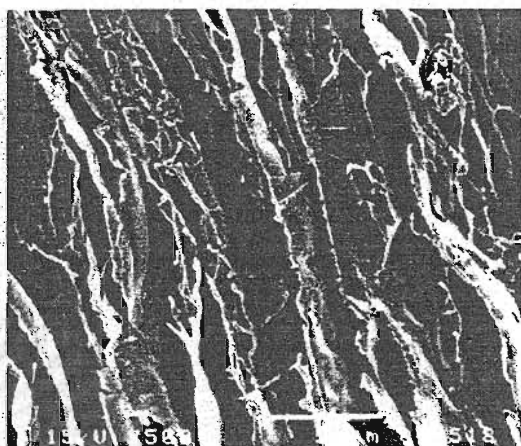
สารสกัด PG และ PF มี X-ray Diffraction profile แสดงไว้ในรูปที่ 3-7 และรูปที่ 3-8 ตามลำดับจากรูปที่ 3-7 พงของสารสกัด PG แสดงให้เห็นว่าเป็น amorphous มากกว่าเป็น crystalline ในขณะที่ X-ray Diffraction profile ของ PF (รูปที่ 3-8) แสดงให้เห็นว่ามี crystallinity ชัดเจนกว่า PG และโดยการเปรียบเทียบกับ MCC และ cellulose powder ที่ใช้เป็น standard ซึ่งแสดง Crystallinity ชัดเจน (รูปที่ 3-8) เช่นเดียวกันจะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างจากผลของ PG ชัดเจน

3.6 คุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ของสารสกัด PG และ PF

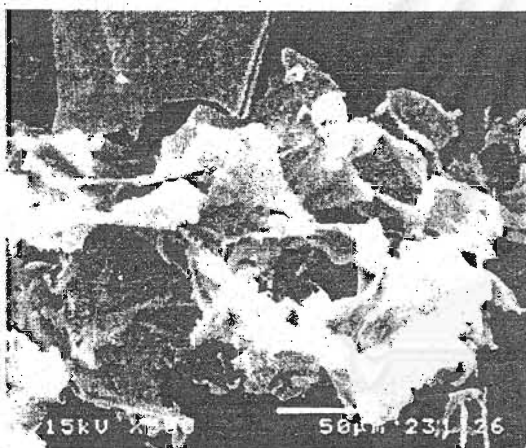
คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัด PG และ PF ได้แก่ การละลายน้ำและการละลายใน solvent ค่าความหนืด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่า Temperature of decomposition และค่าอื่นๆ ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 3-1 และคุณสมบัติของ PF ตามข้อกำหนดของคุณสมบัติ cellulose powder ใน USPXXIII แสดงไว้ในตารางที่ 3-2



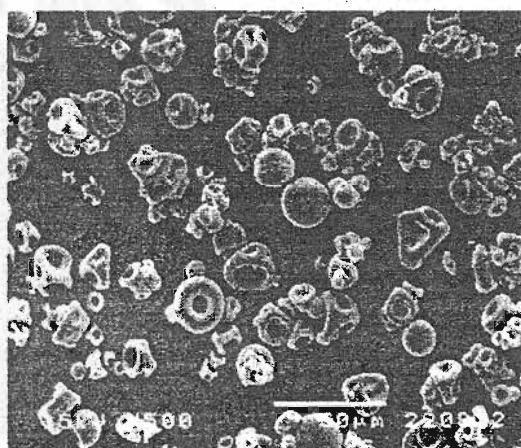
(a)



(b)

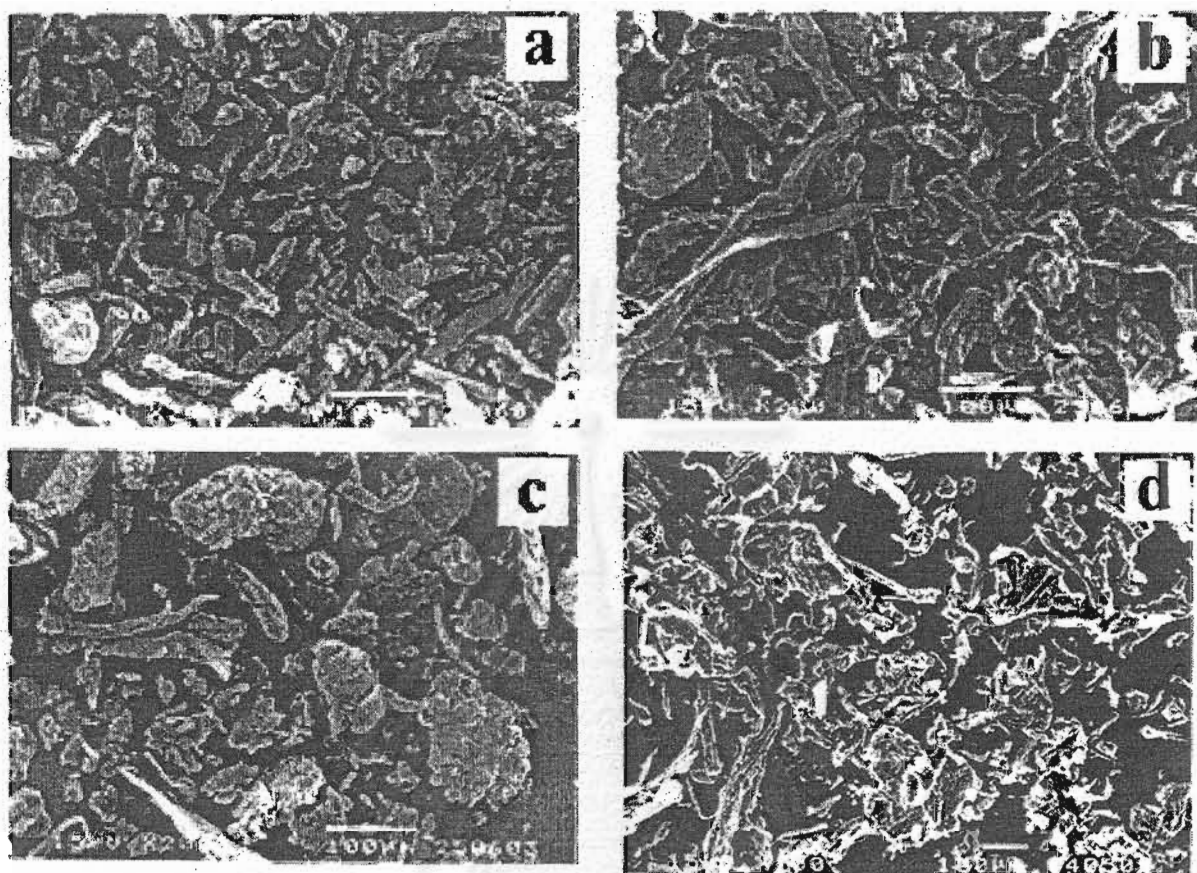


(c)



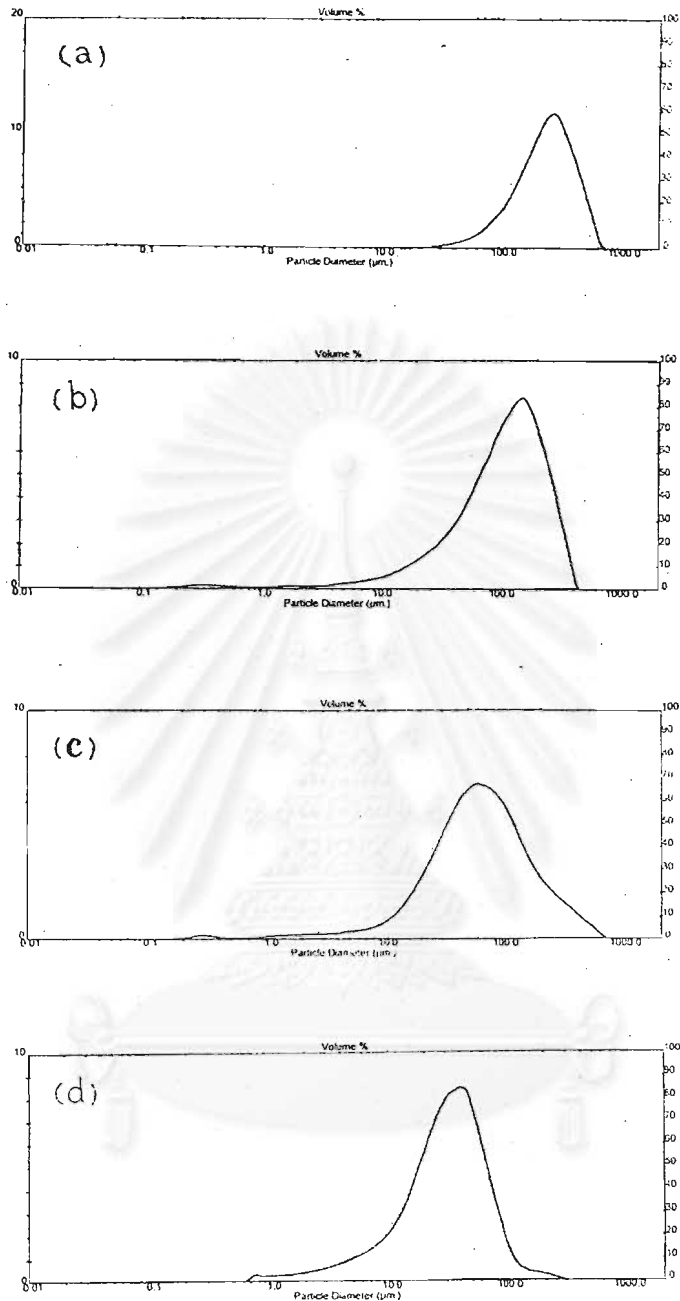
(d)

รูปที่ 3-1 Scanning electron micrographs ของผงแห้งของ (a) polysaccharide gel (PG) ทำให้แห้งโดยอบที่ 50°ซ ปั่นเป็นผงและผ่านร่งขนาด 60 mesh; (b) PG ทำให้แห้งโดย freeze drying (c) PG จาก freeze drying ปั่นเป็นผง; (d) PG ทำให้แห้งโดย spray drying

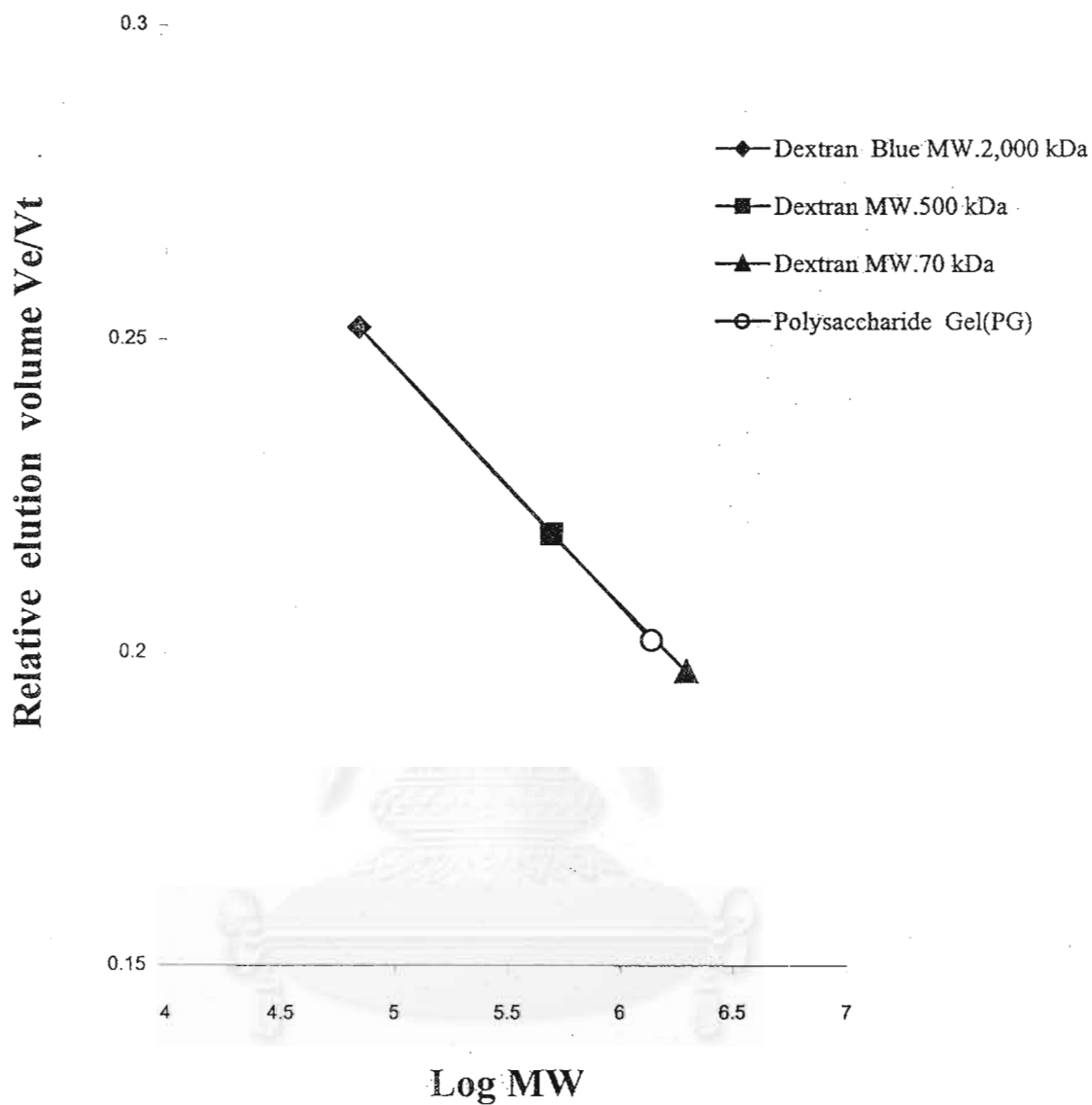


รูปที่ 3-2 Scanning electron micrographs ของผงแห้งของ (a) Microcrystalline cellulose ; (b) powder cellulose ; (c) polysaccharide fiber (PF) ทำให้แห้งโดยอบใน hot air oven บดเป็นผงและผ่านร่ร่งขนาด 80 mesh ; (d) PF ทำให้แห้งโดย freeze dryer และบดเป็นผง

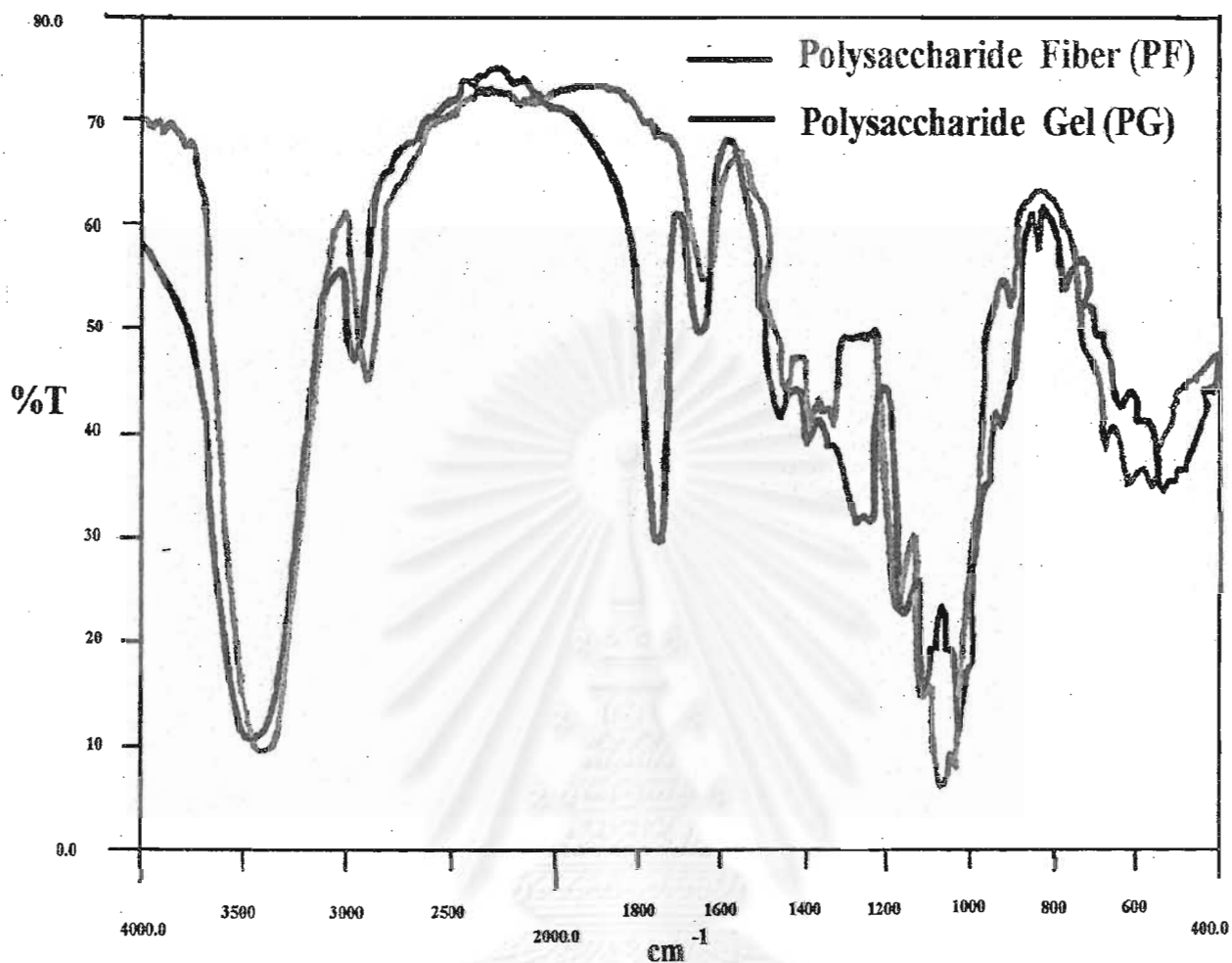
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3-3 Particle size distribution chromatograms ; (a) Polysaccharide gel (PG) จากการบดเป็นผง และผ่านร่ร่ง 80 mesh, (b) Polysaccharide fiber (PF) จากการบดเป็นผงและผ่านร่ร่ง 80 mesh , (c) Powder cellulose and (d) Microcrystalline cellulose.

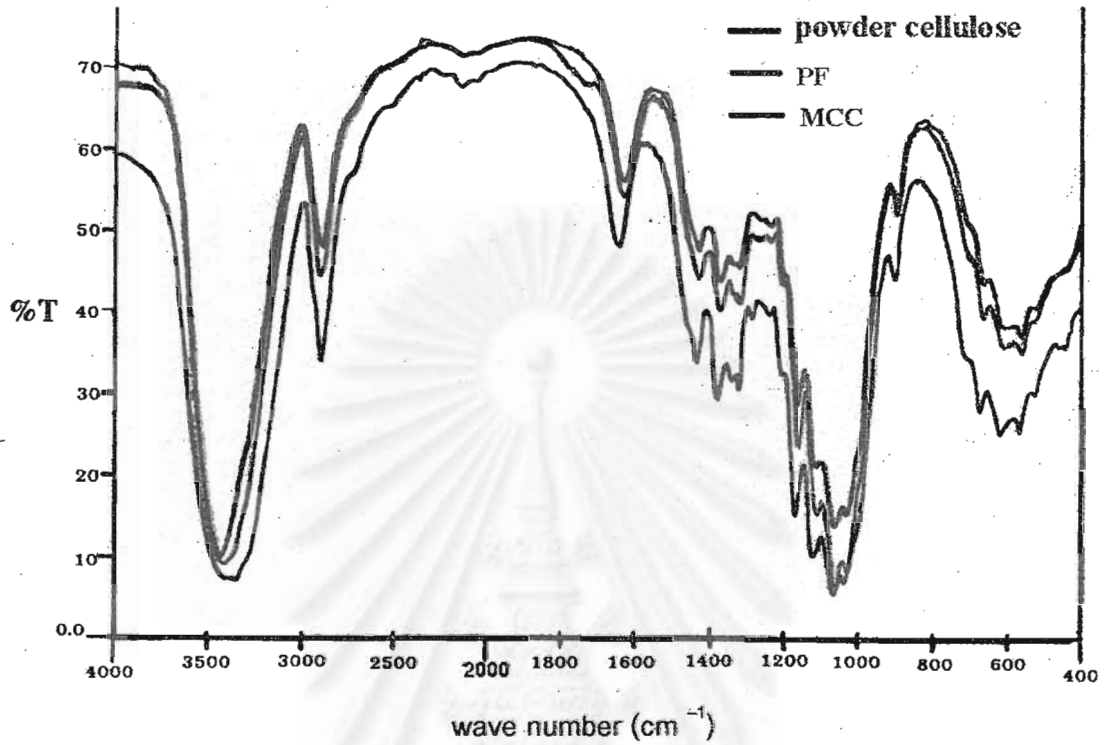


รูปที่ 3-4 แสดงค่า Molecular weight ของ PG จากการทดลองโดยวิธี Gel filtration chromatography ของ Sepharose 4B ขนาด column (3.4 x 95 cm.) flow rate 0.45 ml/min



รูปที่ 3-5 เปรียบเทียบ IR Spectra ของ PG และ PF จากเปลือกผลทุเรียน แสดงให้เห็น absorption bands ที่แตกต่างกันที่ 1749 cm^{-1} (C=O) ที่ 1639 cm^{-1} (COO) และที่ 1019 cm^{-1} (C-OH); PG = polysaccharide gel, PF = polysaccharide fiber

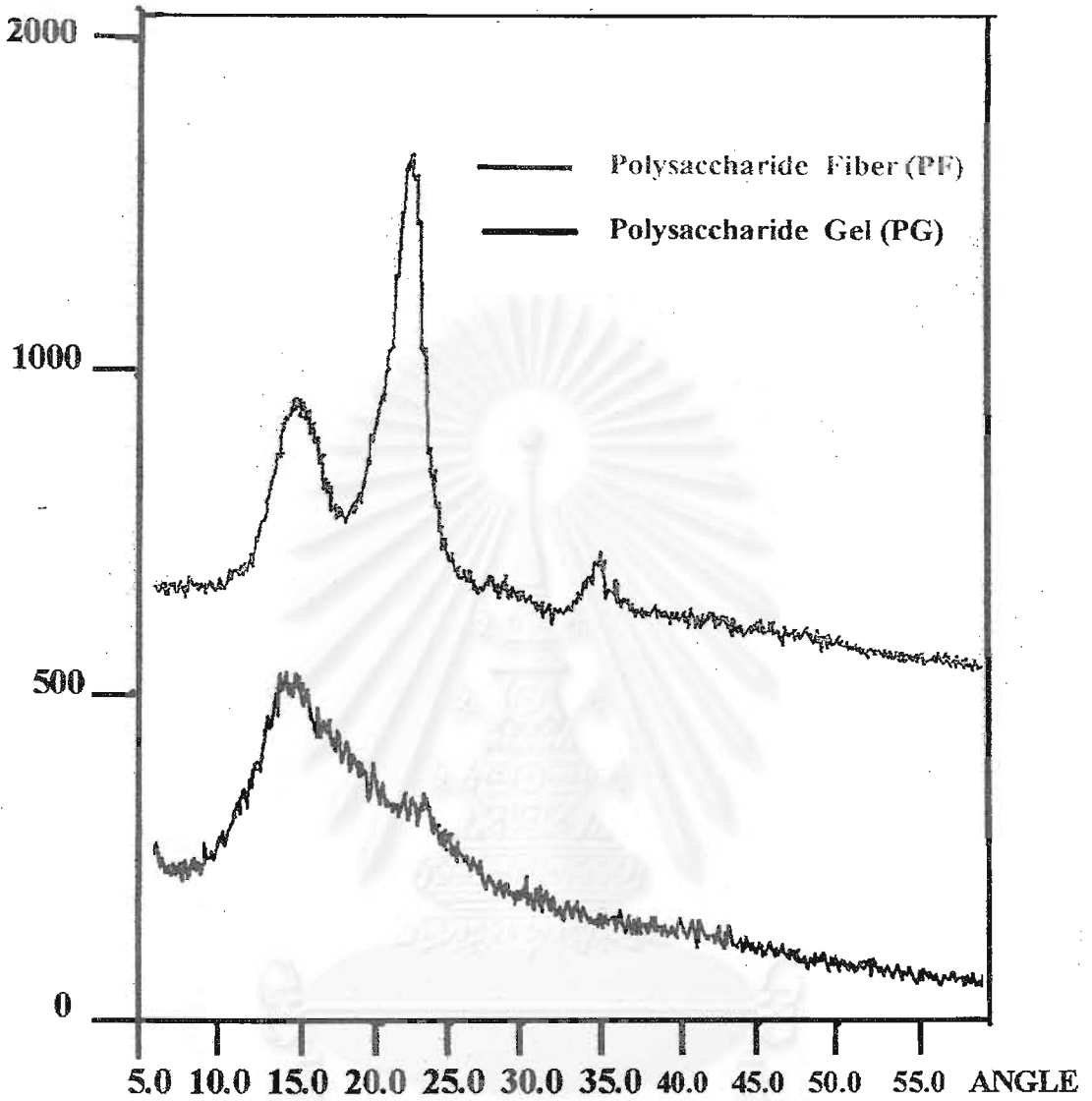
สถาบันวิจัยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



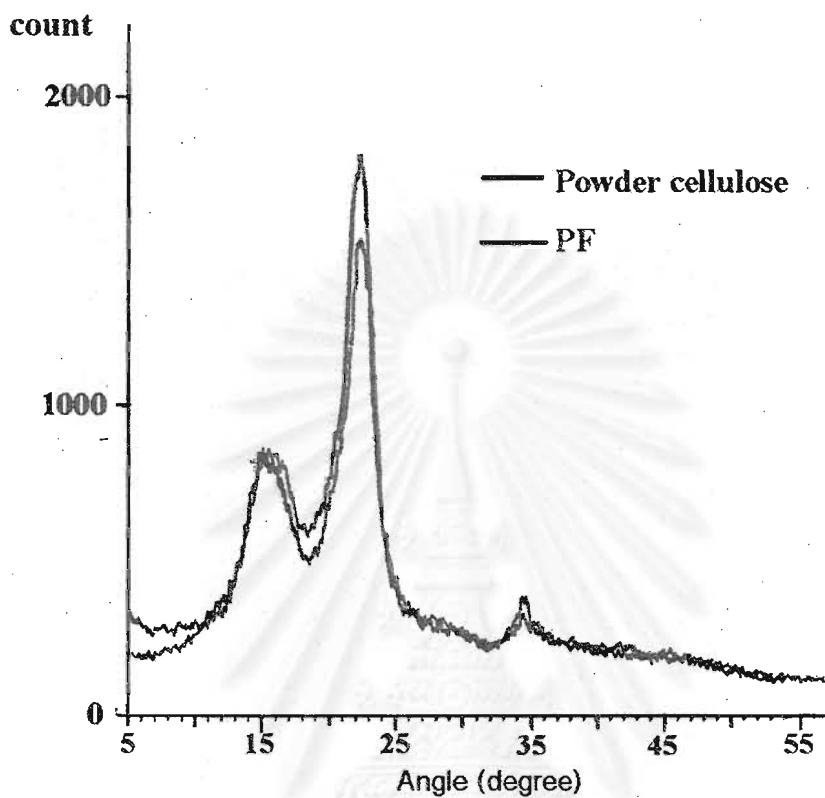
รูปที่ 3-6 เปรียบเทียบ IR spectra ของ PF , MCC และ powder cellulose. MCC = microcrystalline cellulose, PF = polysaccharide fiber จากเปลือกทุเรียน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COUNTS



รูปที่ 3-7 เปรียบเทียบ X-ray Diffraction patterns ระหว่าง polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF) จากเปลือกผลทุเรียน PG แสดงลักษณะของ amorphous powder และ PF แสดงลักษณะเป็น crystal powder



รูปที่ 3-8 เปรียบเทียบ X-ray Diffraction patterns ของ PF และ powder cellulose แสดงให้เห็นลักษณะของ crystallinity ในผงของ PF ที่คล้ายกับ cellulose

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3-1 คุณสมบัติอื่น ๆ ของสารสกัด polysaccharide gel (PG) และ polysaccharide fiber (PF)

Properties	Polysaccharide gel (PG)	Polysaccharide fiber (PF)
Description	Amorphous powder	Crystalline powder
	Pale orange-yellow to white powder	Creamy white powder
	Sour taste	
	Specific odor	
Decomposition temp. (Melting temp.)	275 ^o C	260 ^o C
pH	2.60 ± 0.14 (3% PG in water)	5.5 ± 0.3 (PF water extracted)
Viscosity	200-350 cps. (3% PG in water)	insoluble
Solubility		
Water	Swelled and formed viscous layer	insoluble
Ethanol	gel forming	insoluble
2-Propanol	gel forming	insoluble
Chemical test		
I ₂ -solution test	(+) ve (purple)	-
Molish's test	(+) ve (purple)	-
Fehling's test	(-) ve / (+) ve (red ppt)	-
	(acid hydrolyzate)	-
Orcinal reagent	(-) ve / (+) ve (green)	-
	(acid hydrolyzate)	-
Saliwanoff test	(-) ve / (+) ve	-
	(acid hydrolyzate)	-
Tollen's naphtho resorcinal's test	(+) ve (violet)	-

Table 3-2 เปรียบเทียบคุณสมบัติเฉพาะของ Polysaccharide fiber (PF) กับ MCC
และ powder cellulose

Specification	PF	MCC	Powder cellulose
pH	5.5±0.3	5.0 – 7.0	5.0 – 7.5
Loss on drying	3.7±0.7 %	≤ 7.0 %	≤ 6.0 %
Residue on ignition	0.21±0.15 %	≤ 0.05 %	≤ 0.30 %
Heavy metal	none	≤ 0.001 %	≤ 0.001 %
Decompose point	260 °C	260 – 270 °C	-
Particle size distribution	140-164 μm	35-48 μm	56-66 μm
Starch	none	none	none

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. คุณสมบัติทางชีวภาพของ PG

4.1 ผลของสารสกัด PG ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

4.3.1 การทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัด PG โดยวิธี Agar diffusion method

4.3.1.1 polysaccharide gel มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ อาหาร MN agar ที่ไม่ใส่ 1% glucose (MN) และที่ใส่ 1% glucose (MNG) ผลในตารางที่ 4-1 พบว่าสาร polysaccharide gel (PG) ความเข้มข้นที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ คือ PG มีผลยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้จากมากไปน้อยที่ความเข้มข้น PG เป็น 10%, 5%, 2.5% และ 1.25% ตามลำดับ ขณะที่ในความเข้มข้น 0.625% PG ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

4.3.1.2 ผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* พบว่า PG ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้จากมากไปน้อยที่ความเข้มข้น PG 10%, 5%, 2.5% ในอาหาร MNG ตามลำดับ ขณะที่ในความเข้มข้นของ 0.625% PG และ 1.25% PG ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ส่วนในอาหาร MN agar พบว่า PG ความเข้มข้นที่ 10% และ 5% PG เท่านั้นที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ (ตารางที่ 4-1)

4.3.1.3 น้ำตาล glucose ในความเข้มข้น 40%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 1.25% และ 0.625% ไม่มีผลต่อการเจริญของ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MN และ MNG ขณะที่ glucose 40%, 20%, 10%, เท่านั้นที่มีผลยับยั้งการเจริญของ *E. coli* เฉพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MN ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MNG พบว่าในทุกความเข้มข้นของ glucose ที่ทดสอบไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* (ไม่ได้แสดง data)

4.3.1.4 polysaccharide gel (PG) และ glucose ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. cerevisiae* และ *C. albicans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud agar ที่ไม่มี 4% glucose (SA) และ Sabouraud agar ที่มี 4% glucose (SGA) ดังแสดงผลในตารางที่ 4-1

4.3.1.5 การเปรียบเทียบกับ NSS control จะไม่พบว่า NSS มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ทดสอบ (ตารางที่ 4-1) เชื้อที่ทดสอบยังมีชีวิตอยู่ได้นานกว่า 5 วัน

ตารางที่ 4-1 ผลของ polysaccharide gel (PG) ต่อการเจริญของ bacteria และ yeast โดยวิธี agar diffusion method

%PG	Diameter of inhibitionzone, mm (mean±SD)							
	S. aureus		E. coli		C. albicans		S. cerevisiae	
	MNG	MN	MNG	MN	SAG	SA	SAG	SA
10	16.53±1.07	15.53±0.62	19.00±1.31	12.04±0.15	NZ	NZ	NZ	NZ
5	14.13±0.92	12.00±1.22	16.17±0.47	9.93±0.60	NZ	NZ	NZ	NZ
2.5	10.50±0.50	10.80±0.17	12.97±0.55	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
1.25	9.97±0.15	10.20±0.26	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
0.625	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
0 (NSS)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

MN=agar containing mineral and nitrogen, MNG=MN agar containing glucose, SA=agar containing peptone, SAG=SA agar containing glucose, PG=polysaccharide gel, NSS=normal saline solution, NZ=no inhibition zone

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.2 การทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด PG โดยวิธี Broth dilution method

4.3.2.1 *E. coli* เจริญอย่างช้าๆ ดังตารางที่ 4-2 ใน 0.5% PG/MN และ 0.1% PG/MN และเจริญใน 0.1% G/MN ได้ดีกว่า 0.5% G/MN ให้ maximum growth ภายใน 5 วัน โดยที่ *E. coli* จะมีชีวิตรอดใน 0.1% G/MN ดีกว่าใน 0.5% G/MN (มีชีวิตรอดเพียง 3 วัน ใน 0.5% G/MN) ดังแสดงผลในตารางที่ 4-2 *E. coli* จะมีชีวิตรอดในสารละลาย glucose 0.5% G และ 0.1% G ใน NSS ได้ดีกว่าใน NSS และในน้ำกลั่น (DW) เชื้อจะตายใน 0.5% PG 0.1% PG และ 0.02% PG ใน NSS ภายใน 1 วัน (ตารางที่ 4-4)

4.3.2.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MN broth ที่มีสารสกัด PG ในความเข้มข้นต่ำ *S. aureus* สามารถเจริญใน 0.5% PG/MN ได้ดีกว่าใน 0.1% PG/MN ให้ maximum growth ภายใน 3-7 วัน ในขณะที่ 0.1% G/MN เชื้อเจริญได้ดีกว่าใน 0.5% G/MN (ตารางที่ 4-3) พบว่า *S. aureus* จะมีชีวิตรอดในสารละลาย NSS ที่มี glucose 0.5% G 0.1% G และ 0.5% G ได้ดีกว่าใน NSS และในน้ำกลั่น (DW) ในสารละลาย PG ใน NSS ที่มี 0.5% PG 0.1% PG และ 0.02% PG มีผลทำให้เชื้อตายภายใน 1 วัน (ตารางที่ 4-5)

4.3.2.3 *S. cerevisiae* เจริญใน 1% G/SB 0.5% G/SB 1% PG/SB และ 0.5% PG/SB โดยมีช่วงการเจริญสูงสุดในวันที่ 1-3 (ตารางที่ 4-6) และ *S. cerevisiae* จะมีชีวิตอยู่เจริญได้เล็กน้อยในสารละลาย glucose ใน NSS ในช่วง 13 วันที่ทดสอบ แต่เชื้อจะมีจำนวนลดลงในสารละลาย PG ใน NSS ที่ 0.02% PG ใน NSS เช่นเดียวกับในน้ำกลั่น (ตารางที่ 4-8)

4.3.2.4 *C. albicans* เจริญใน 1% G/SB 0.5% G/SB 1% PG/SB โดยมีช่วงการเจริญสูงสุดในวันที่ 1-3 และ (ตารางที่ 4-7) *C. albicans* จะมีชีวิตอยู่และเจริญได้เล็กน้อยในสารละลาย glucose ใน NSS ในช่วง 13 วันที่ทดสอบ แต่เชื้อจะมีจำนวนลดลงใน NSS ที่มี PG ที่ 0.02% PG เช่นเดียวกับใน NSS และในน้ำกลั่น (ตารางที่ 4-9)

4.2 ผลของสารสกัด PG ต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase

จากผลการทดลองโดยใช้สารสกัด 2.5% PG พบว่า PG สามารถทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase หลังจากปล่อยให้ย่อยในเอนไซม์ปริมาณ 25 ยูนิต ให้ทำปฏิกิริยาที่ 37 °ซ นาน 30 นาที และทดสอบผลการถูกตัดสายยาวของโพลีแซคคาไรด์ให้สั้นลงได้ด้วยการตรวจสอบกับน้ำยา iodine การเกิดสีม่วง-แดงของสารละลาย PG พบว่าภายหลังการย่อยด้วย α -amylase PG จะไม่ให้สีม่วงแดงกับน้ำยา iodine เช่นเดียวกับผลของ soluble starch control ตามตารางที่ 4-10 แสดงว่าเกิดการตัดสายให้สั้นลงของน้ำแป้งจนไม่เกิดสีน้ำเงินกับน้ำยา iodine ซึ่งชี้ให้เห็นว่าใน PG อาจมีการจับกันของน้ำตาลด้วย glycosidic bond α 1-4 ทำให้เกิดโครงสร้าง α -helix สามารถให้สีม่วงแดงกับน้ำยา iodine ได้แต่จากการทดสอบปลาย reducing end ของ Cl-OH ด้วย Fehling's test

ตารางที่ 4-2 การเจริญของ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MN และใน normal saline ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>E. coli</i> (CFU/ml $\times 10^6$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
NSS	0.3	0.43	0.53	0.33	0.0005	0	0	0
MN	0.3	600	140	100	55	20	31	0.001
1%PG/MN	0.3	0	0	0	0	0	0	0
0.5%PG/MN	0.3	180	1200	2100	1200	270	400	400
0.1%PG/MN	0.3	250	1600	3200	160	160	50	70
0.5%G/MN	0.3	800	0.95	0	0	0	0	0
0.1%G/MN	0.3	800	850	240	200	95	180	6.5
1%PG/NSS	0.3	0	0	0	0	0	0	0
0.5%PG/NSS	0.3	0	0	0	0	0	0	0
0.1%PG/NSS	0.3	0	0	0	0	0	0	0
0.02%PG/NSS	0.3	0	0	0	0	0	0	0
0.5%G/NSS	0.3	0.6	0.6	7.5	7.0	3.0	0.45	0.17
0.1%G/NSS	0.3	1.8	1.8	7.5	6.5	7.5	0.24	0.0035

NSS=normal saline, MN=mineral and nitrogen broth, G=glucose, PG=polysaccharide gel

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-3 การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MN และใน normal saline ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>S.aureus</i> (CFU/ml $\times 10^6$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
NSS	4.5	0.74	0.01	0.02	0	0	0	0
MN	4.5	180	600	500	540	260	70	130
1%PG/MN	4.5	0.7	0.01	0.02	0	0	0	0
0.5%PG/MN	4.5	1.1	8.5	2300	2300	350	260	400
0.1%PG/MN	4.5	250	950	800	800	320	270	200
0.5%G/MN	4.5	550	4.0	1.7	0.005	0.16	0.0002	0
0.1%G/MN	4.5	400	1200	2500	370	250	250	600
1%PG/NSS	4.5	0	0	0	0	0	0	0
0.5%PG/NSS	4.5	0	0	0	0	0	0	0
0.1%PG/NSS	4.5	0	0	0	0	0	0	0
0.02%PG/NSS	4.5	0	0	0	0	0	0	0
0.5%G/NSS	4.5	0.86	0.86	0.95	0.23	0.13	0.60	0.010
0.1%G/NSS	4.5	0.90	0.60	0.40	0.18	0.31	0.30	0.040

NSS=normal saline, MN=mineral and nitrogen broth, G=glucose, PG=polysaccharide gel

จุฬาลง

ตารางที่ 4-4 การเจริญของ *E. coli* ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>E. coli</i> (CFU/ml $\times 10^6$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
DW	16	2.8	0.72	0.65	0.36	0.035	0.007	0.005
NSS	16	2.1	0.51	2.9	3.0	110	6.3	110
2.5%PG/NSS	16	0	0	0	0	0	0	0
0.5%PG/NSS	16	0	0	0	0	0	0	0
0.1%PG/NSS	16	0	0	0	0	0	0	0
0.02%PG/NSS	16	0	0	0	0	0	0	0
2.5%G/NSS	16	18	5.8	0.8	0.17	0.20	0.13	0.10
0.5%G/NSS	16	27	5.3	1.6	380	0.19	0.18	0.019
0.1%G/NSS	16	23	6.2	6.8	0.90	0.14	0.09	0.083
0.02%PG/NSS	16	19	13	2.0	0.68	0.13	0.04	0.006

NSS=normal saline, DW=distill water, G=glucose, PG=polysaccharide gel

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-5 การเจริญของ *S. aureus* ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>S.aureus</i> (CFU/ml $\times 10^6$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
DW	8.5	0.18	0.013	0.021	0.007	0.0004	0	0
NSS	8.5	1.7	0.031	0.002	0.0003	0	0	0
2.5%PG/NSS	8.5	0	0	0	0	0	0	0
0.5%PG/NSS	8.5	0	0	0	0	0	0	0
0.1%PG/NSS	8.5	0	0	0	0	0	0	0
0.02%PG/NSS	8.5	0	0	0	0	0	0	0
2.5%G/NSS	8.5	2.4	0.004	0.0005	0	0	0	0
0.5%G/NSS	8.5	2.2	0.028	0.008	0.002	0.0010	0	0
0.1%G/NSS	8.5	3.1	0.013	0.010	0.008	0.001	0.0002	0
0.02%PG/NSS	8.5	3.3	0.036	0.009	0.003	0.0004	0	0

NSS=normal saline, DW=distill water, G=glucose, PG=polysaccharide gel

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-6 การเจริญของ *S. cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud broth without glucose ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>S. cerevisiae</i> (CFU/ml $\times 10^8$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
NSS	1.5	0.97	0.13	0.08	0.22	0.40	0.98	0.95
1.0%G/SB	1.5	850	320	300	160	50	82	30
1.0%PG/SB	1.5	72	950	24	17	17	17	15
0.5%G/SB	1.5	720	350	120	35	47	32	35
0.5%PG/SB	1.5	120	250	190	140	45	72	62

NSS=normal saline, G=glucose, PG=polysaccharide gel, SB=sabouraud broth without glucose

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-7 การเจริญของ *C. albicans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud broth without glucose ที่มี PG เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>C. albicans</i> (CFU/ml $\times 10^8$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
NSS	2.2	0.93	0.80	0.67	0.73	0.43	0.55	0.65
1.0%G/SB	2.2	91	100	25	52	17	47	62
1.0%PG/SB	2.2	3.5	65	7.5	6.5	6.7	10	17
0.5%G/SB	2.2	55	50	52	70	37	57	60
0.5%PG/SB	2.2	8.0	16	22	45	27	75	50

NSS=normal saline, G=glucose, PG=polysaccharide gel, SB=sabouraud broth without glucose

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-8 การเจริญของ *S. cerevisiae* ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose

Media \ Day	Growth of <i>S. cerevisiae</i> (CFU/ml×10 ⁸)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
DW	2.9	0.16	0.20	0.19	0.09	0.11	0.11	0.072
NSS	2.9	0.19	0.19	0.66	0.40	0.28	0.18	0.18
2.5%PG/NSS	2.9	0.18	0.18	0.13	0.15	0.15	0.73	0.90
0.5%PG/NSS	2.9	0.24	0.31	0.90	0.30	0.25	0.43	0.25
0.1%PG/NSS	2.9	0.28	0.46	0.44	0.27	0.53	0.15	0.22
0.02%PG/NSS	2.9	0.13	0.25	0.35	0.26	0.22	0.11	0.09
2.5%G/NSS	2.9	0.43	0.44	0.59	0.55	0.75	0.20	0.46
0.5%G/NSS	2.9	0.34	0.39	0.54	0.75	0.53	0.21	0.55
0.1%G/NSS	2.9	0.25	0.55	0.54	0.90	0.63	0.45	0.45
0.02%G/NSS	2.9	0.35	0.53	0.63	0.55	0.83	0.15	0.52

NSS=normal saline, DW=distill water, G=glucose, PG=polysaccharide gel

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-9 การเจริญของ *C. albicans* ในสารละลายเจือจาง PG ใน normal saline เปรียบเทียบกับ glucose

Nutrient \ Day	Growth of <i>C. albicans</i> (CFU/ml $\times 10^8$)							
	0	1	3	5	7	9	11	13
DW	8.1	0.13	0.19	0.21	0.18	0.28	0.20	0.30
NSS	8.1	0.22	0.15	0.17	0.18	0.20	0.13	0.17
2.5%PG/NSS	8.1	0.20	0.17	0.30	0.27	0.18	0.17	0.15
0.5%PG/NSS	8.1	0.29	0.27	0.60	0.43	0.34	0.50	0.50
0.1%PG/NSS	8.1	0.24	0.32	0.30	0.24	0.38	0.48	0.80
0.02%PG/NSS	8.1	0.26	0.22	0.20	0.24	0.28	0.33	0.43
2.5%G/NSS	8.1	0.24	0.41	0.37	0.31	0.63	0.80	0.55
0.5%G/NSS	8.1	0.15	0.56	0.43	0.49	0.70	0.78	0.78
0.1%G/NSS	8.1	0.20	0.95	0.48	0.37	0.70	0.78	0.80
0.02%G/NSS	8.1	0.19	0.54	0.60	0.37	0.70	0.70	0.88

NSS=normal saline, DW=distill water, G=glucose, PG=polysaccharide gel

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของ reducing sugar พวก mono และ di-saccharide ไม่ให้ผลในตัวอย่าง PG ขณะที่ soluble starch control จะให้ผลของปฏิกิริยาการย่อยจนถึงน้ำตาลขนาดเล็กที่มีปลาย reducing ในปริมาณมากพอจึงเห็นตะกอนแดงชัดเจน จากผลที่ได้ชี้ให้เห็นว่า PG สามารถทนต่อการย่อยด้วย α -amylase ได้ดีต่างจาก starch การย่อย PG จะไม่ถูกย่อยจนเหลือแต่ mono- หรือ di-saccharide ดังเช่นการย่อย starch ผลการทดลองดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 4-10 จากผลการทดลองที่ได้ อาจแสดงว่าสาร polysaccharide (PG) มีองค์ประกอบของน้ำตาลที่มีการต่อกันด้วย α 1-4 glycosidic bond เป็นสายยาวมีโครงสร้าง α -helical structure ที่ต่อกันด้วยน้ำตาล 24-30 โมเลกุลทำให้เห็นสีม่วงแดงกับน้ำยา iodine (19,25) ภายหลังการทดลองให้ย่อยด้วย α -amylase สีม่วงแดงจะหายไป แต่ PG ไม่สามารถถูกย่อยจนเหลือโมเลกุลเล็กๆ ของ mono- หรือ di-saccharide ที่ให้ปลาย reducing end ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยจะให้ผลได้เป็นตะกอนสีแดงอิฐของ cuprous oxide (Cu_2O) โดย Fehling's test ดังนั้นอาจเสนอแนะได้ว่า PG สามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase และเมื่อให้รับประทานจะถูกขับถ่ายออกจากทางเดินอาหาร โดยไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร

4.3 ผลของสารสกัด PG ต่อการกักเก็บสารลิปิด cholesterol

จากผลการทดลองเบื้องต้นเพื่อทดสอบคุณสมบัติของสารสกัด PG ต่อการจับสารไขมันได้แก่ cholesterol โดยใช้เทคนิค membrane dialysis ในหลอดทดลองและตรวจวิเคราะห์ปริมาณ cholesterol โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีและวัดสีด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยการทดสอบเบื้องต้นใช้เวลาในการ dialysis นาน 30 นาที ใช้ PG ในความเข้มข้น ตั้งแต่ 0-2% พบว่า PG ที่ความเข้มข้น 1% สามารถกักเก็บ cholesterol ไว้ได้ กว่า 50% เมื่อตรวจสอบภายหลังการ dialysis นาน 30 นาที ดังแสดงผลไว้ในตารางที่ 4-11 และผลการทดสอบกับ PG ในความเข้มข้นเดียวกันโดยใช้เวลาในการทำ dialysis นาน 10 ชั่วโมง และตรวจวิเคราะห์ปริมาณ cholesterol ที่คงอยู่ภายในและที่ถูกปล่อยมาภายนอกถุง dialysis membrane โดยเทคนิควิเคราะห์ HPLC reverse phase ได้ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 4-1 และ 4-2 ตามลำดับ ปริมาณของสารลิปิด cholesterol ที่พบอยู่ภายใน membrane ผสมกับ PG และ cholesterol ที่ปล่อยออกมาภายนอก membrane เป็นไปในแนวทางเดียวกัน จากรูปที่ 4-1 และ 4-2 แสดงให้เห็นว่ายังมีความเข้มข้นของ PG สูงขึ้นจะเพิ่มการกักเก็บ cholesterol ไว้ภายใน PG ใน dialysis membrane ได้มากขึ้นและพบว่าความเข้มข้นเพียง 1% และ 2% PG จะกักเก็บ cholesterol ได้ 62% และ 89% ตามลำดับ แม้จะทำการ dialysis นานถึง 10 ชั่วโมง ในขณะที่เดียวกันพบ cholesterol อยู่ภายนอกถุง dialysis membrane 29% และพบเพียง 5% ที่มีความเข้มข้น 1% และ 2% PG ตามลำดับ

ตารางที่ 4-10 แสดงผลของ α -amylase ต่อการย่อยสารสกัด PG เปรียบเทียบกับ soluble starch และ glucomannan

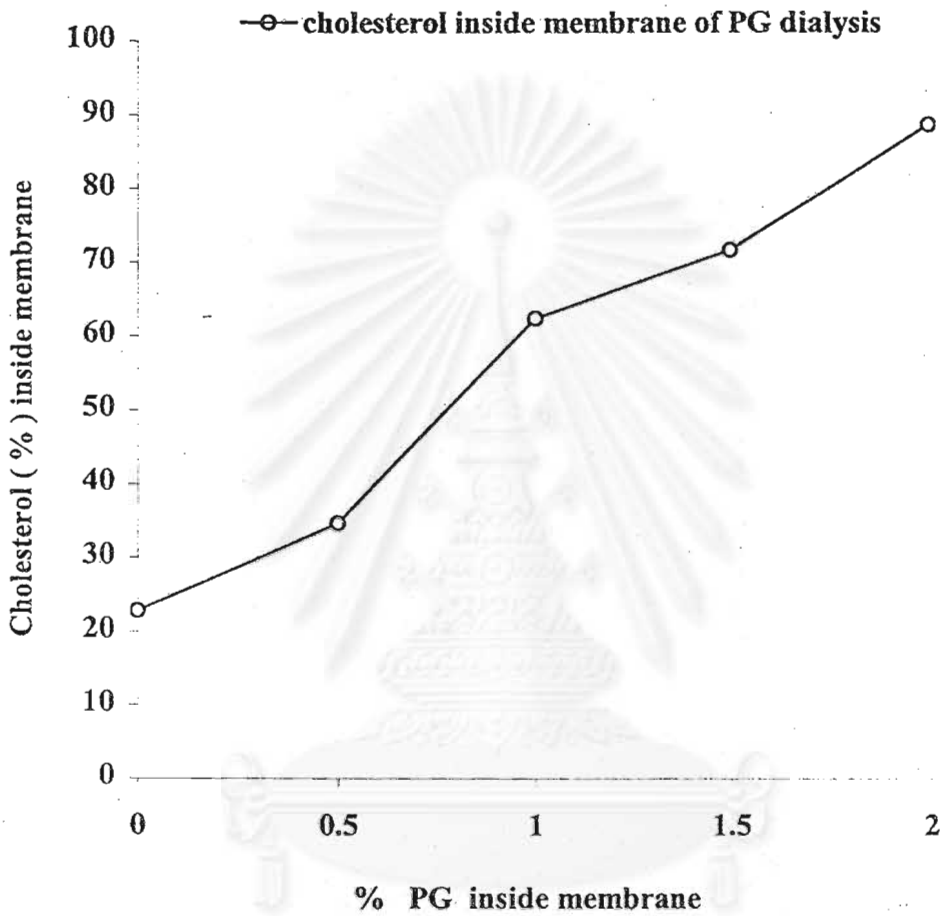
การทดลอง	I_2 -test (purple/ม่วงแดง)		Fehling's test (red ppt)	
	ระยะเวลาการย่อยที่ 37 ^o ซ		ระยะเวลาการย่อยที่ 37 ^o ซ	
	0 min	30 min	0 min	30 min
Blank (น้ำกลั่น + α -amylase)	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve
Control 1 (น้ำแป้ง + น้ำกลั่น)	⊕ ve (น้ำเงิน)	⊕ ve (น้ำเงิน)	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)
Control 2 (น้ำแป้ง + α -amylase)	⊕ ve (น้ำเงิน)	⊖ ve	⊖ ve (ภายใน 5 min)	⊕ ve (ภายใน 1 min)
Test 1 (PG + น้ำกลั่น)	⊕ ve (ม่วงแดง)	⊕ ve (ม่วงแดง)	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)	⊖ ve (ภายใน 5 min)
Test 2 (PG + α -amylase)	⊕ ve (ม่วงแดง)	⊖ ve	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)	⊖ ve (ภายใน 5 min)
Test 3 (glucomannan + น้ำกลั่น)	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)
Test 4 (glucomannan + α -amylase)	⊖ ve	⊖ ve	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)	⊖ ve (ภายใน 5 นาที)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

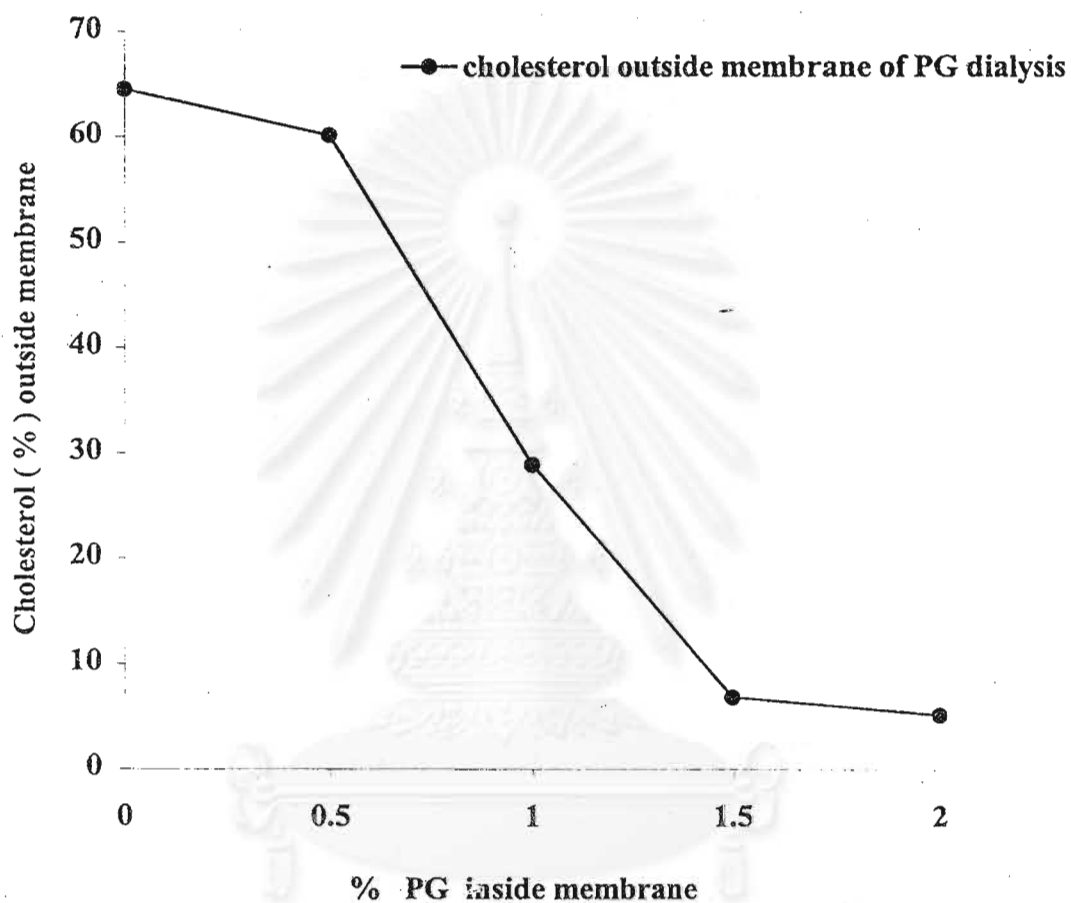
ตารางที่ 4-11 ผลของ polysaccharide gel (PG) ต่อการกักเก็บ cholesterol ภายใน dialysis membrane ภายหลังจากการทำ dialysis สารผสมของ PG กับ cholesterol ที่มี 1% triton X 100 ภายใน dialysis bag ใน Ringer Lactate Buffer pH 7 เป็นเวลา 30 นาที ตรวจวิเคราะห์ cholesterol โดย spectrometer

%PG	% cholesterol (mean \pm SD)	% cholesterol (mean \pm SD)
	inside membrane	outside membrane
0	19.24 \pm 0.74	64.92 \pm 2.14
0.5	38.29 \pm 0.42	46.42 \pm 1.69
1	51.11 \pm 0.34	39.91 \pm 0.01
1.5	56.17 \pm 1.65	27.69 \pm 1.85
2	71.45 \pm 0.81	18.47 \pm 0.86

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4-1 แสดงปริมาณ cholesterol ที่ถูกกักเก็บภายใน dialysis membrane เมื่อมี PG ในความเข้มข้นต่างๆที่ 0 ถึง 2% ภายหลังจากการทำ dialysis เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง



รูปที่ 4-2 แสดงปริมาณ cholesterol ที่อยู่ภายนอก dialysis membrane เมื่อมี PG ในความเข้มข้นต่างๆที่ 0 ถึง 2% ภายหลังจากการทำ dialysis เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง

5. การใช้ประโยชน์ของสารสกัด PG ในการเตรียมตำรับยาและอาหาร

สารสกัด PG มีคุณสมบัติของการพองตัว และพอร์มลักษณะเป็นเจลชั้นหนืดในน้ำจากคุณสมบัติเช่นนี้ทำให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางในอุตสาหกรรมด้านยาเครื่องสำอางและอาหารคล้ายสารพวก pectin พวก gum ต่างๆ และ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเป็นสารคาร์โบไฮเดรตพวกโพลีแซคคาไรด์ ไม่มีองค์ประกอบของ derivatives ของคาร์โบไฮเดรต พวก aminosugar และ sulfonated sugar ทำให้คาดได้ว่าสารสกัด PG น่าจะมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง อาจนำมาใช้เป็นยาช่วยเตรียมเภสัชผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆ ได้แก่ ยาเม็ด ยาเม็ดเคลือบ ยาน้ำแขวนตะกอน ยาน้ำแขวนลอย เจล ครีม เป็นต้น โดยสารสกัด PG น่าจะมีศักยภาพในการนำมาใช้เช่นเดียวกับ โพลีแซคคาไรด์ธรรมชาติอื่นๆ ในการทำหน้าที่เป็น suspending agent gelling agent, thickeners, stabilizer, emulsifier, lubricants and films เป็นต้น (1) การศึกษาการใช้สารสกัด PG จากเปลือกทุเรียนสดในการเตรียมเภสัชผลิตภัณฑ์ได้แก่ ใช้เป็น disintegrator และ binder ในการดอตยาเม็ด (3,4) ใช้เป็น suspending agent ในการเตรียมยาน้ำแขวนตะกอน ใช้เป็น emulsifier ในยาน้ำแขวนลอย (5,6) ตลอดจนใช้ในการเตรียมอาหารพวกแอสลีย์ แยม และน้ำสลัดมายองเนส(1,6) ได้ผลที่น่าพอใจ

5.1 การใช้สารสกัด PG ในการเคลือบเม็ดยาในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบ

การทดลองใช้สารสกัด PG เป็นสารโพลีเมอร์ในยาเม็ดเคลือบฟิล์ม ซึ่งเป็นยาเม็ดที่นิยมใช้มากในปัจจุบันแทนการใช้ยาเม็ดเคลือบน้ำตาล ซึ่งมีกระบวนการทำที่มีขั้นตอนน้อยกว่าใช้เวลาสั้นกว่า ปัจจุบันสารโพลีเมอร์เหล่านี้จะเป็นวัตถุดิบนำเข้าเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ประโยชน์ของยาเม็ดเคลือบต่อคนไข้คือ ช่วยให้รับประทานง่ายกลืนสะดวกช่วยกลบกลืนรสและสีที่ไม่พึงปรารถนาของตัวยานอกจากนี้ยังสามารถช่วยการปลดปล่อยตัวยา และช่วยป้องกันการสลายง่ายของตัวยาเนื่องจากกรดในกระเพาะและช่วยลดการระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารของยาแก้ปวดหลายชนิดที่กัดกระเพาะ และข้อดีของการเคลือบยาเม็ดคือการช่วยป้องกันตัวยาจากความชื้น แสงและอากาศภายนอกที่จะทำให้ยาสลายตัวได้ง่าย เนื่องจากสารสกัด PG เป็นโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น chloroform acetone carbon tetrachloride ซึ่งมักใช้เป็นตัวทำละลายในการเคลือบฟิล์ม การใช้น้ำแทนเมื่อใช้สารสกัด PG เคลือบเม็ดยาจะช่วยลดต้นทุนการผลิตได้อีกระดับหนึ่งรวมทั้งช่วยลดมลภาวะและเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้ปฏิบัติงานได้อีกด้วย

จากการทดลองใช้สารสกัด PG ในการเตรียมผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบพบว่า PG มีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้เคลือบเม็ดยาได้ผลดีน่าพอใจ โดยใช้สาร PG ความเข้มข้น 3% ในน้ำกั้นสามารถเคลือบเม็ดยาให้ฟิล์มครอบคลุมทั่วเม็ดยาให้เรียบได้ผลที่น่าพอใจโดยใช้เวลาในการเคลือบ 105 นาที เทียบกับสูตรมาตรฐานคือ 4% HPMC E 5 ร่วมกับ 2.7%

HPMC E 15 ที่ใช้เวลาเคลือบ 60 นาที การใช้สูตรเคลือบ 3% PG ร่วมกับ 2.67% HPMC E 5 และสูตรการเคลือบ 2.6% PG ร่วมกับ 2.7% HPMC E 15 สามารถเคลือบได้ผิวเรียบน่าพอใจ เช่นเดียวกันโดยใช้เวลาในการเคลือบ 75 นาที และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อดูการละลายของฟิล์มที่เคลือบเม็ดยาในน้ำกลั่น PG ฟิล์มจะค่อยหลุดเป็นเกล็ดออกจากเม็ดยา การประเมินคุณภาพของฟิล์มพบว่าสูตรฟิล์มที่ประกอบด้วย 2.6% PG ที่มี 2.5% HPMC และ 10% PEG 6,000 เป็น plasticizer จะได้ฟิล์มที่มีคุณภาพของฟิล์มที่ดี

การทดลองการเตรียมยาเม็ดเคลือบโดยใช้สารสกัด PG เป็นสารโพลีเมอร์เคลือบเม็ดยามีผลการทดลองต่อไปนี้

5.1.1 การเปรียบเทียบสภาวะเหมาะสมที่ใช้ในการเคลือบเม็ดยา

พบว่าแกนเม็ดยาที่เตรียมได้มีความแข็งแรงอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมและไม่มีการแตกของเม็ดยาขณะทำการทดลอง ส่วนการตกให้มึนรูปทรงขมเปียกปูนซึ่งจะเคลือบเม็ดยายากกว่าแกนเม็ดกลม จึงอาจสะท้อนถึงประสิทธิภาพของน้ำยาเคลือบอีกทางหนึ่งและจากสภาวะที่ใช้ในวิธีวิจัยข้อ 2.5.1.2 ในการทดลองที่ T1 เม็ดยาที่เคลือบแล้วมีลักษณะผิวขรุขระ ไม่เรียบมีลักษณะ เป็นผิวส้ม (orange peel) ซึ่งอาจเกิดจากการพ่นน้ำยาเคลือบด้วยอัตราเร็วสูงเกินไป ทำให้น้ำยาระเหยไม่ทัน สภาวะที่ปรับใช้ในการทดลองที่ T2 จึงลดอัตราเร็วของการพ่นน้ำยาเคลือบเป็น 6 รอบ / นาที หลังจากเคลือบเม็ดยาแล้วพบว่าผิวของเม็ดยายังขรุขระอยู่บ้าง ไม่เรียบเท่าที่ควร แต่เรียกว่าเม็ดยาที่เคลือบได้จากสภาวะที่ใช้ใน T1 ดังนั้นการปรับสภาวะที่ใช้ใน T3 จึงลดอัตราเร็วของการพ่นน้ำยาเคลือบเป็น 5 รอบ / นาที ซึ่งพบว่าเม็ดยาที่เคลือบได้นั้น เรียกว่าที่ได้จากสภาวะที่ใช้ใน T1 และ T2 แต่ก็ยังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก ดังนั้นในสภาวะที่ใช้ใน T4 จึงเปลี่ยนไปใช้น้ำยาเคลือบสูตร F2 ผลการทดลองพบว่าเม็ดยาเรียบพอสมควร ผิวขรุขระน้อยกว่าสภาวะที่ใช้ใน T1 – T3 ซึ่งใช้น้ำยาเคลือบสูตร F1 แต่อย่างไรก็ตาม ถือว่าน่าพอใจในระดับหนึ่ง เนื่องจาก Batch size ที่ทำนี้มีขนาดเล็กประมาณ 2 กิโลกรัม อาจทำให้การขัดสีของเม็ดยาไม่ดีเท่าที่ควรเหมือนเคลือบใน Batch size เมื่อผลิตจริง ในส่วนของพอลิเมอร์ที่ใช้ระหว่าง HPMC E15 เดียวระดับ 4 เปอร์เซ็นต์และ HPMC E15 ผสมกับ HPMC E5 อัตราส่วน 2.7 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้กล่าวแล้วเบื้องต้น(ดูสภาวะที่ใช้ในการทดลองที่ T3-T4) พบว่า HPMC ผสมระหว่าง E15 และ E5 เคลือบฟิล์มได้เรียกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าความหนืดน้อยกว่าตัวรับ 4% HPMC E15 เดียว ๆ ขณะฉีดพ่นฝอยละอองของสารก่อฟิล์มจะละเอียดกว่า ซึ่งจะเห็นได้ชัดจากการฉีดพ่นฝอยละอองของสารก่อฟิล์มบนกระดาษขาว ที่มีระยะห่างระหว่างหัวฉีดกับน้ำยาพ่น 3 นิ้ว จึงเลือกสูตร F2 เพื่อใช้ทดลองประเมินเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ที่ได้จากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) ต่อไป จากการทดลองได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้

1. อุณหภูมิเม็ดยา	30–35 °C
2. ระยะห่างระหว่างหัวพ่นน้ำยากับเม็ดยา	3 นิ้ว
3. ความเร็วหม้อเคลือบ(Pan speed)	8 รอบ / นาที
4. ความดันลมสเปร์ย์ (Pressure)	3.5 Bar / Kg/cm
5. อัตราเร็วของการพ่นน้ำยา(Spray rate)	5 รอบ / นาที
6. อุณหภูมิลมเข้า (Inlet)	55.6 °C
7. อุณหภูมิลมออก (Outlet)	40.1 °C
8. เวลาที่ใช้ในการเคลือบ	150 นาที

5.1.2 การประเมินประสิทธิภาพของฟิล์มสูตรน้ำที่เตรียมจากสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG) สารสกัด PG ที่ความเข้มข้น(%)ระดับต่างๆเปรียบเทียบกับน้ำยาเคลือบมาตรฐานตามวิธีวิจัยข้อ 2.5.1.5 ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

5.1.2.1 คุณลักษณะทางกายภาพของฟิล์มสูตรต่างๆ

สูตร F1A - F1E มีลักษณะโดยรวมคือ ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกัน และสามารถลอกออกได้โดยง่ายและเป็นแผ่นเดียวติดต่อกัน

สูตร F2A – F2E ไม่สามารถลอกออกจาก plate ได้ อาจเนื่องมาจากฟิล์มไม่มีคุณสมบัติการยึดเกาะซึ่งฟิล์มสูตรต่างๆ มีลักษณะดังนี้

- * สูตร F2A มีลักษณะเนื้อฟิล์มน้อยตกตะกอน และไม่สม่ำเสมอ
- * สูตร F2B เนื้อฟิล์มมีฟองมากลักษณะหยาบเล็กน้อย
- * สูตร F2C เนื้อฟิล์มมีลักษณะละเอียดมากกว่า สูตร F3B เนื้อค่อนข้างขาวเนียน
- * สูตร F2D เนื้อฟิล์มมีลักษณะค่อนข้างหยาบ ไม่ค่อยเนียน
- * สูตร F2E เนื้อฟิล์มตกตะกอนไม่สม่ำเสมอและมีลักษณะหยาบ

สูตร F3A - F3E ไม่สามารถลอกออกจาก plate ได้ อาจเนื่องจาก ฟิล์มมีคุณสมบัติการยึดเกาะเดียวกันกับ สูตร F2A - F2E ซึ่งฟิล์มสูตรต่างๆ มีลักษณะดังนี้

- * สูตร F3A ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกันพอสมควรมีลักษณะเรียบเนียน
- * สูตร F3B ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกันพอสมควร
- * สูตร F3C ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกันพอสมควร สามารถลอกออกเป็นแผ่นเล็กๆ ได้แต่ไม่สามารถนำไปวัดหาค่า ความทนแรงดึง (tensile strength)
- * สูตร F3D ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกัน แต่มีลักษณะเปราะ
- * สูตร F3E ฟิล์มเป็นเนื้อเดียวกัน

สูตร F4A - F4E फिल्मเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อฟิล์มแห้ง จะฉีกขาดและเกิดรอยย่น สามารถลอกได้ง่ายแต่ไม่ติดต่อกันทั้งแผ่น

สูตร F5A - F5E फिल्मไม่เป็นเนื้อเดียวกัน แต่สามารถลอกออกได้ มีลักษณะเปราะเล็กน้อย

สูตร F6A - F6E फिल्मเป็นเนื้อเดียวกัน แต่เมื่อฟิล์มแห้ง จะฉีกขาดเองและเกิดรอยย่น แต่น้อยกว่า สูตร F4A - F4E และลอกได้ง่ายแต่ไม่ติดต่อกันทั้งแผ่น

จากผลการทดลองดังกล่าว จะเห็นได้ว่า ฟิล์มสูตร F2A - F2E และ F3A - F3E ไม่สามารถลอกออกจาก plate ได้ ดังนั้น จึงมีเฉพาะฟิล์มสูตร F1A - F1E, F4A - F4E, F5A - F5B, และ F6A - F6E เท่านั้นที่สามารถนำไปวัดหาความทนแรงดึง (tensile strength) ด้วยเครื่อง Tensometer (Instron® 5565 England) ได้

5.1.3 เปรียบเทียบ ความเค้นความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเคลือบมาตรฐาน ระหว่างการใช้ HPMC E5, HPMC E15 และสารสกัดเปลือกทุเรียนเป็นสารเคลือบฟิล์ม ได้ผลการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 5-1

จากการวัดหาค่า Tensile strength จะได้ค่า parameter ออกมาหลายค่า ปกติมีค่าที่ควรให้ความสนใจคือ

1. % Strain at Break (% Elongation)
2. Stress at Break (MPa)
3. Young's Modulus (MPa)
4. Toughness (MPa)
5. Thickness (MPa)

เนื่องจาก film coat ที่ดี ควรจะมีคุณสมบัติแข็ง(hard) และเหนียว(tough) แต่ไม่เปราะ (brittle) ซึ่งสามารถแปลผลคุณสมบัติเหล่านี้ได้จาก parameter ดังกล่าวข้างต้น ตามตารางที่ 5-1

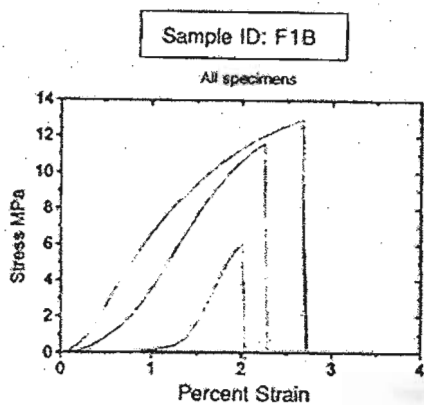
สถาบันนวัตกรรมการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-1. คุณสมบัติของฟิล์มเคลือบ

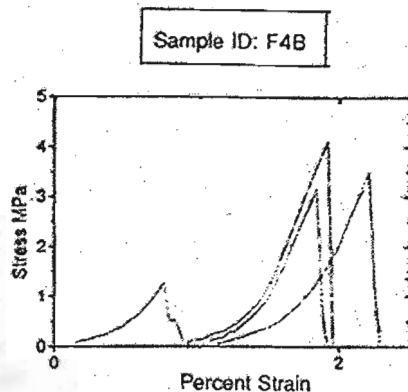
Properties	Strain at Break (elongation)	Young's Modulus
Soft, Weak	Low	Low
Soft, Tough	High	Low
Hard, Brittle	Low	Very high
Hard, Strong	Moderate	High
Hard, Tough	High	High

จากตารางที่ 5-1 จะเห็นว่าฟิล์มที่ดีที่สุดที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปเคลือบเม็ดยาคือฟิล์มที่มีค่า % Strain at Break และ Young's Modulus สูง นอกจากนี้ยังพิจารณาค่า Toughness ประกอบด้วย ซึ่งควรจะมีค่าสูงเช่นกัน

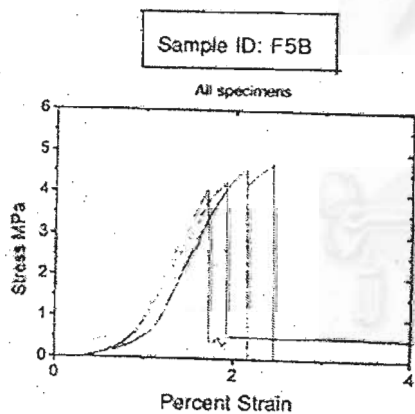
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



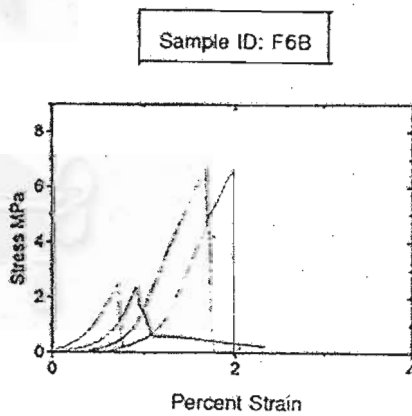
(A)



(B)

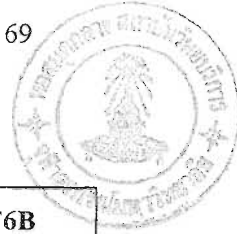


(C)



(D)

รูปที่ 5-1. แสดงความเค้นความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของฟิล์มเคลือบของ (A)สูตรF1B ประกอบด้วย 4%HPMC E5, 2.7% HPMC E15 และปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (B)สูตร F4B ประกอบด้วย 2% สารสกัดเปลือกทุเรียน และปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (C)สูตร F5B ประกอบด้วย 2.7% HPMC E15, 2.6% สารสกัดเปลือกทุเรียนและปริมาณ film coat solution 2.3 ml : (D)สูตร F6B ประกอบด้วย 3% สารสกัดเปลือกทุเรียน และปริมาณ film coat solution 2.3 ml



ตารางที่ 5-2. ผลการวัดหาค่า tensile strength ของสูตรตำรับต่าง ๆ

การทดสอบ	F1B	F4B	F5B	F6B
% Strain at Break	1.534	0.519	1.058	0.766
Stress at Break (MPa)	10.091	3.079	4.271	5.298
Young's Modulus (MPa)	857.012	622.69	459.398	766.012
Toughness (MPa)	0.1	0.011	0.026	0.027
Thickness (MPa)	0.025	0.029	0.04	0.039

จากการเปรียบเทียบสูตรมาตรฐานต่างๆ ในตารางที่ 5-2 พบว่าสูตร F1B ใช้ HPMC อย่างเดียวซึ่งมีคุณสมบัติเป็นฟิล์มที่ดีอยู่แล้ว จึงจะไม่นำค่า parameter มาเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ

% Strain at Break :

สูตร F4B ใช้สารสกัดเปลือกทุเรียน (2%) อย่างเดียว จะให้ค่าต่ำที่สุด

สูตร F5B ใช้ HPMC ผสมกับสารสกัดเปลือกทุเรียน จะให้ค่าสูงที่สุด

สูตร F6B ใช้สารสกัดเปลือกทุเรียน (3%) อย่างเดียว จะให้ค่าสูงกว่าสูตร F4B อาจเนื่อง

จากใช้ % สารสกัดเปลือกทุเรียนสูงกว่า แต่ค่ายังคงน้อยกว่าสูตร F5B

$F5B > F6B > F4B$

Young's Modulus :

$F6B > F4B > F5B$

Toughness :

$F6B > F5B > F4B$

จากค่า parameter จะเห็นได้ว่า ไม่มีฟิล์ม สูตรใดที่ให้ค่า % Strain at Break, Young's Modulus และ Toughness สูงทุกค่า ดังนั้นจึงดูลักษณะของกราฟประกอบการพิจารณาด้วย ทำให้ตัดสินใจเลือกฟิล์มสูตร **F5B** เนื่องจากมีค่า % Strain at Break, และ Toughness สูง และค่า Young's Modulus ไม่ต่ำมากนักอีกทั้งกราฟที่ได้มีลักษณะดีกว่ากราฟของสูตรอื่นด้วย

5.1.4 การศึกษาหาระดับสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม (plasticizer) ที่เหมาะสม

สารช่วยยึดหยุ่นฟิล์มที่ใช้ในการศึกษาแต่ละครั้งได้เลือกใช้ polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) เพราะเป็นสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์ม ที่นิยมใช้ในสูตรยาเคลือบฟิล์มทั่วไป นอกจากหาง่าย ราคาถูกแล้ว ยังมีประสิทธิภาพ ทำให้ฟิล์มไม่เปราะเมื่อเคลือบ

ตารางที่ 5-3. แสดงส่วนประกอบสูตรน้ำยาเคลือบมาตรฐาน ที่ปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์มระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

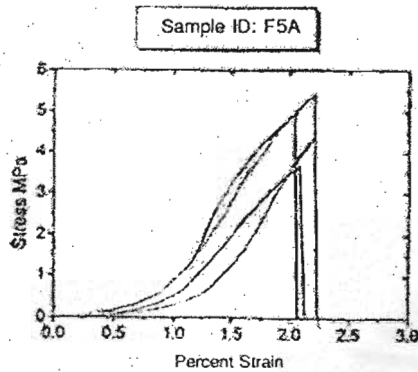
สารที่ใช้	A	B	C	D	E
PEG 6000 (สูตร F1)	10%	20.90%	15%	25%	30%
PEG 6000 (สูตร F4)	15%	70%	20%	25%	30%
PEG 6000 (สูตร F5)	10%	26.40%	15%	20%	30%
PEG 6000 (สูตร F6)	15%	47.67%	20%	25%	30%

จากการนำฟิล์มที่ได้ในสูตรตำรับ F1 – F6 มาทดสอบกับ PEG 6000 ในปริมาณต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 5-3 เมื่อวัดหาค่า tensile strength จะได้สูตรตำรับที่ดีที่สุดคือ สูตร F5 ที่มีปริมาณสารช่วยยึดหยุ่นฟิล์มระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ผลดังรูปที่ 5-2

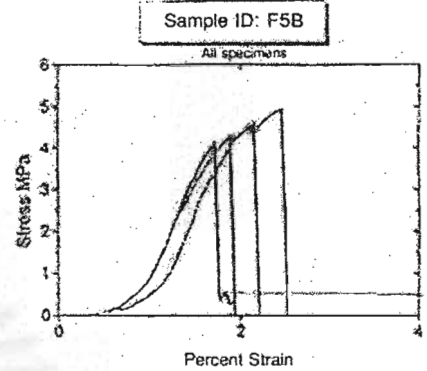
ตารางที่ 5-4 แสดงค่า tensile strength ของสูตรตำรับ F5

การทดสอบ	F5A	F5B	F5C	F5D	F5E
% Strain at Break	1.152	1.058	1.223	1.153	0.696
Stress at Break (MPa)	4.626	4.271	3.179	4.127	2.082
Young's Modulus (MPa)	450.729	459.398	314.005	418.743	307.596
Toughness (MPa)	0.032	0.026	0.024	0.029	0.01
Thickness (mm.)	0.041	0.04	0.044	0.041	0.059

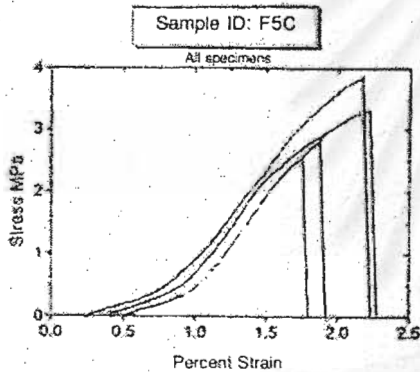
จากผลในตารางที่ 5-4 แสดงค่าต่างๆ ที่ได้จากรูปที่ 5-2 สามารถเปรียบเทียบค่าต่างๆ ได้ดังนี้



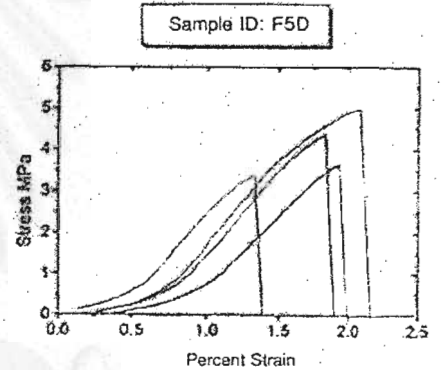
(A)



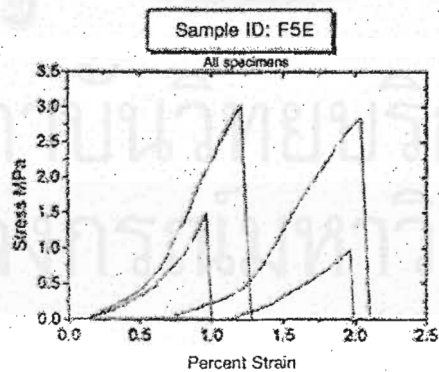
(B)



(C)



(D)



(E)

รูปที่ 5-2. แสดงความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเกลือต่าง ๆ (A)สูตร F5A ประกอบด้วย 10% PEG 6000 : (B) สูตร F5B ประกอบด้วย 26.4% PEG 6000 : (C)สูตร F5C ประกอบด้วย 15% PEG 6000 : (D)สูตร F5D ประกอบด้วย 20% PEG 6000 : (E) สูตร F5E ประกอบด้วย 30% PEG 6000

% Strain at Break:

$$F5C > F5D > F5A > F5B > F5E$$
Young's Modulus (MPa):

$$F5B > F5A > F5D > F5C > F5E$$
Toughness (MPa):

$$F5A > F5D > F5B > F5C > F5E$$

ฟิล์มสูตร F5A (ตารางที่ 5-4) มีค่า Toughness สูงที่สุด และมีค่า Young's Modulus (MPa) และ % Strain at Break สูงถึงแม้ว่าค่า % Strain at Break จะสูงเป็นอันดับ 3 แต่ก็ต่ำกว่าค่าสูงสุดไม่มากนัก นอกจากนี้เมื่อนำกราฟมาพิจารณาประกอบด้วยจะเห็นว่ากราฟมีลักษณะดีพอสมควร ดังนั้นจึงตัดสินใจเลือกฟิล์มสูตรนี้ตามลำดับสูตร 5 ในวิธีวิจัย ข้อ 2.5.1.5 (5)

อย่างไรก็ดีระดับเปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสมในการใช้กับพอลิเมอร์แต่ละชนิดอาจแตกต่างกันออกไป ในการทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาปริมาณ PEG 6000 ที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้เป็นสารช่วยยืดหยุ่นฟิล์ม (plasticizer) ในสูตรน้ำยาเคลือบฟิล์มที่จะทำการเคลือบเม็ดยาต่อไป

5.1.5 เปรียบเทียบคุณลักษณะฟิล์มระหว่างคุณสมบัติภายนอก ความเรียบ ความสวยงามจากภาพถ่ายและภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน น้ำยาเคลือบเตรียมจาก HPMC E5, HPMC E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียนเมื่อเคลือบที่เวลาในการเคลือบต่าง ๆ กัน

5.1.1.1 การทดลองเคลือบเม็ดยาโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 1 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-3 และ 5-9 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 60 นาที

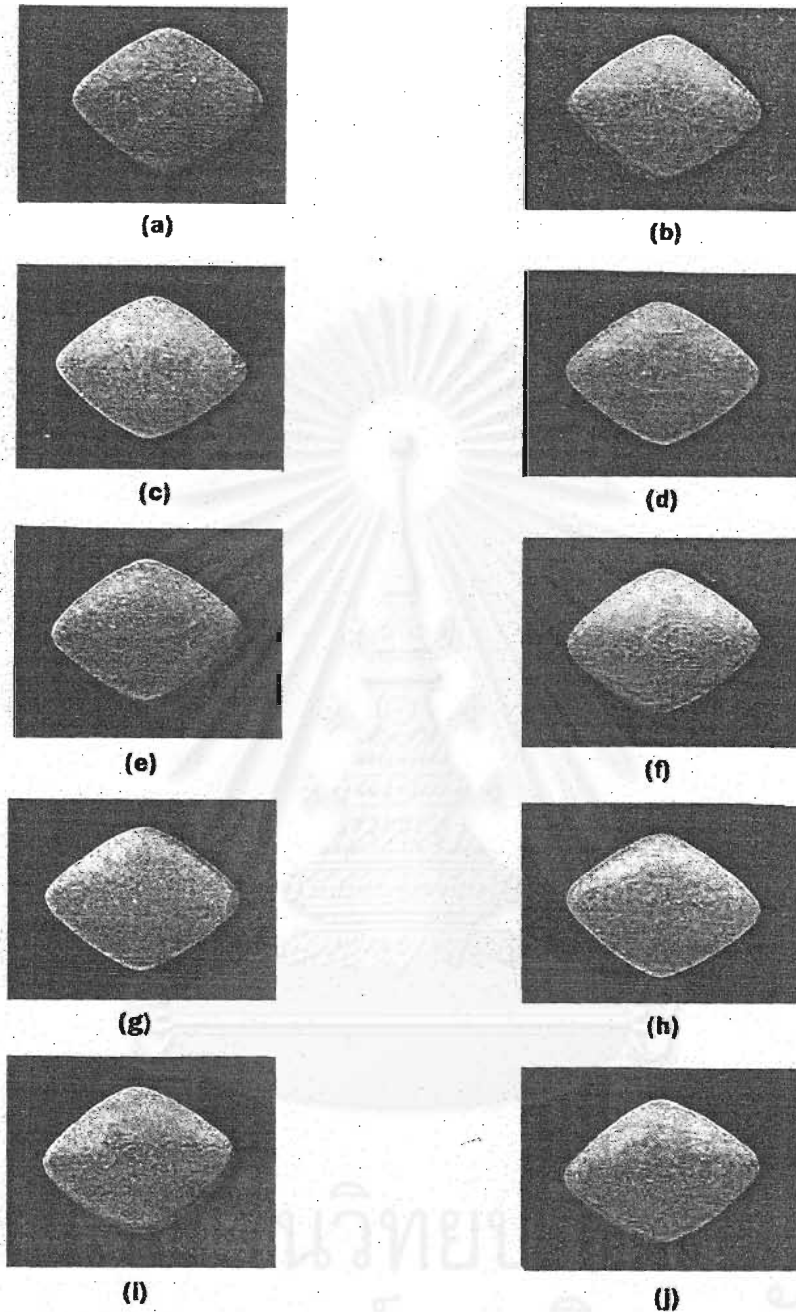
5.1.5.2 การทดลองการเคลือบยาเม็ดโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 2 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-4 และ 5-10 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 60 นาที

5.1.5.3 การทดลองการเคลือบยาเม็ดโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 3 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-5 และ 5-11 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 75 นาที

5.1.5.4 การทดลองการเคลือบยาเม็ดโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 4 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-6 และ 5-12 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 45 นาที

5.1.5.5 การทดลองการเคลือบยาเม็ดโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 5 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-7 และ 5-13 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 60 นาที

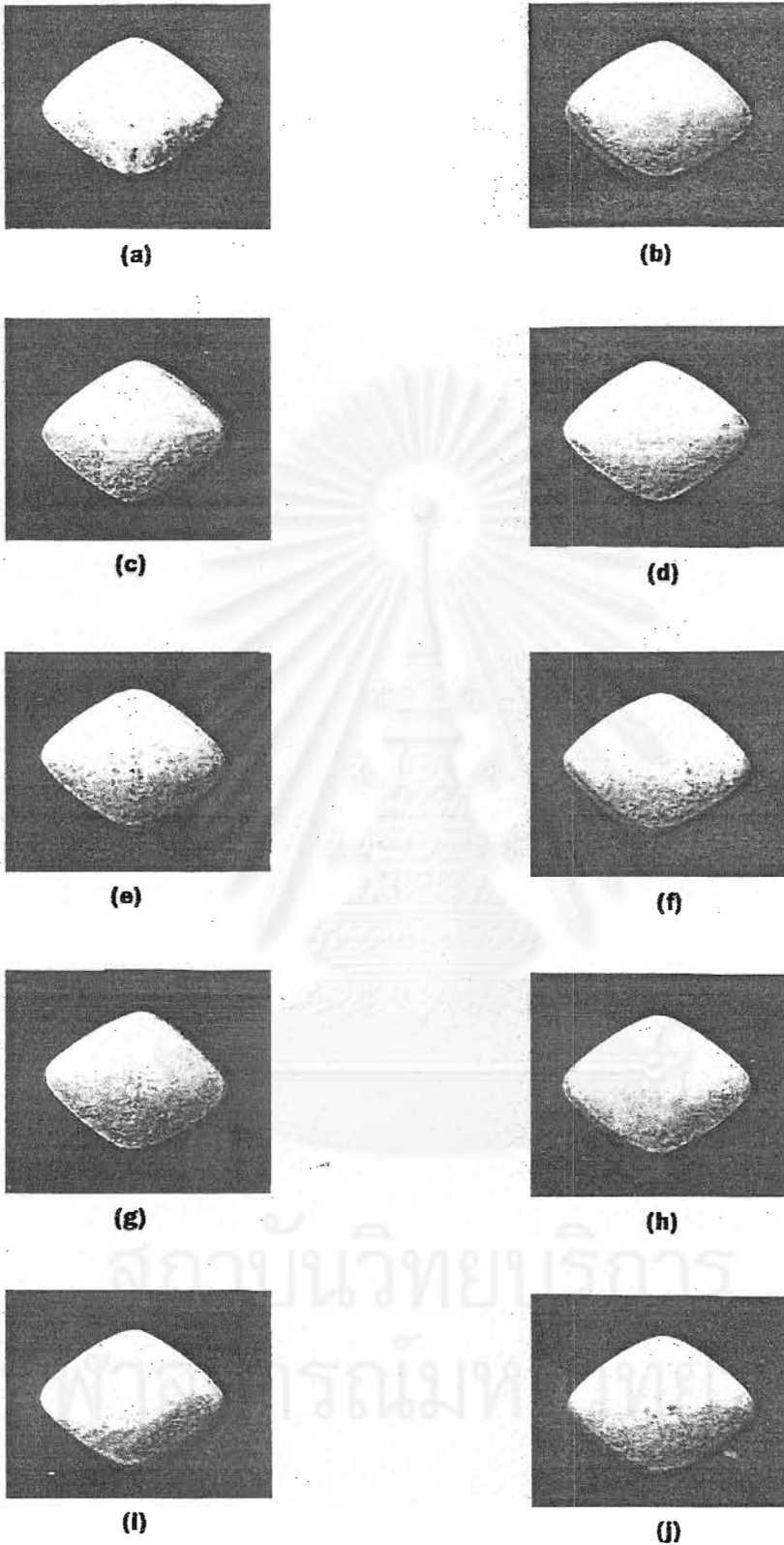
5.1.5.6 การทดลองการเคลือบยาเม็ดโดยใช้น้ำยาเคลือบสูตร 6 ได้ผลการทดลองเคลือบดังแสดงในรูปที่ 5-8 และ 5-14 ผลการเคลือบได้ผิวเรียบดีที่สุดใช้เวลา 105 นาที



รูปที่ 5-3. ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 1

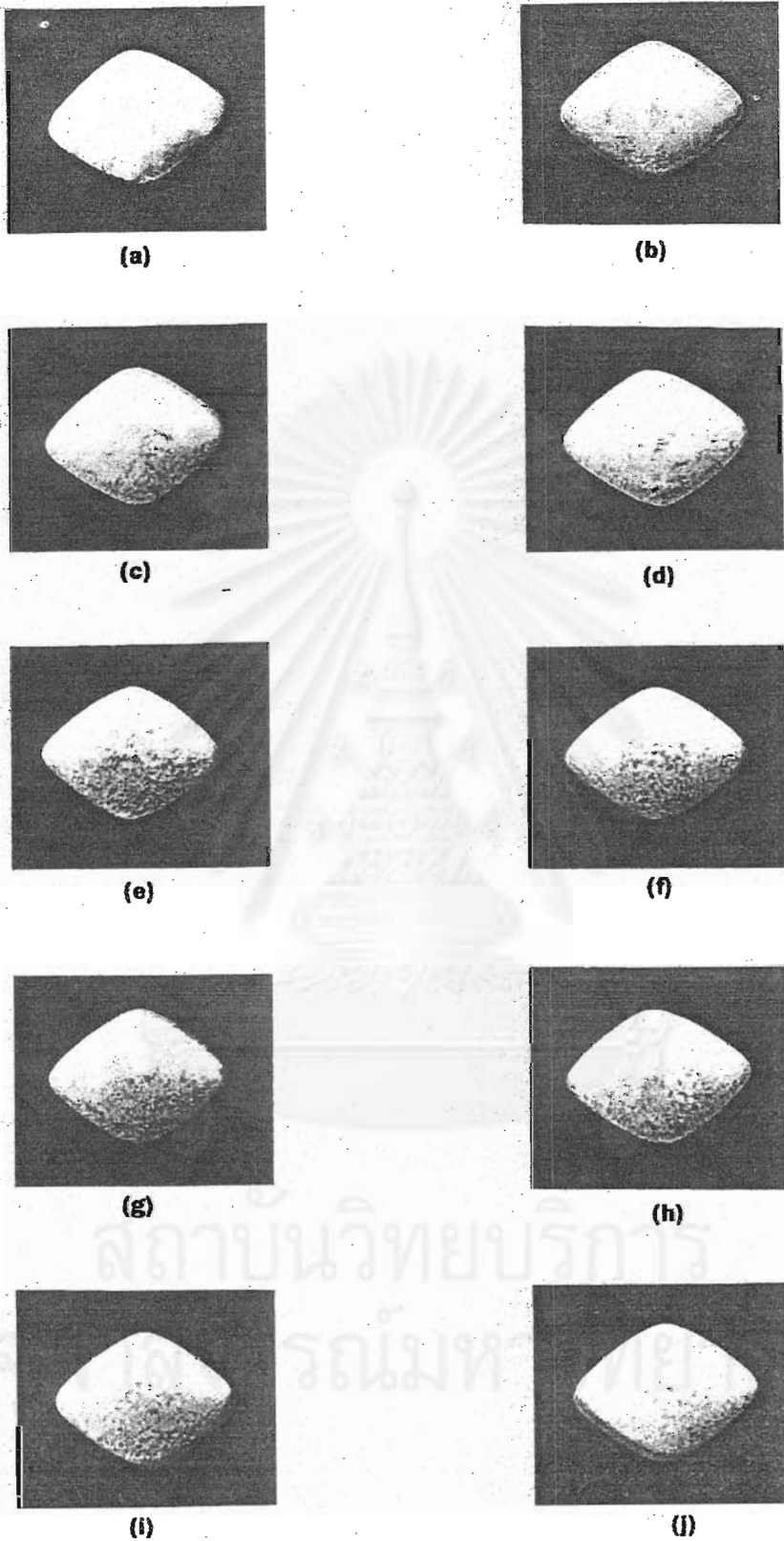
ประกอบด้วย : 4%HPMC ES, 2.7% HPMC E15, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water To เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (ก) 90 นาที, (ข) 105 นาที, (ค) 102 นาที, (ง) 135 นาที, (จ) 150 นาที

หมายเหตุ : ผลการทดลองเคลือบผิวเม็ดยารียบดีที่สุดในเวลา 60 นาที



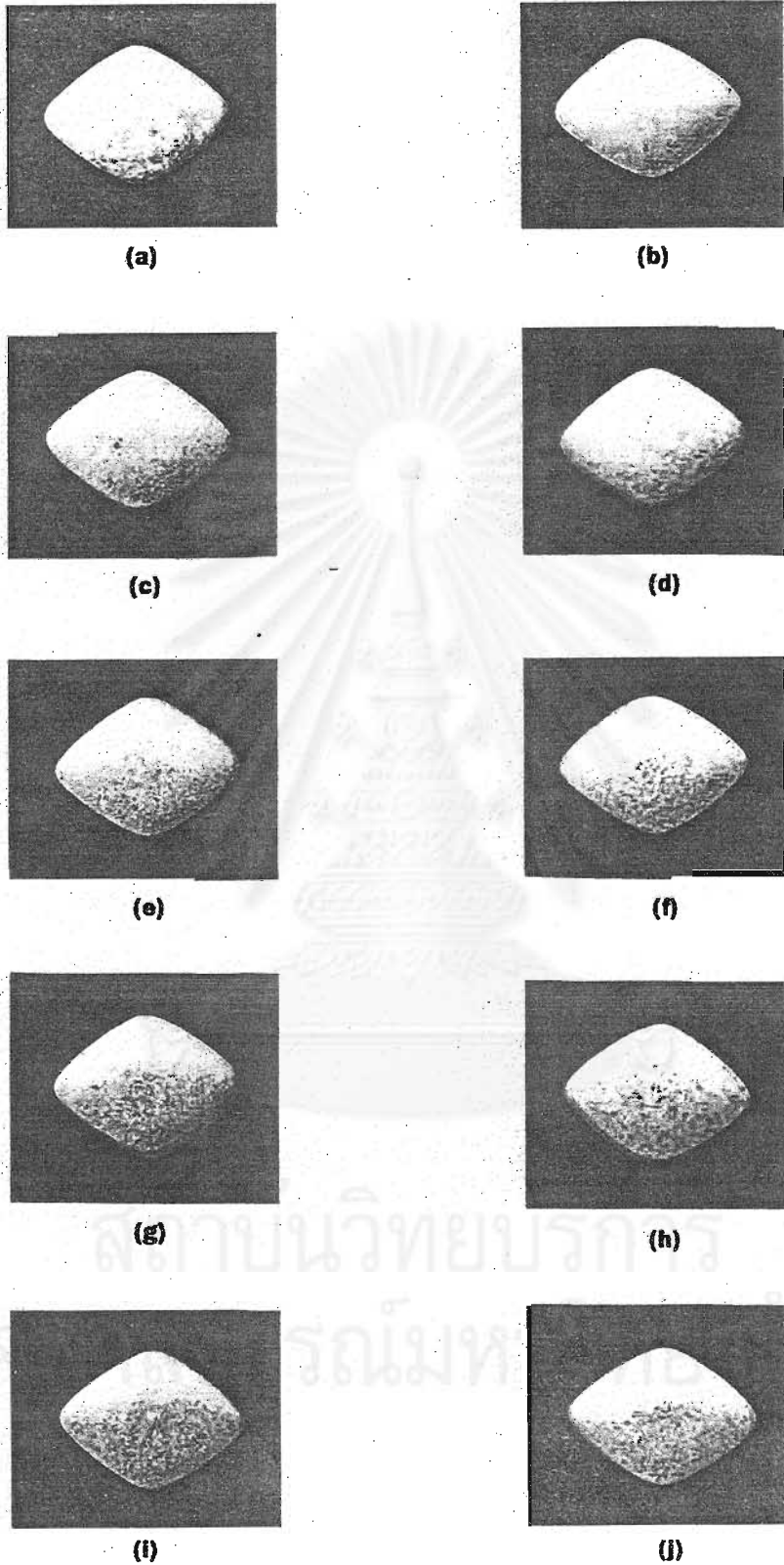
รูปที่ 5-4 ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 2

ประกอบด้วย : 1% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water To เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (f) 90 นาที, (g) 105 นาที, (h) 120 นาที, (i) 135 นาที และ (j) 150 นาที
หมายเหตุ : ผลการทดลองเคลือบผิวเม็ดยาชนิดนี้ที่ดีที่สุด ใช้เวลา 60 นาที



รูปที่ 5-5 ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโคโอสูครน้ำขลือบสูตร 3

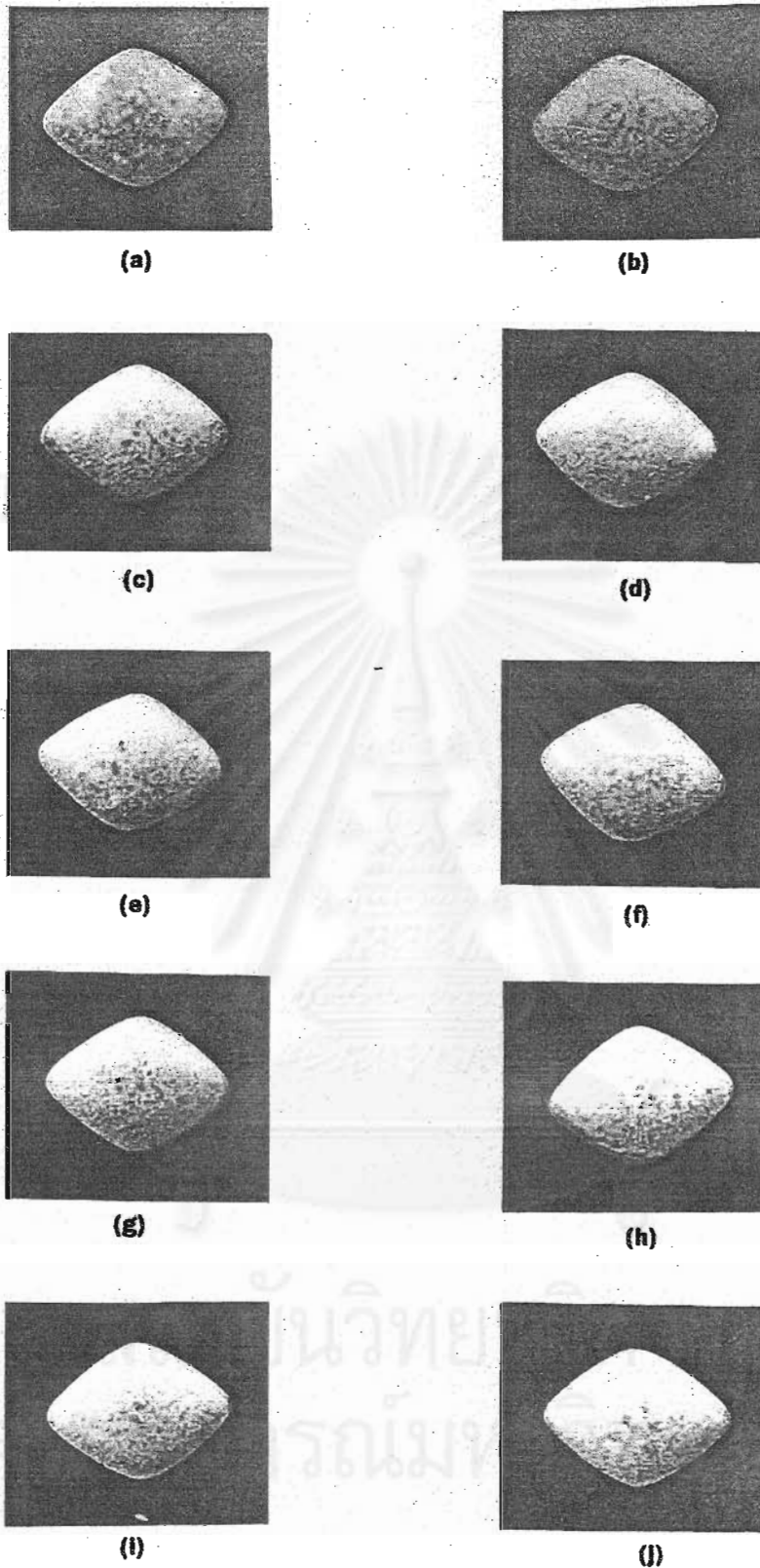
ประกอบด้วย : 2.67% HPMC E5, 3% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water to เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (f) 90 นาที, (g) 105 นาที, (h) 120 นาที, (i) 135 นาที และ (j) 150 นาที
 หมายเหตุ : ผลการทดลองเคลือบผิวเม็ดยาชนิดที่สุคใช้เวลา 75 นาที



รูปที่ 5-6 ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 4

ประกอบด้วย : 2% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water To เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (f) 90 นาที, (g) 105 นาที, (h) 120 นาที, (i) 135 นาที และ (j) 150 นาที

หมายเหตุ : ผดการทดลองเคลือบผิวเม็ดยาเร็วที่ดีที่สุดใช้เวลา 45 นาที



รูปที่ 5-7 ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 5

ประกอบด้วย : 2.7% HPMC E15, 2.6% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water To เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (f) 90 นาที, (g) 105 นาที, (h) 120 นาที, (i) 135 นาที และ (j) 150 นาที

หมายเหตุ : ผลการทดลองเคลือบผิวเม็ดยาเรียงที่ดีที่สุดใช้เวลา 60 นาที



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)

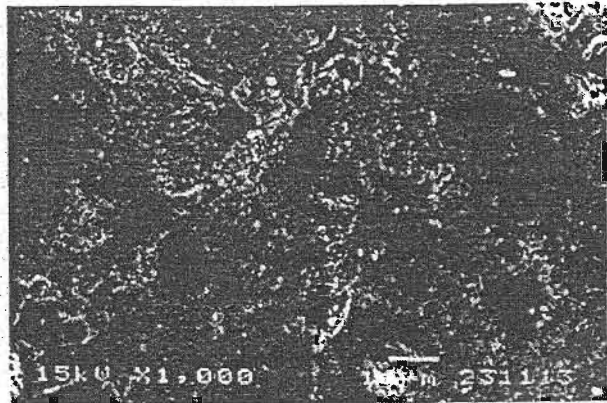


(j)

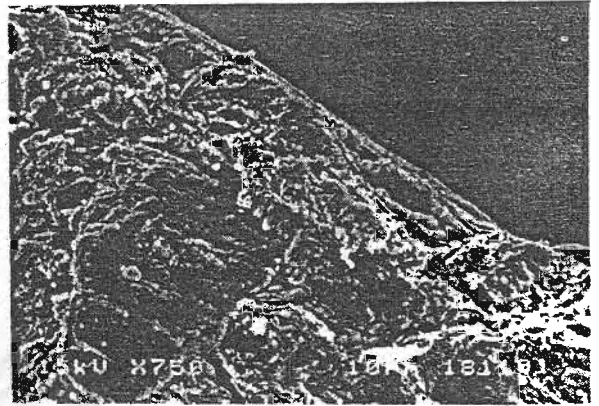
รูปที่ 5-8. ภาพถ่ายแสดงเม็ดยาที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 6

ประกอบด้วย : 3% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color, และ 100% DI water To เคลือบที่เวลาต่างๆ กัน : (a) 15 นาที, (b) 30 นาที, (c) 45 นาที, (d) 60 นาที, (e) 75 นาที, (f) 90 นาที, (g) 105 นาที, (h) 120 นาที, (i) 135 นาที และ (j) 150 นาที

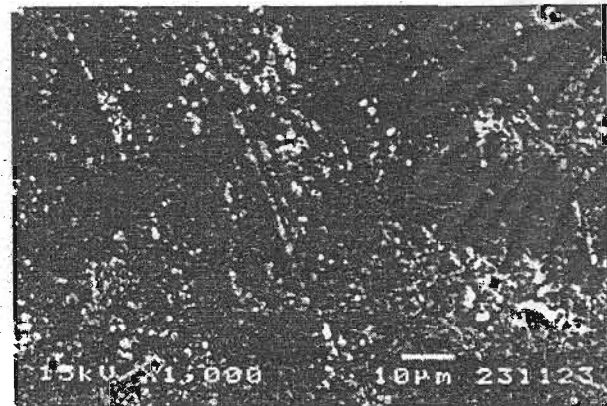
หมายเหตุ : ผลการทดลองเคลือบผิวเม็ดยาเรียงบดที่สุดใช้เวลา 105 นาที



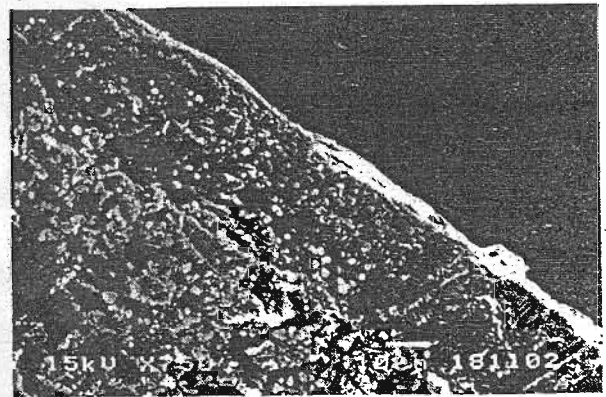
(A1)



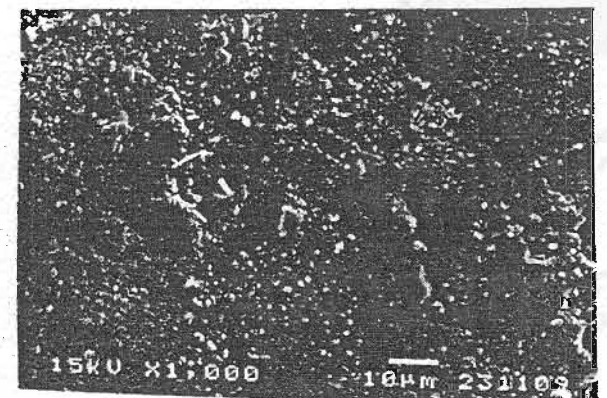
(A2)



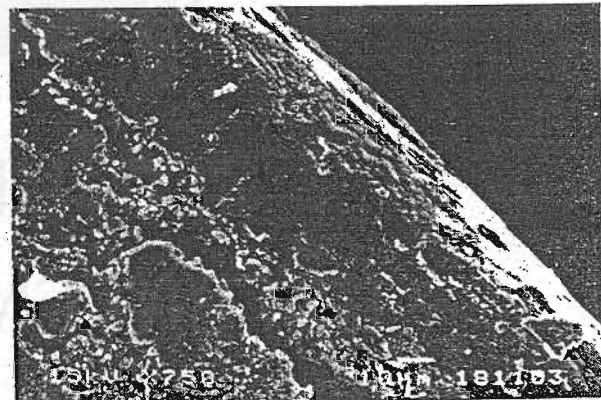
(B1)



(B2)

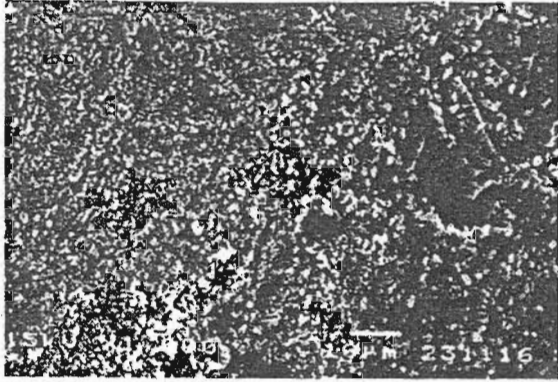


(C1)

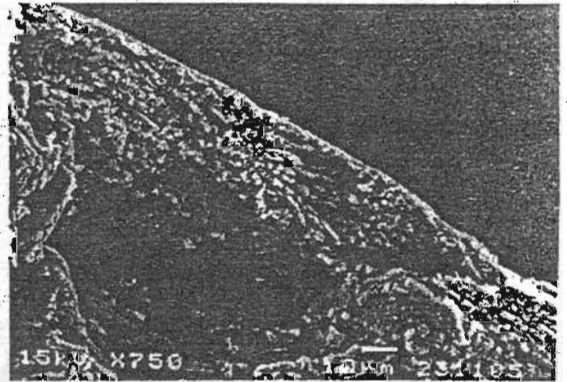


(C2)

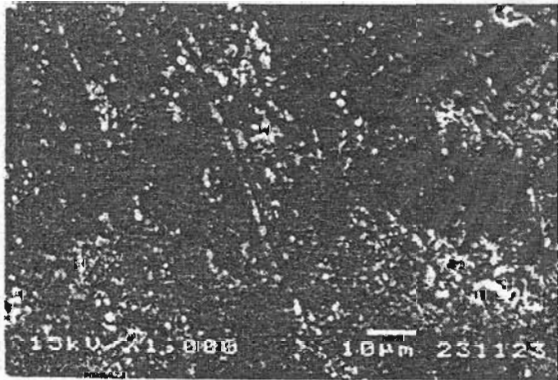
รูปที่ 5-9. ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงขามัดที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 1 ประกอบด้วย : 4% HPMC E5, 2.7% HPMC E15, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่ เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ



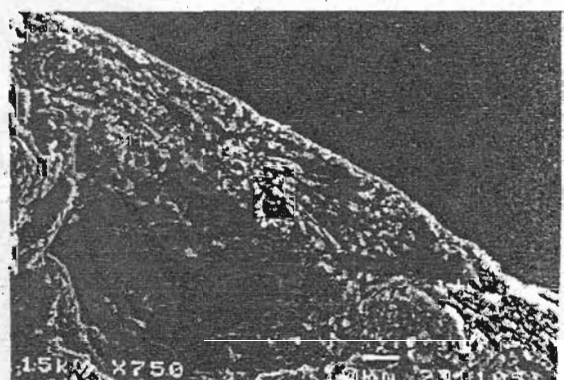
(A1)



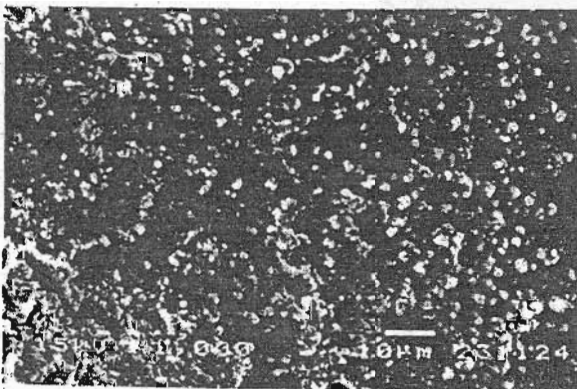
(A2)



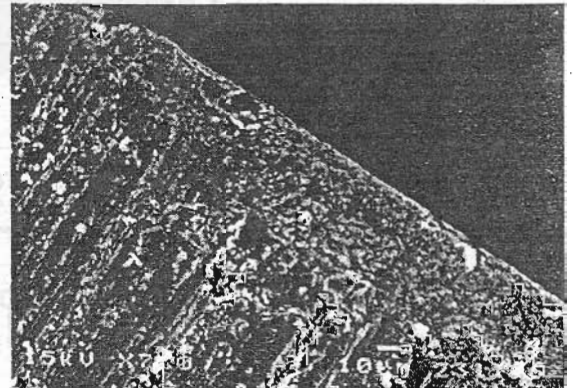
(B1)



(B2)

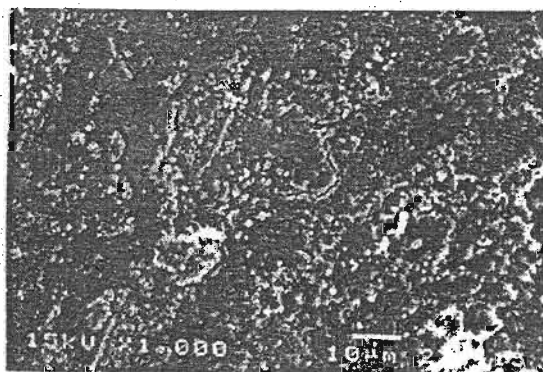


(C1)

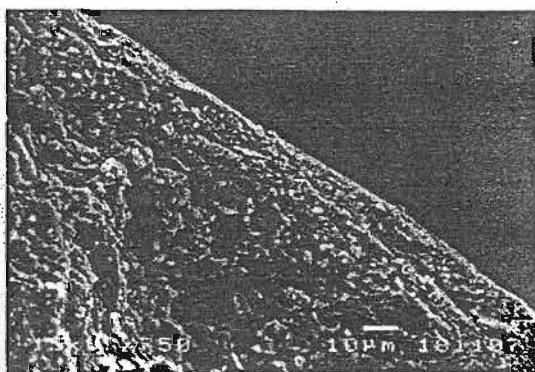


(C2)

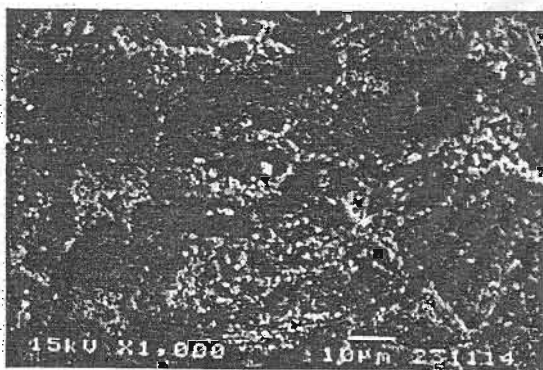
รูปที่ 5-10 ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงขบวนการเคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 2 ประกอบด้วย : 1% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของขบวนการเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของขบวนการเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ



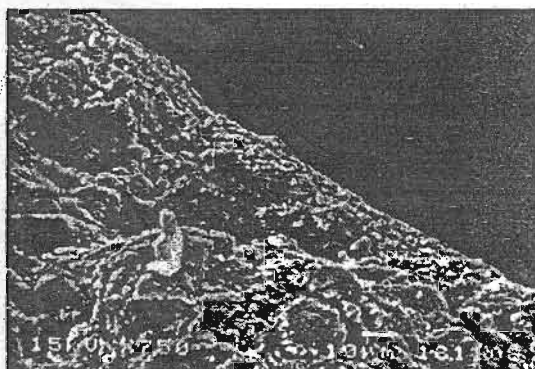
(A1)



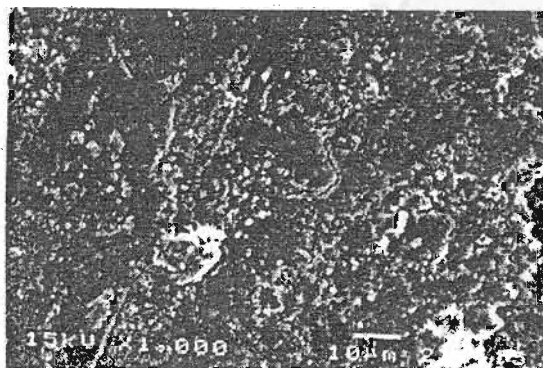
(A2)



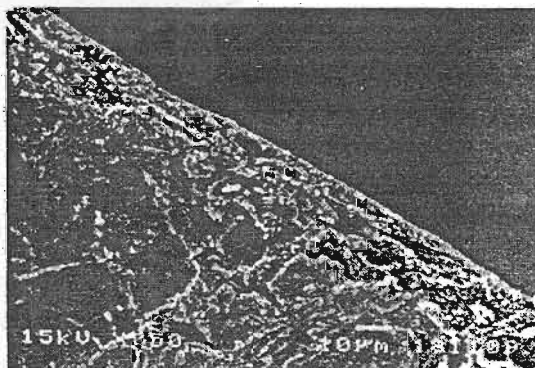
(B1)



(B2)

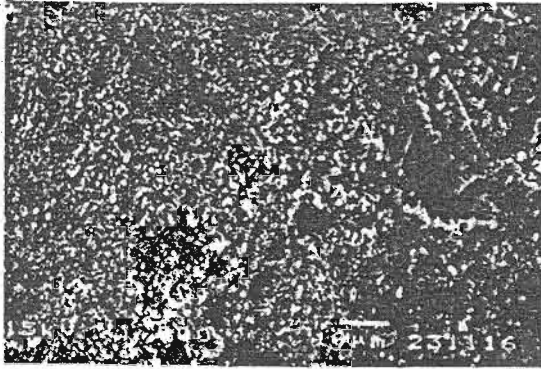


(C1)

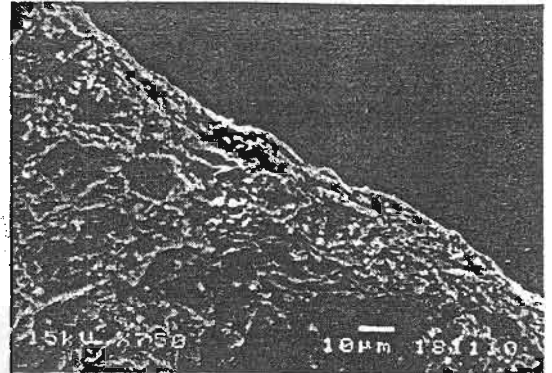


(C2)

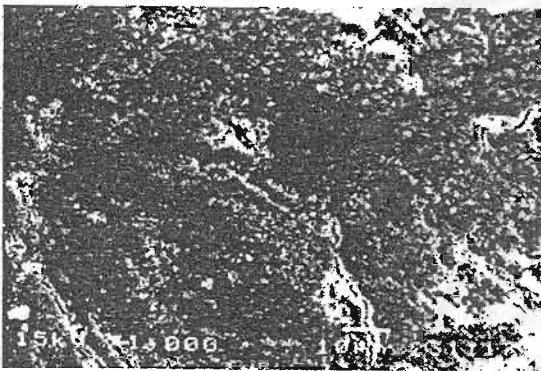
รูปที่ 5-11 ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงขบวนการเคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 3 ประกอบด้วย : 2.67% HPMC E5, 3% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของขบวนการเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของขบวนการเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ



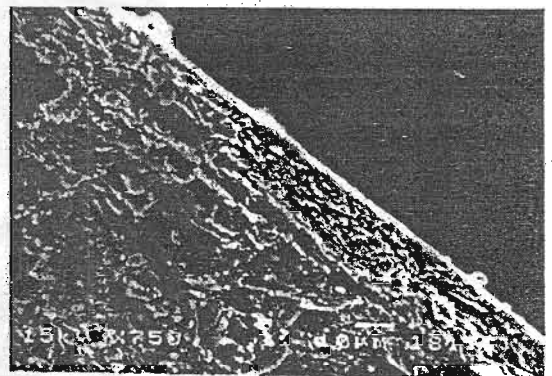
(A1)



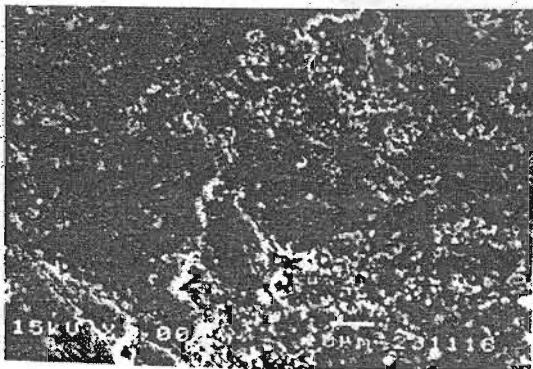
(A2)



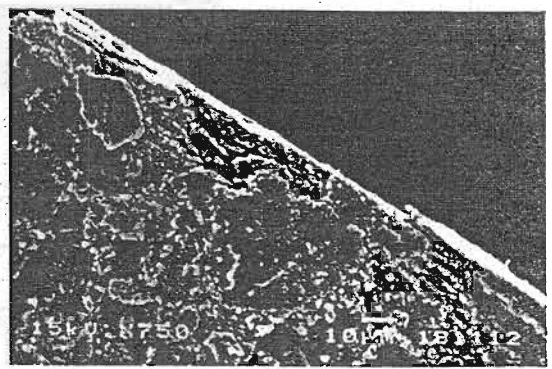
(B1)



(B2)

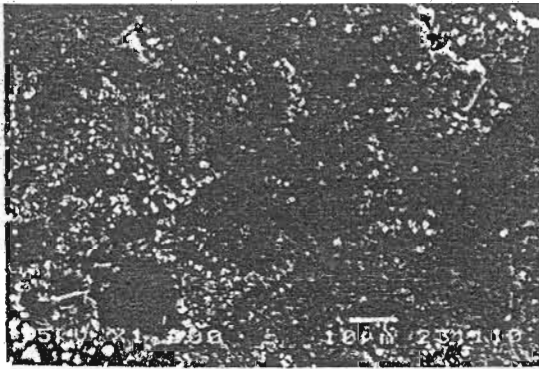


(C1)

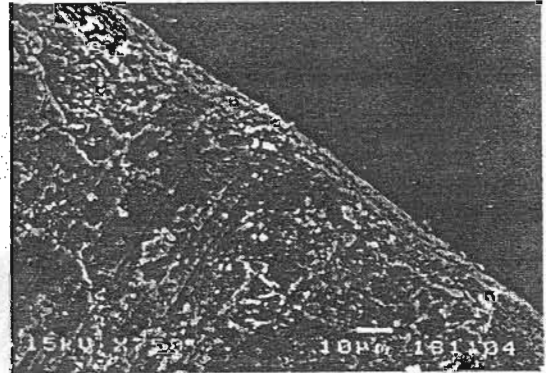


(C2)

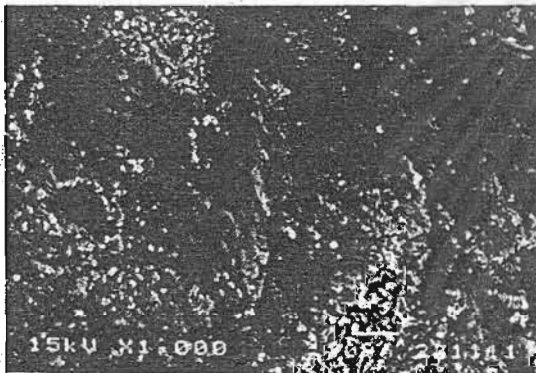
รูปที่ 5-12 ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงขามัดที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 4 ประกอบด้วย : 2% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO₂, 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ



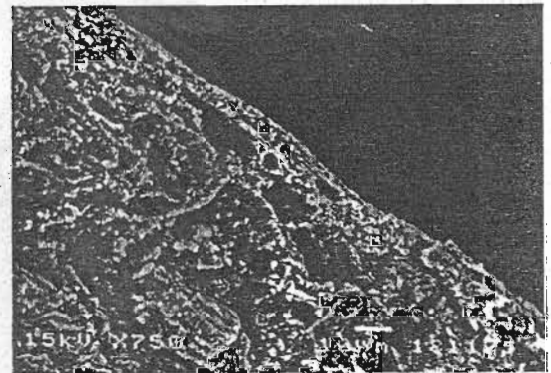
(A1)



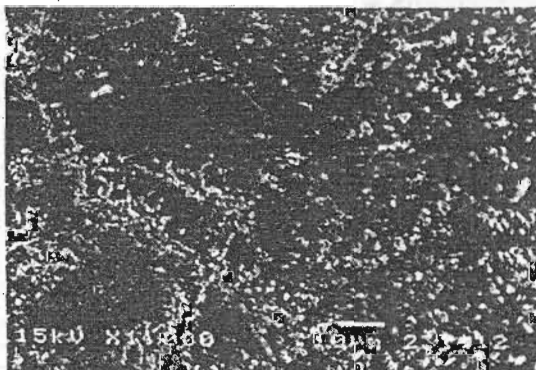
(A2)



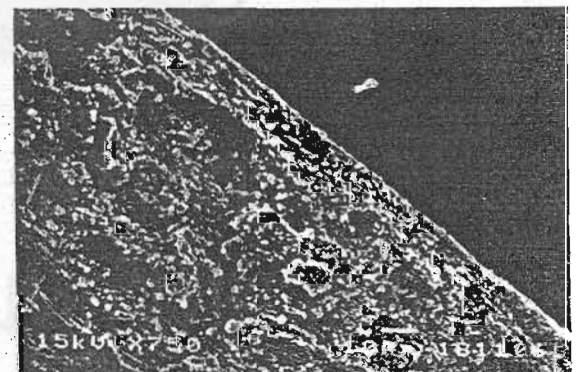
(B1)



(B2)

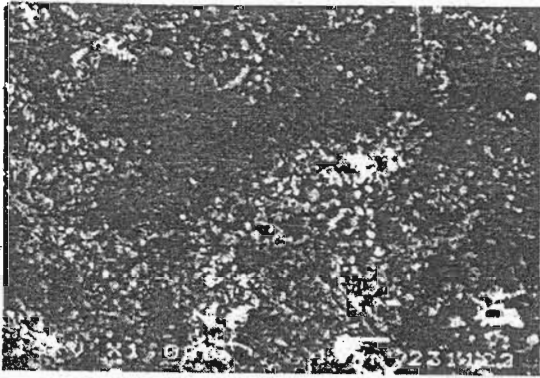


(C1)

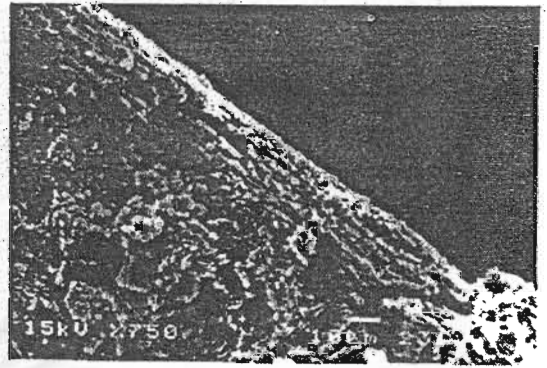


(C2)

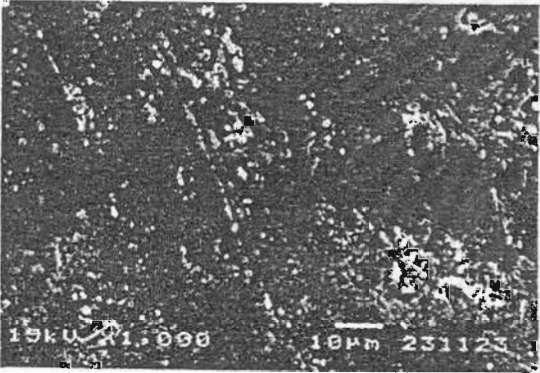
รูปที่ 5-13 ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงยาเม็ดที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 5 ประกอบด้วย : 2.7% HPMC E15, 2.6% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของยาเม็ดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของยาเม็ดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ



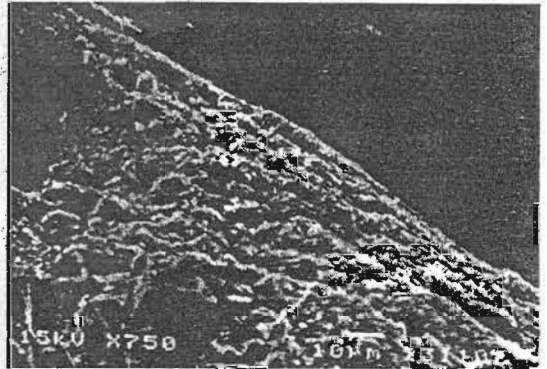
(A1)



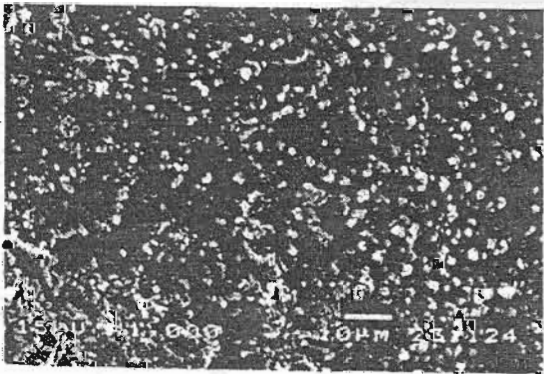
(A2)



(B1)



(B2)



(C1)



(C2)

รูปที่ 5-14 ภาพถ่ายจากอิเล็กตรอนไมโครสโคปแบบส่องกราด แสดงขามัดที่เคลือบโดยใช้สูตรน้ำยาเคลือบสูตร 6 ประกอบด้วย : 3% โพลีเมอร์จากเปลือกทุเรียน, 1.4% PEG 6000, 2.4% TiO_2 , 2.4% Talcum, 0.5% Erythrosine Kinglake Color และ DI water to 100% ภาพถ่าย A1, B1 และ C1 แสดงพื้นผิวของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 1,000 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ ภาพถ่าย A2, B2 และ C2 แสดงภาพตัดขวางของขามัดเคลือบฟิล์มกำลังขยาย 750 เท่าที่เวลา 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ

ตารางที่ 5-5 แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบคุณสมบัติฟิล์มระหว่าง HPMC E5, HPMMC E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียน (PG)

สารที่ใช้	การทดลองที่ 1.		การทดลองที่ 2.		การทดลองที่ 3.		การทดลองที่ 4.		การทดลองที่ 5.		การทดลองที่ 6.	
HPMC E5	4%	20.09 g.	-	-	2.67%	20.09 g.	-	-	-	-	-	-
HPMC E15	2.70%	13.56 g.	-	-	-	-	-	-	2.70%	13.56 g.	-	-
สารสกัดจากเปลือกทุเรียน	-	-	1%	5.02 g.	1.3%	9.78 g.	2.00%	10.04 g.	2.60%	13.09 g.	3%	22.59 g.
PEG 6000	1.40%	7.03 g.	1.40%	7.03 g.	1.40%	10.545 g.	1.40%	7.03 g.	1.40%	7.03 g.	1.40%	10.545 g.
TiO ₂	2.40%	12.05 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	18.075 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	18.075 g.
Talcum	2.40%	12.05 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	18.075 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	12.05 g.	2.40%	18.075 g.
Erythrosine	0.50%	2.51 g.	0.50%	2.51 g.	0.50%	3.765 g.	0.50%	2.51 g.	0.50%	2.51 g.	0.50%	3.765
Kinglake Color												
DI water to	100%	436 ml.	101 %	465 ml.	100%	660 ml.	100%	460 ml.	100%	516 ml.	100%	660 ml.
ผลการทดลองเคลือบ	ผิวเม็ดยา ค่อนข้างเรียบมากจะ ดีที่สุดที่เวลา 60 นาที แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นผิว เริ่มขรุขระขึ้นบ้าง แต่ ก็ยังถือว่า ค่อนข้าง เรียบดี		พบว่าการใช้ ปริมาณของ โพลีเมอร์ที่ ใช้น้อยเกินไป ต้องใช้ เวลา 60 นาที จึงจะ เคลือบได้ทั่ว ต่างกับการทดลองที่ 1 และ 5 ที่ใช้เวลา 30 นาที น้ำยาจะ เริ่มเคลือบที่ ผิวเม็ดยาได้ ทั่วถึง		ใช้เวลา 75 นาที ฟิล์มจึง ปกคลุมผิว เม็ดยาได้ทั่ว ผิวเม็ดยา มีความเรียบปานกลาง แต่น้อยกว่า การทดลองที่ 6		ใช้เวลา 45 นาที ฟิล์มจึง ปกคลุมผิว เม็ดยาได้ทั่ว ผิวเม็ดยา มีความเรียบน้อยกว่า การ ทดลองที่ 1 แต่ มากกว่า การ ทดลองที่ 2.		พบว่าผิวของ เม็ดยาที่ได้มีความเรียบพอ สมควร ใช้ เวลา 60 นาที ใกล้เคียงกับ การทดลองที่ 1.		ใช้เวลา 105 นาทีฟิล์มจึง ปกคลุมผิว ยาได้ทั่วเม็ดยาผิวเม็ดยามี ความเรียบ น่าพอใจ	

5.1.5.7 การตรวจสอบความเรียบของผิวเคลือบของยาเม็ดเคลือบที่ใช้เวลาต่างมีผิวเห็นว่าเรียบที่สุด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Scanning Electron Microscope (SEM) เมื่อใช้น้ำยาเคลือบสูตร 1 ถึง 6 ดังแสดงไว้ในรูปที่ 5-9 ถึงรูปที่ 5-14 ตามลำดับ และผลการทดลองการเคลือบของแต่ละสูตรของน้ำยาเคลือบที่ทดลองทั้ง 6 สูตรได้สรุปไว้ในตารางที่ 5-5 สูตรน้ำยาเคลือบที่ใช้ 3%PG และใช้ 2.6%PG ร่วมกับ 2.7% HPMC E15 พบว่าสามารถเคลือบเม็ดยาได้ผิวเรียบน่าพอใจโดยใช้เวลา 105 นาที และ 60 นาที ในการทดลองที่ 6 และ 5 (ตารางที่ 5-5) ตามลำดับ

5.1.6 การเปรียบเทียบการปรับเปลี่ยนความหนา

ทำการทดลองโดยหาปริมาณโพลิเมอร์ที่ใช้ในการเคลือบเม็ดยาโดยต้องการให้มีโพลิเมอร์ 1.5 มิลลิกรัม เคลือบอยู่บน plate พื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร (cm²)

โดย plate มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม. คิดเป็นพื้นที่ $22/7 \times 4 \times 4 = 50.29 \text{ cm}^2$ ดังนั้นจะใช้โพลิเมอร์ $50.29 \text{ cm}^2 \times 1.5 \text{ mg/cm}^2 = 75.43 \text{ mg}$.

จากสูตรตำรับมีโพลิเมอร์ 6.7% ของตำรับ

โพลิเมอร์ 6700 mg. ใช้ film coat solution 100 ml.

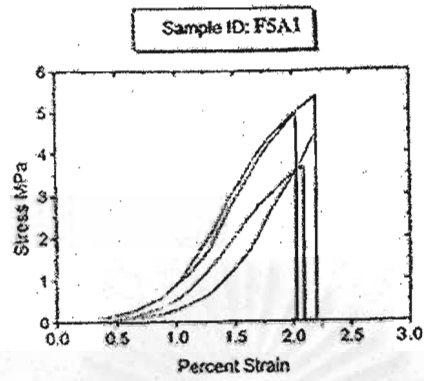
โพลิเมอร์ 75.43 mg. ใช้ film coat solution $(100 \times 75.43) / 6700 = 1.13 \text{ ml}$.

แตเมื่อนำปริมาณดังกล่าวมาเท plate ปรากฏว่าไม่เพียงพอในการเทให้ทั่ว plate ดังนั้นจึงได้มีการเพิ่มปริมาณขึ้นเป็น 2.3 ml. ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยที่สุดที่จะสามารถเทให้ทั่วทั้ง plate ได้ เมื่อได้ปริมาณที่น้อยที่สุดคือ 2.3 ml. แล้วจึงทำการปรับเปลี่ยนปริมาณที่ใช้ในการเท plate เพื่อเป็นการปรับเปลี่ยนความหนาเป็น 2.8 ml และ 3.3 ml. แต่เมื่อทำการทดลองปรากฏว่าความหนาของฟิล์มลอกออกมาจาก plate ไม่เป็นไปตามคาดหมายและได้ผลดังตารางที่ 5-6

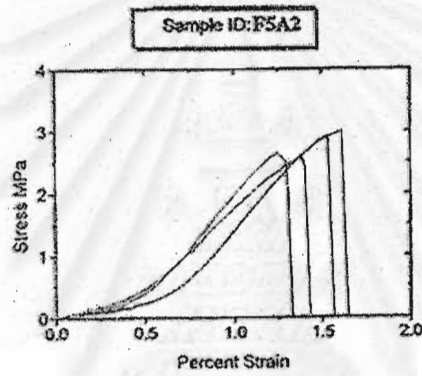
ตารางที่ 5-6 ตารางแสดงปริมาณและความหนาของแผ่นฟิล์ม

สูตร	ปริมาณที่เท(ml.)	Thickness(mm.)
F5A1	2.3	0.041
F5A2	2.8	0.064
F5A3	3.3	0.06

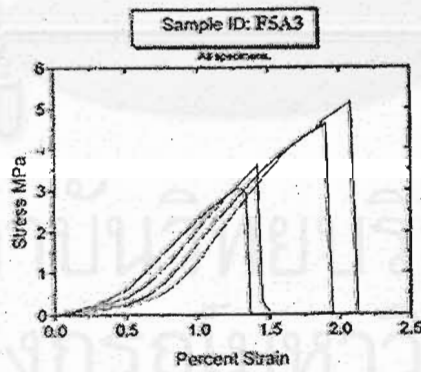
จากตารางที่ 5-6 จะเห็นว่าปริมาณ film coat solution ที่ใช้เทลงบน plate กับ Thickness ไม่เป็นไปในทางเดียวกัน เมื่อนำฟิล์มที่ได้ไปวัดหาค่า tensile strength ได้ผลดังรูปที่ 5-15.



(A)



(B)



(C)

รูป 5-15 แสดงความเค้น ความเครียด และคุณสมบัติเชิงกลของสูตรเกลือต่าง ๆ : (A) F5A1 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 2.3 ml, (B) F5A2 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 2.8 ml., (C) F5A3 ประกอบด้วย 10% PEG 6000 ปริมาณที่เท 3.3 ml

5.1.6.1 การตรวจสอบค่า tensile strength ของแผ่นฟิล์มของสูตรน้ำยา F 5 A ได้ผล ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5-7 ผลที่ได้เปรียบเทียบกับค่าต่างๆ ตามความหนาของแผ่นฟิล์มหลังการเท ลงบน plate (จากตารางที่ 5-6)

5.1.6.2 การตรวจคุณสมบัติของลักษณะการละลายของฟิล์มได้สรุปไว้ในตารางที่ 5-8 และจากสูตรการทดลองที่ 5 ในตารางที่ 5-5 จะเห็นว่าในการทดลองที่ 5 (ตารางที่ 5-8) การ ละลายของฟิล์มพบว่าค่อยๆ ละลายออกเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายได้เช่นเดียวกับสูตรน้ำยา เคลือบมาตรฐานการทดลองที่ 1 (จากสูตรการทดลองที่ 1 ตารางที่ 5-5) ขณะที่การทดลองที่ 6 (ตารางที่ 5-8) ที่ใช้สูตรน้ำยาเคลือบ 3% PG พบว่าช่วงแรกฟิล์มค่อยๆละลายและในที่สุดจะ หลุดออกเป็นเกล็ดบางๆหรือแผ่นบางๆ

ตารางที่ 5-7. แสดงค่า tensile strength ของแผ่นฟิล์มของตำรับ F5A

การทดสอบ	F5A1	F5A2	F5A3
% Strain at Break	1.152	0.895	1.125
Stress at Break (MPa)	4.626	2.363	3.916
Young's Modulus (MPa)	450.729	329.846	402.300
Toughness (MPa)	0.032	0.014	0.027
Thickness (mm.)	0.041	0.064	0.060

% Strain at Break:

$$F5A1 > F5A3 > F5A2$$

Young's Modulus (MPa):

$$F5A1 > F5A3 > F5A2$$

Toughness (MPa):

$$F5A1 > F5A3 > F5A2$$

ฟิล์มสูตร F5A1 ซึ่งมีความหนาน้อยที่สุด (ตารางที่ 5-6) แต่กลับมีค่า parameter ทุกค่าสูง ที่สุด (ตารางที่ 5-7) จึงเป็นแนวทางให้ทราบว่า เมื่อทำการเคลือบด้วยสูตรตำรับนี้ ควรจะใช้ ปริมาณ film coat solution ให้น้อยที่สุดที่จะสามารถเคลือบเม็ดยาได้ทั่วทุกเม็ด

ตารางที่ 5-8 แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบคุณสมบัติฟิล์มระหว่าง HPMC E5, HPMC E15 และสารสกัดจากเปลือกทุเรียน(PG)

คุณสมบัติ	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3	การทดลองที่ 4	การทดลองที่ 5	การทดลองที่ 6
ลักษณะการละลายของฟิล์ม	ฟิล์มละลายออกมาเป็นเนื้อเดียวกับสารละลาย	ฟิล์มหลุดออกมาเป็นเกล็ดเล็ก ๆ แตกต่างจากการทดลองที่ 1 และ 5	ฟิล์มมีการละลายออกมาเป็นเกร็ด ๆ เหมือนกับการทดลองที่ 2, 4 และ 6 และมีการละลายออกมาเป็นเนื้อเดียวกับน้ำกลั่น (อาจเป็นการละลายของฟิล์มที่เคลือบด้วย HPMC E5)	ฟิล์มหลุดออกมาเป็นเกล็ดเล็ก ๆ อย่างรวดเร็ว คล้ายการละลายของฟิล์มของเม็ดยาที่เคลือบด้วยทุเรียน 1% แต่อัตราการแตกกระจายของเกร็ดฟิล์มเร็วกว่า	ฟิล์มละลายออกมาเป็นเนื้อเดียวกับสารละลาย	ระยะแรกฟิล์มละลายออกมากเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายเหมือน 1 กับ 5 แต่ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง ฟิล์มจะหลุดออกมาเป็นแผ่น ๆ คล้าย 2 และ 4 แต่มีขนาดใหญ่กว่า
น้ำหนักเม็ดยาเพิ่มขึ้น (เวลาเคลือบที่ 60 นาที)	17 mg. / เม็ด	9 mg. / เม็ด	18 mg. / เม็ด	10 mg. / เม็ด	16 mg. / เม็ด	23 mg. / เม็ด
น้ำหนักเม็ดยาเพิ่มขึ้น (เวลาเคลือบที่ 150 นาที)	18 mg. / เม็ด	18 mg. / เม็ด	24 mg. / เม็ด	15 mg. / เม็ด	20 mg. / เม็ด	25 mg. / เม็ด

5.2. การใช้สารสกัด PG และ PF ในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหาร

จากการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัด PG พบว่า PG ทนต่อการถูกย่อยยืม การย่อยเกิดขึ้นน้อยมากโดยเอนไซม์ α -amylase จากการตรวจสอบ end product หลังจากการให้ย่อยด้วย α -amylase ไม่พบมี reducing sugar จากการทดสอบด้วย Fehling's test สารสกัด PG ส่วนใหญ่จะไม่ถูกย่อย ซึ่งอาจจะไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารและจะถูกขับออกมาในที่สุด นอกจากนี้สารสกัด PG ยังมีคุณสมบัติในการกักเก็บสาร lipid ได้แก่ cholesterol ไว้ได้ จากการทดลองพบว่า 1%PG และ PG 2% สามารถกัก cholesterol ไว้ได้กว่า 62% และ 89 % ตามลำดับ หลังการทำ dialysis เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4-1 ทำให้คาดว่าสารสกัด PG จะป้องกันการดูดซึมของไขมัน เมื่อให้กินรวมกับอาหารไขมัน ผลการทดลองทำให้คาดว่าสารสกัด PG อาจมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารทางการแพทย์ เพื่อช่วยป้องกันการดูดซึมไขมันจากทางเดินอาหารในผู้ป่วยที่มีระดับ cholesterol สูงหรือผู้ป่วยที่มีน้ำหนักเกิน เป็น

เนื่องจากสารสกัด PG สามารถใช้ในการเตรียมอาหารพวกเซลล์ แยมและมายองเนส ได้ผลดี (6) ในการเตรียมตำรับอาหารทางการแพทย์ครั้งนี้ต้องการเตรียมในรูปของผงแห้งที่ให้ผสมน้ำก่อนดื่ม โดยให้กินก่อนอาหาร การเตรียมสูตรอาหารจะต้องทำให้สาร PG กระจายตัวได้ดีเมื่อเทลงในน้ำ แต่เนื่องจากคุณสมบัติของ PG เมื่อโปรยลงน้ำมักจะเกาะเป็นก้อนและละลายยาก จึงต้องเตรียมสูตรตำรับอาหารที่ทำให้ผงสูตรอาหารสำเร็จรูปที่กระจายตัวเข้ากับน้ำได้ดีและรวดเร็ว เมื่อผสมลงในน้ำ 1 แก้ว คนให้เข้ากันแล้วสามารถดื่มได้ทันทีและมีรสเป็นที่น่าพอใจและการทดลองเตรียมสูตรอาหารสำเร็จรูปมีส่วนผสมต่างๆ จำนวน 11 ตำรับโดยใช้ 3% PG ได้ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 5-9 พบว่าในสูตรอาหารตำรับที่ (11) ใสส่วนผสม 3%PG 0.5%PF และ 2% fructoce ได้สูตรอาหารผงสำเร็จรูปที่กระจายตัวอย่างรวดเร็วดี เมื่อผสมลงในน้ำ เกิดการฟองตัวและขึ้นหนืดพอสมควรได้เป็นเนื้อเดียวของ PG เกิดขึ้นได้รวดเร็วภายใน 15 นาที ได้เนื้อค่อนข้างใสและเนียนดี เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรตำรับอื่นๆ แล้วสูตรตำรับที่ (11) จะเป็นสูตรตำรับที่ดีกว่าสูตรอื่นๆ ทั้งหมดที่เตรียมในการทดลองนี้

ตารางที่ 5-9 สรุปผลของตำรับอาหารผงสำเร็จรูปสูตรตำรับเตรียมจาก polysaccharide gel (PG)
และ polysaccharide fiber (PF)

สูตรตำรับอาหาร	pH / ความหนืด (mPas)	การกระจายตัว / และลักษณะอื่นๆ
ตำรับที่ (1) 3.0%PG 0.1% Citric acid	2.20 / 70.1	- / เมื่อผสมลงในน้ำจับเป็นก้อนละลายยากใช้เวลานานกว่า 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ 1-2 วัน ได้สารละลายหนืดค่อนข้างใสเป็นเนื้อเดียวไม่ตกตะกอนรสเปรี้ยว
ตำรับที่ (2) 3.0%PG 0.1% Citric acid 3.0% Maltodextrin	2.49 / 81.5	+ / การกระจายตัวดีกว่า (1) ละลายค่อนข้างยากเช่นเดียวกับ (1) ละลายหมดใช้เวลา 3 ชั่วโมง สารละลาย หนืดกว่า (1) ค่อนข้างใสเป็นเนื้อเดียวไม่ตกตะกอน รสเปรี้ยว
ตำรับที่ (3) 3.0%PG 0.1% Citric acid 6.0% Matodextrin	2.52 / 170.1	+ / การกระจายตัวและการละลายคล้ายกับ (2) แต่มีความหนืดมากกว่าค่อนข้างใสเป็นเนื้อเดียวไม่ตกตะกอน รสเปรี้ยว
ตำรับที่ (4) 3.0%PG 0.1% Citric acid 3.0%PF	2.69 / 88.4	++ / กระจายตัวดีมีตะกอนแขวนลอยเป็น suspension ขึ้นเป็นเนื้อเดียวเมื่อตั้งทิ้งไว้ 60 นาที PF จะตกตะกอนได้ชั้นบนหนืดใสรสเปรี้ยว
ตำรับที่ (5) 3.0%PG 0.1% Citric acid 6%PF	2.88 / 110.0	++ / การกระจายตัวดีตะกอนแขวนลอยเนื้อขึ้นกว่า (4) เนื้อหยาบไม่เป็นเนื้อเดียว ตกตะกอนเร็วในเวลา 15 นาที รสเปรี้ยว
ตำรับที่ (6) 3.0%PG 0.1% Citric acid 3.0% Maltodextrin 3.0%PF	2.67 / 118.5	++ / การกระจายตัวดีมีตะกอนแขวนลอยเนื้อหยาบไม่เป็นเนื้อเดียวแต่ดีกว่า (4) ตั้งทิ้งไว้ 40 นาทีจะตกตะกอนหมด รสเปรี้ยว

ตารางที่ 5-9 สรุปผลของตำรับอาหารผงสำเร็จรูปสูตรตำรับเตรียมจาก polysaccharide gel (PG)
และ polysaccharide fiber (PF) (ต่อ)

สูตรตำรับอาหาร	pH / ความหนืด (mPas)	การกระจายตัว / และลักษณะอื่นๆ
ตำรับที่ (7) 3.0%PG 0.1% Citric acid 0.5%PF	2.55 / 82.5	++ / การกระจายตัวดี มีตะกอนแขวนลอยเนื้อ ค่อนข้างเนียนเป็นเนื้อเดียว ค่อนข้างหนืด ค่อนข้างใส ตั้งทิ้งนาน 1 ชั่วโมง จึงตก ตะกอน รสเปรี้ยว
ตำรับที่ (8) 3.0%PG 0.1% Citric acid 0.5%PF 0.5% Calcium carbonate 0.5% Fructose	2.68 / -	+++ / การกระจายตัวดี เนื้อเจลเป็นก้อนค่อนข้าง ข้น เนื้อค่อนข้างเพี้ยนเป็นเนื้อเดียว ตกตะกอนเป็นก้อนเจล เมื่อตั้งทิ้ง 1 ชั่วโมง รสเปรี้ยวและออกเค็มมีรส หวานน้อยมาก
ตำรับที่ (9) 3.0%PG 0.1% Citric acid 0.5%PF 0.5% Calcium carbonate 1.0% Fructose	2.70 / -	+++ / การกระจายตัวดี มีเนื้อเจลข้นกว่า และ หนืดกว่า (8) รสเค็มและหวานเล็กน้อย
ตำรับที่ (10) 3.0%PG 0.5%PF 1.5% Calcium lactate 1.0% Fructose	2.60 / -	++++ / การกระจายตัวดีมาก มีตะกอน ไม่ เป็นเนื้อเดียว ไม่ข้นหนืด เนื้อเจลไม่ พองตัวมีรสเปรี้ยวรสหวานน้อยมาก
ตำรับที่ (11) 3.0%PG 0.5%PF 2.0% Fructose	2.51 / 503.4 (cps.)	++++ / การกระจายตัวดีมาก เจลละลายได้เร็ว ภายใน 5-10 นาที สารละลายหนืด ค่อนข้างใส เป็นเนื้อเดียวตั้งทิ้งไว้มี ตะกอนเล็กน้อยมีรสเปรี้ยวอมหวาน

วิจารณ์และสรุป

1. การสกัดและแยกสารโพลีแซคคาไรด์ PG และ PF จากเปลือกแห้งของผลทุเรียน

สารคาร์โบไฮเดรตจากเปลือกทุเรียนสามารถแยกออกมาได้เป็นสองชนิด คือ เจลโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide Gel ; PG) และเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide Fiber ; PF) การสกัดสารเจลโพลีแซคคาไรด์ สามารถสกัดออกมาได้จากเปลือกทุเรียนสด บดละเอียดได้ PG ประมาณ 1% ของเปลือกสด (2) และในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การสกัดได้ผลดีขึ้นโดยสกัดจากเปลือกแห้งบดละเอียดและพัฒนาวิธีการสกัดได้ผลการสกัด PG มากขึ้นประมาณ 1.5- 2 เท่า พบว่าผลของการสกัดจากเปลือกอบแห้ง 1 กิโลกรัม ที่บดละเอียด สกัดได้ PG ประมาณ 70 - 90 กรัม และวิธีการทำ PG ให้แห้งในขั้นตอนสุดท้ายจะมีผลต่อปริมาณสารสกัด PG ที่จะได้รับมีปริมาณมากน้อยต่างกัน การทำให้แห้งโดยวิธี spray dry จะได้สารสกัด PG น้อยกว่าวิธีอื่น ได้แก่ จากวิธี freeze dry และ hot-air oven dry เป็นต้น วัตถุประสงค์เปลือกทุเรียนที่เหลือจากการสกัดเอา PG ออกแล้ว จะเหลือกาก (fiber residue) ถึง 50-60% ซึ่งสามารถนำมาใช้แยกให้สารเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide Fiber ; PF) ได้ จากการทดลองพบว่าได้ yield ของ PF จะมีประมาณ 30% จากกากของเปลือกทุเรียน (fiber residue) ซึ่งจะเท่ากับประมาณ 15% จากเปลือกแห้ง ผลการทดลองของการสกัดและแยกสารโพลีแซคคาไรด์แสดงปริมาณของสารที่แยกได้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1-1

2. องค์ประกอบทางเคมีของสารโพลีแซคคาไรด์ PG และ PF

2.1 จากผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 2-1 แสดงองค์ประกอบของน้ำ เถ้าและเส้นใยที่พบอยู่ในเจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) และในเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (PF) แสดงให้เห็นว่าในส่วนของ PG ไม่พบมีองค์ประกอบของ crude fiber อยู่เลยขณะที่ในส่วนของ PF จะมี crude fiber เป็นหลัก พบมีไฟเบอร์ 96 - 97% ปริมาณของ moisture และเถ้าจะพบอยู่ในส่วนของ PG มากกว่า PF ปริมาณเถ้าของ PF พบไม่สูงพบมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณของเถ้าใน cellulose powder ตามที่กำหนดใน USP (24) ดังแสดงในตารางที่ 3-2 ให้มีได้ไม่เกิน 0.3%

2.2 องค์ประกอบของธาตุที่ทำการทดลองวิเคราะห์ธาตุต่างๆ ได้แก่ Carbon (C), Hydrogen (H), Oxygen (O), Nitrogen (N), และ Sulfur (S) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2-2 พบว่าทั้งเจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) และเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (PF) มีองค์ประกอบของธาตุ Carbon Hydrogen และ Oxygen เท่านั้นไม่พบมี Nitrogen และ Sulfur และมีสัดส่วนของ atomic ratio C H และ O ของทั้ง PG และ PF ประมาณ 3 : 6 : 3 ซึ่งจะแสดงว่าอาจเขียนสูตรเบื้องต้นของธาตุทั้ง 3 ชนิดได้เป็น $(\text{CH}_2\text{O})_n$ อาจเสนอแนะได้ว่า PG และ PF เป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีองค์ประกอบอนุพันธ์ที่มีหมู่ amino หรือ sulfate ที่อาจพบได้ในสารคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด (1)

2.3 การศึกษาองค์ประกอบของเกลือแร่ในสารสกัดเจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) และเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (PF) ได้แสดงรายละเอียดขององค์ประกอบเกลือแร่ได้แก่ sodium potassium calcium magnesium manganese iron copper zinc aluminium silicon และ lead ไว้ในตารางที่ 2-3 พบว่ามีเกลือแร่พวก sodium potassium calcium และ magnesium เป็นแร่ธาตุพบมากใน PG และ PF องค์ประกอบโลหะหนักๆมีอยู่ไม่เกินตามที่กำหนดของ cellulose powder ตาม U.S.P. (24) (ตารางที่ 3-2)

2.4 การศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัดเจลโพลีแซคคาไรด์ (PG) และเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ (PF) ทำการวิเคราะห์น้ำตาล โดยวิธีย่อยสารโพลีแซคคาไรด์ใน Trifluoroacetic acid (TFA) และ Hydrochloric acid (HCl) และวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลต่างๆ ที่ได้จากการย่อยสลายของ PG โดยวิธี TLC ใช้ silica gel 60 F 254 บน aluminum plate และ solvent system เป็น ethyl acetate : acetic acid : water เท่ากับ 4 : 2 : 3 และ spray ด้วย 1-naphthol ใน ethanol และ sulfuric acid ผลที่ได้แสดงไว้ใน TLC Chromatogram ในรูปที่ 2-1 พบว่ามีองค์ประกอบของน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐานได้แก่ galacturonic acid glucose fructose rhamnose และ arabinose ส่วนใน PF พบมีองค์ประกอบที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน glucose เพียงชนิดเดียวที่เห็น 1 spot ดังแสดงผล TLC chromatogram ของ PF acid hydrolyzate ไว้ในรูปที่ 2-2

องค์ประกอบของน้ำตาลในสารสกัดของ PG และ PF ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC พบมีองค์ประกอบของน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐานต่างๆ ที่ตรงกันกับที่พบตามวิธีของ TLC ดังแสดงผลไว้ในรูปที่ 2-3 และ 2-4 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ PF มีน้ำตาลชนิดเดียวที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐานกลูโคสจึงอาจเสนอแนะได้ว่า polysaccharide fiber อาจเป็นสารคาร์โบไฮเดรตพวก cellulose และจากวิธีการแยกสารออกมาได้ใช้วิธีการที่คล้ายคลึงกับวิธีการแยกสาร cellulose จากพืช (11) ส่วน PG พบมีองค์ประกอบน้ำตาลที่ตรงกับน้ำตาลมาตรฐาน 4 ชนิด คือ arabinose rhamnose fructose และ glucose และผลสรุปของชนิดน้ำตาลที่พบเป็นองค์ประกอบของ PG และ PF แสดงไว้ในตารางที่ 2-4

3. คุณสมบัติทางกายภาพของโพลีแซคคาไรด์ PG และ PF

3.1 คุณสมบัติทางกายภาพต่างๆ ของ PG และ PF ได้แก่รูปร่างจากภาพถ่าย 3 มิติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของ PG ที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีการอบให้แห้งด้วยความร้อน วิธีการทำ freeze dry และบดเป็นผงหรือด้วยวิธีทำให้แห้งด้วยการทำ spray dry จะได้ผลิตภัณฑ์ PG ที่มีรูปร่างออกมาแตกต่างกันดังแสดงไว้ในภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรูปที่ 3-1 และรูปร่างจากภาพถ่าย 3 มิติ ของ PF แสดงไว้ในรูปที่ 3-2 ซึ่งเปรียบเทียบรูปร่าง

3 มิติ กับ cellulose powder และ microcrystalline cellulose ที่มีขายในท้องตลาด จะเห็นว่ามี ความคล้ายกัน ขนาดของ particle ของ PG และ PF ที่ได้จากการการอบแห้ง บดเป็นผง และ ผ่านร่่าง 60 mesh และ 80 mesh ตามลำดับ พบว่ามีขนาด 222-301 μm และ 140-161 μm ตาม ลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ cellulose powder และ microcrystalline cellulose ซึ่งมีขนาด 55- 56 μm และขนาด 35-48 μm ตามลำดับ

3.2 การศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของสารสกัด PG ด้วยวิธีของ Column Chromatography ของ Sepharose CL 4 B เทียบกับ standard dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดต่างๆ ได้ผลดังแสดง ไว้ในรูปที่ 3-4 พบว่า FG มีมากกว่า 1 ขนาด มีขนาดเฉลี่ยของ molecular weight อยู่ในช่วง 500-1,400 k Da แสดงว่าโมเลกุลของ PG อาจเป็นสารที่มีองค์ประกอบไม่ใช่โมเลกุลเดี่ยว

3.3 การศึกษาคุณสมบัติของ PG และ PF จากคุณลักษณะของ IR spectrum ซึ่งแสดง absorption band ที่ wave number ต่างๆพบมี functional group สำคัญต่างๆ ได้แก่ (OH) (C=O) (COO) (C-O-H) (C-OH) เป็นต้น พบว่า PG และ PF แสดง IR spectra ที่ใกล้เคียงกันดัง แสดงไว้ในรูปที่ 3-5 และ 3-6 ตามลำดับ ยกเว้น PG จะแสดงให้เห็น band ของ functional group ที่สำคัญที่ไม่พบใน PF ได้แก่ที่ wave number 1749 cm^{-1} (C=O) 1639 cm^{-1} (COO) และ 1237-1335 cm^{-1} (C-O-H) 1105 cm^{-1} , 1019 cm^{-1} (C-OH) เป็นต้น (รูปที่ 3-5) และแสดง profile ของ IR Spectra ของ PF ในรูปที่ 3-6 เปรียบเทียบกับ cellulose powder และ microcrystalline cellulose จะเห็นว่าไม่มีความแตกต่างกัน แสดงว่า PF มีองค์ประกอบที่มี functional group ต่างๆ เช่นเดียวกับ cellulose ในขณะที่ PG มีองค์ประกอบที่มี functional group ที่ต่างออกไป

3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของ crystallinity ของ PG และ PF แสดงไว้ใน รูปที่ 3-7 และ 3-8 การ เปรียบเทียบระหว่าง PG และ PF (รูปที่ 3-7) แสดงให้เห็นความเป็น amorphous ของ PG ใน ขณะที่ PF ที่มีลักษณะของ crystalline มากกว่าและมีความคล้ายกับ cellulose powder และ microcrystalline cellulose ตามผลของ X-ray diffraction profile ที่แสดงในรูป 3-8

3.5 การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ของ PG และ PF ได้แก่ คุณสมบัติการละลาย ในน้ำและ solvent อื่นๆ ความหนืดและความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิจุดหลอมเหลวหรือ จุด decompose และผลการทดสอบ ปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ ของ functional groups ของ สารคาร์โบไฮเดรตได้แสดงไว้ในตารางที่ 3-1 ที่ให้ผลที่สอดคล้องกันว่าทั้ง PG กระ PF มีคุณสมบัติของสาร polysaccharide และการตรวจสอบคุณสมบัติของ PF ตามที่กำหนดไว้ใน specification ของ cellulose powder ตาม USP XX III (24) ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 3-2 แสดงให้เห็นว่า PF ที่แยกได้จากเปลือกของผลทุเรียนมีคุณสมบัติที่ทดสอบตามตารางที่ 3-2 ใกล้เคียงตาม specification ของ cellulose powder ตาม USP

4. คุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ PG

4.1 คุณสมบัติของ PG ต่อเชื้อจุลินทรีย์

ทำการทดสอบกับเชื้อ แบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *S. aureus* ซึ่งเป็น gram \oplus ve และ *E. coli* ซึ่งเป็น gram \ominus ve และทดสอบกับเชื้อ yeast 2 ชนิด คือ *C. albicans* และ *S. cerevisiae* เนื่องจาก PG เป็นสารพวก polysaccharide ชนิดหนึ่งที่น่าจะถูกใช้เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ได้ เมื่อให้ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ทำการทดสอบเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีต่อไปนี้

Agar diffusion method ได้ผล คือ เชื้อ bacteria ทั้ง gram \oplus ve (*S. aureus*) และ gram \ominus ve (*E. coli*) จะไม่สามารถเจริญได้ในสารอาหาร MNG เมื่อมี PG ในความเข้มข้น 1.25% และ 2.5% ตามลำดับผลการทดลองแสดงให้เห็นในตารางที่ 4-1 แสดง inhibition zone ที่ชัดเจนและ inhibition zone มีความกว้างเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ PG เพิ่มขึ้น ในขณะที่เชื้อ yeast ทั้ง 2 ชนิด ที่ทดสอบพบว่า PG ไม่มีผลห้ามการเจริญ แม้จะให้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.6% จนถึง 10% ในอาหาร Sabouraud agar (SA) ที่ผสมและไม่ผสม glucose จากผลทดลองที่ได้รายงานแนะได้ว่า yeast อาจใช้ PG เป็น carbon source ของมันในการเจริญได้

Broth dilution method ผลของ PG ต่อ *E. coli* และ *S. aureus* ในอาหาร broth MN และใน normal saline (NSS) ที่มี PG และที่มี Glucose แสดงผลในตารางที่ 4-2 และ 4-3 ตามลำดับ พบว่า 1% PG มีผลยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ภายใน 1 วัน เมื่อ incubate ไว้ที่ 37°C ในขณะที่ control ที่ใช้อาหาร MN ไม่มี glucose และใน NSS พบว่าเชื้อสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้เกิน 7 วัน อย่างไรก็ตามในอาหาร MN ที่มีปริมาณ glucose สูง 0.5% มีผลทำให้ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ใน 5 วัน ผลต่อ *S. aureus* ค่อนข้างคล้ายคลึงกับผลการเจริญของ *E. coli* พบว่า 1% PG ในอาหาร MN จะมีผลหยุดการเจริญของ *S. aureus* ได้ในเวลา 7 วัน และอาหาร 0.5% Glucose ใน MN จะทำให้เชื้อเจริญได้ใน 1 วันและค่อยๆ ลดลงจนถึง 0 ในวันที่ 13 ขณะที่ control ที่ใช้อาหาร broth MN ไม่มี glucose และใน NSS พบว่ามีเชื้ออยู่รอดได้เกิน 5 วัน น่าสังเกตว่าใน NSS ที่มี PG แม้ในความเข้มข้นน้อยมากเพียง 0.02% PG พบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด จะไม่สามารถอยู่รอดได้และจำนวนเซลล์ลดลงจนถึง 0 ภายใน 1 วัน ในขณะที่ NSS ที่มี glucose ไม่มีผลยับยั้งการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดในขณะที่ control ที่ปล่อยให้เชื้ออยู่ใน NSS และที่อยู่ในน้ำกลั่น (DW) พบว่าเชื้อทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* สามารถอยู่รอดได้เกิน 7 วัน ดังผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4-4 และ 4-5 ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้นอาจเสนอแนะได้ว่า PG อาจมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด โดยเฉพาะทำให้เชื้อทั้งสองไม่สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ในขณะที่ใน control NSS ซึ่งปกติเชื้อทั้งสองชนิดจะอยู่ได้นานถึง 1 สัปดาห์ ผลที่ได้จึงอาจเสนอแนะได้ว่า PG มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง *S. aureus* และ *E. coli* ได้

ผลของ PG ต่อเชื้อ yeast ทั้งสองชนิดที่ทดสอบ คือ *S. cerevisiae* และ *C. albicans* ตามตารางที่ 4-6 และ 4-7 ทำการเพาะเลี้ยง yeast ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud broth (SB) ที่มี glucose และที่มี PG แทน glucose พบว่า *S. cerevisiae* และ *C. albicans* สามารถเจริญได้ดีพอควรใน SB ที่มี 0.5%PG ในขณะที่มี 1%PG ทำให้เชื้อ yeast เจริญได้ไม่ดีเท่า แต่ดีกว่า control ที่เพาะเลี้ยงใน NSS เชื้อ yeast สามารถมีชีวิตและรอดอยู่ได้ใน NSS นานกว่า 2 สัปดาห์ และอยู่รอดได้ดีกว่าอยู่ในน้ำกลั่น (DW) อย่างไรก็ตามใน NSS ที่มี PG และที่มี glucose จะทำให้การอยู่รอดของ yeast ทั้งสองชนิดดีกว่าอยู่ใน NSS และ DW (ตารางที่ 4-8 และ 4-9)

4.2 คุณสมบัติของ PG ต่อการย่อยด้วย α -amylase

อาหารประเภทแป้งจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในน้ำลาย คือ α -amylase ที่มีคุณสมบัติในการทำหน้าที่ตัด glycosidic bond ระหว่างน้ำตาล glucose ที่ α 1-4 bonding และจะได้สายที่ถูกตัดมีปลาย reducing ของ C1-OH ที่สามารถตรวจสอบได้ โดย Fehling's test และ O-Toluidine test ผลการทดลอง (ตารางที่ 4-10) ความสามารถในการตัดสายยาวของ polysaccharide โดย α -amylase จากการทดสอบกับน้ำยา Iodine เปรียบเทียบกับ control ที่ใช้น้ำแป้งเป็น positive control จากการทดสอบกับน้ำยา Iodine ที่ 0 นาที ของน้ำแป้งจะได้สีน้ำตาลเงิน ส่วน PG จะให้สีม่วงแดงซึ่งแสดงว่า PG มีส่วนประกอบของน้ำตาลที่เป็นโครงสร้างของ α -helix คล้ายแป้งแต่เป็นสายที่สั้นกว่าและการต่อของน้ำตาล glucose ด้วย α , 1-4 ของโครงสร้าง polysaccharide โมเลกุลขนาดยาวของแป้งเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำยา Iodine จะให้สีน้ำตาลเงิน (19) ขณะที่เมื่อสายของน้ำตาลสั้นลง เหลือ 24-30 โมเลกุลของน้ำตาลจะให้สีม่วงแดงได้แก่พวก amylopectin และเมื่อลดขนาดจนถึง 8-12 โมเลกุลเช่น glycogen ที่มี branch point ในทุก 8-12 โมเลกุลของ glucose จะทำปฏิกิริยากับน้ำยา Iodine ให้สีน้ำตาลแดงและจนถึงไม่มีสีเมื่อสายของน้ำตาลสั้นลงไปเรื่อยๆ (25) ผลการทดลองแสดงว่าเมื่อให้เอนไซม์ α -amylase ย่อยแป้งและให้ย่อย PG เป็นเวลา 30 นาที ที่ 37°C ทำการตรวจสอบทั้งก่อนและหลังการย่อยที่เวลา 0 และ 30 นาที ของการย่อย พบว่าหลังให้ย่อยด้วยเอนไซม์ 30 นาที PG ไม่ให้สีม่วงแดงเหมือนเดิมเมื่อทดสอบกับน้ำยา Iodine จะให้สีน้ำตาลแดงจางๆ และในขณะที่น้ำแป้งจะไม่ให้สีน้ำตาลเงินเมื่อทดสอบหลังการย่อยแป้ง 30 นาที แสดงว่าแป้งถูกย่อยหมดด้วย α -amylase ในทำนองเดียวกันเมื่อทดสอบ reducing sugar ที่เกิดขึ้นเป็น product หลังการย่อยโดยการทำให้ปฏิกิริยา Fehling's test จะได้ผลสอดคล้องกันคือทั้งก่อนและหลังการย่อย PG ด้วย α -amylase จะไม่เห็นตะกอนสีแดงแสดงว่าไม่มี reducing sugar เกิดขึ้นหรือมีอยู่ไม่มากพอที่จะตรวจสอบได้ด้วย Fehling's test ขณะที่การตรวจสอบการย่อยน้ำแป้งพบว่าหลังการย่อยของเอนไซม์ α -amylase สามารถตรวจสอบได้ว่ามี

reducing sugar เกิดขึ้นในน้ำแป้งโดย Fehling's test พบว่าให้ตะกอนสีแดงของ cuprous oxide เกิดขึ้นแสดงว่าน้ำแป้งถูกย่อยได้หมดในขณะที่ PG จะทนต่อการถูกย่อยด้วย α -amylase (ตารางที่ 4-10) จากผลการทดลองเสนอแนะได้ว่า การให้กิน PG จะไม่ทำให้ PG ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ α -amylase ในทางเดินอาหารและอาจจะไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร แต่จะถูกขับถ่ายออกภายนอกในร่างกายในที่สุด ยิ่งกว่านั้นเนื่องจาก PG พองตัวในน้ำ จะทำให้เพิ่มปริมาตร เมื่อให้กินและร่างกายนำไปใช้ไม่ได้ จึงอาจเป็นคุณสมบัติที่ต้องการในกรณีที่จะนำ PG ไปใช้ประโยชน์เป็นอาหารควบคุมน้ำหนัก (diet food) ได้ เช่นเดียวกับสาร carbohydrate พวก glucomannan และ polysaccharide fiber อื่นๆ (26,27,28) เป็นต้น

4.3 คุณสมบัติของ PG ต่อการกักเก็บสารลิปิด cholesterol

การทดลองเบื้องต้นเพื่อการทดสอบคุณสมบัติของ PG ในการกักเก็บสารลิปิด การทดลอง ได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ในหลอดทดลองด้วยเทคนิค membrane dialysis โดยทำการผสมสาร PG ในความเข้มข้นต่างๆ กับสารลิปิดคือ cholesterol และใช้ bile salts ช่วยการผสมให้เป็นเนื้อเดียวและทำการ dialysis เป็นเวลานาน 30 นาที ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประมาณ 50% ของ cholesterol ถูกกักเก็บไว้ได้โดย 1%PG อยู่ในถุง dialysis membrane (ตารางที่ 4-11) ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับการทดลอง โดยใช้ PG ในความเข้มข้นต่างๆ คือที่ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2%PG และตรวจวิเคราะห์หาประมาณ cholesterol มีอยู่ภายในและภายนอก dialysis membrane ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งผลที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4-1 และ 4-2 แสดงปริมาณของ cholesterol ที่ถูกเก็บอยู่ใน PG ภายใน dialysis membrane และที่ถูกปล่อยออกมาภายนอก membrane ตามลำดับ ผลการทดลองให้ผลสอดคล้องกันและพบว่า 1% ของ PG จะกักเก็บ cholesterol ได้มากกว่า 62% และ cholesterol ถูกปล่อยออกมาภายนอก membrane ประมาณ 29% และที่ 2%PG สามารถกักเก็บ cholesterol ได้ประมาณ 89% ภายหลังจาก dialysis นานถึง 10 ชั่วโมง และปล่อย cholesterol ออกมาภายนอก membrane ประมาณ 5% จากผลการทดลองเสนอแนะได้ว่า polysaccharide gel สกัดจากเปลือกผลทุเรียนอาจมีประโยชน์ใช้กินเพื่อช่วยในการกักเก็บสารอาหารพวกลิปิดป้องกันไม่ให้ลิปิดถูกดูดซึมในทางเดินอาหารเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งอาจนำมาใช้ได้ผลดี เพื่อเตรียมเป็นอาหารช่วยควบคุมไขมันในคนที่มีปัญหาของ cholesterol สูง (27,28,29) หรืออาจใช้กินเป็นอาหารช่วยลดน้ำหนัก (diet food) ในคนที่มีปัญหาน้ำหนักเกิน เป็นต้น

5. การใช้ประโยชน์ของสารสกัด PG ในตำรับยาและอาหาร

5.1 การใช้ PG ในการเคลือบเม็ดยาในผลิตภัณฑ์ยาเม็ดเคลือบ

จากการทดลองใช้ PG แทนสารโพลีเมอร์ที่ใช้ในการเคลือบเม็ดยาพบว่า PG สามารถใช้เคลือบเม็ดยาได้ผลที่น่าพอใจโดยใช้ในความเข้มข้นของ 3%PG สามารถเคลือบเม็ดยาได้เร็วน่าพอใจใช้เวลาเคลือบนาน 105 นาที ในขณะที่การใช้ PG ร่วมกับสาร hydroxypropyl methylcellulose E15 (HMPC E15) หรือ HMPC E5 พบว่าสามารถเคลือบได้ผลเช่นเดียวกันและใช้เวลาการเคลือบลดลงเหลือประมาณ 60-75 นาที ผลของการเคลือบและการทดสอบการกระจายตัวของเม็ดยาภายหลังการเคลือบพบว่ายาเคลือบจะค่อยๆ ละลายออกจากเม็ดยาได้รวดเร็วเช่นเดียวกับ control ที่เคลือบด้วยสูตรผสมของ 4% HMPC E 5 และ 2.7% HMPC E15 จากผลการทดลองอาจเสนอแนะได้ว่า polysaccharide gel (PG) สกัดจากเปลือกของผลทุเรียนสามารถนำมาใช้เตรียมตำรับน้ำยาเคลือบสำหรับใช้เคลือบยาเม็ดเคลือบได้ผลที่น่าพอใจ PG สามารถใช้เคลือบเม็ดยาได้ผิวเรียบและให้ผลการกระจายตัวได้รวดเร็ว

5.2 การใช้ PG ในการเตรียมผลิตภัณฑ์อาหาร

พบว่าสารสกัด PG นำมาใช้เตรียมผลิตภัณฑ์อาหารพวกเยลลี่และแยมได้ผลน่าพอใจ (6) การทดลองครั้งนี้เพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์อาหารในรูปของผงแห้งที่ผสมน้ำก่อนดื่ม ในสูตรตำรับอาหารจะผสมสารช่วยการกระจายตัวของ PG ได้แก่ใช้ polysaccharide fiber (PF) ที่แยกได้จากเปลือกของผลทุเรียนที่สกัดเอา PG ออกแล้ว เปรียบเทียบกับการใช้ maltodextrin พบว่า PF สามารถช่วยให้ PG กระจายตัวเมื่อเทลงผสมในน้ำได้ดีเช่นเดียวกับการใช้ maltodextrin สูตรอาหารที่เตรียมขึ้นจะผสมสารอาหารและสารแต่งกลิ่นรสต่างๆ เพื่อให้ได้สูตรอาหารที่น่าพอใจ จากการทดลองเตรียมสูตรอาหารตำรับต่างๆ จำนวน 11 ตำรับพบว่าตำรับอาหารที่ให้ผลที่น่าพอใจเป็นสูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของ 3%PG ผสมกับ 0.5%PF และ 2% fructose ซึ่งสามารถแต่งกลิ่นและสีได้ตามต้องการ ได้สูตรอาหารอยู่ในรูปของผงแห้ง เมื่อเทลงในน้ำจะกระจายตัวได้ดีเป็นเนื้อเดียวได้รวดเร็วมีความข้นหนืดเล็กน้อย กลิ่นได้ง่าย อาจใช้เป็นสูตรตำรับที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารควบคุมน้ำหนัก (diet food) ได้ ซึ่งอาหารที่มี dietary fiber สูงพบว่าสามารถใช้สำหรับช่วยควบคุมลดระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน (26,27) และช่วยลดการดูดซึมไขมันลดระดับ cholesterol ในเลือด (27,29) ได้ ผลดี PG และ PF อาจจะมีคุณสมบัติที่น่ามาใช้ประโยชน์เหล่านี้ได้ จึงควรมีการศึกษาให้มีความชัดเจนยิ่งขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Dumitriu, S. (1998). Polysaccharides : Structural diversity and functional versatility. Marcel Dekker, Inc.
2. Pongsamart, S. and Panmaung, T. (1998). Isolation of Polysaccharides from Fruit-Hulls of Durian (*Durio zibethinus* L.). Songklanakarin J. Sci. Technol., 20 (3) : 323-332,
3. Umprayn, K., Kaitmonkong, R., and Pongsamart, S., (1990). Evaluation of Tablet Disintegrating Properties of Durian Rind Extracts. NUS-JSPS Seminar, October 23-26, 1990, CHIBA, JAPAN.
4. Umprayn, K., Kaitmonkong, R., and Pongsamart, S. (1990). The Studies of Durian Rind Extracts as an Aqueous Binder II : Evaluation of Tablets Properties. Th. J. Pharm. Sci 15 (3), 173-186
5. Pongsamart, S. (1989). The studies of carbohydrate extracts from durian rinds to use as suspending agent. Research Report, Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.
6. Pongsamart, S., Dhumma-Upakorn, R. and Panmaung, T. (1989). The studies of carbohydrate from durian rind for pharmaceutical and food preparations. Research Report, Faculty of Pharmaceutical Chulalongkorn University.
7. Pongsamart, S., Sukrong, S. and Tawatsin, A., (2001). The determination of toxic effects at a high oral dose of polysaccharide gel extracts from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus* L.) in mice and rats. Songklanakarin J. Sci. Technol. 23 (1) : 55-62
8. สุนันท์ พงษ์สามารถ และคณะ (2540) การประเมินความปลอดภัยของการบริโภค สารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกของผลทุเรียนในหนูถีบจักร การประชุมเสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ครั้งที่ 14 ประจำปี 2540 วันที่ 3 ธันวาคม 2540 คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. สุนันท์ พงษ์สามารถ, วิมลมาศ ลิปิพันธ์, มณีวรรณ สุขสมทิพย์, ชุติมา ทิพยกุล, จิตติมา เลิศชัยพร และ นันทวัน นันทวนิช (2544) โพลีแซคคาไรด์เจดจากเปลือกของผลทุเรียน (*Durio zibethinus* L) : คุณสมบัติเจดและคุณสมบัติการด้านเชื้อแบคทีเรีย นิทรรศการ “งานวิจัยเพื่ออนาคตของสังคมไทย” ในโอกาสครบรอบ 84 ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันที่ 23-28 มีนาคม 2544 ณ ศาลาพระเกี้ยว จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.

10. สุนันท์ พงษ์สามารถ, ไกรสิทธิ์ อัมพรายน, วราภรณ์ เกิดดิษฐ์ และสุปราณี สิทธิไพโรจน์กุล (2544) โพลีแซคคาไรด์มีประโยชน์ที่แยกจากเปลือกแห้งของผลทุเรียน (*Durio zibethinus L.*) นิทรรศการ “งานวิจัยเพื่ออนาคตของสังคมไทย” ในโอกาสครบรอบ 84 ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วันที่ 23-28 มีนาคม 2544 ณ ศาลาพระแก้ว จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.
11. Padmadisastra, Y. and Gonda, I. (1989). Preliminary studies of the development of direct compression cellulose excipient from bagasse. *J. Pharm. Sci.* 78 : 508-514
12. Osborne, D.R. and Voogt, P. (1978). *The Analysis of Nutrients in Foods*, Academic Press. London. pp 168-171
13. Osborne, D.R. and Voogt, p. (1978). *The Analysis of Nutrients in Foods*, Academic Press. London. pp 107-108
14. Harold, E., Kirk, R.S. and Sawyer, R. (1981). *Pearson's Chemical Analysis of Foods* 8th ed., Churchill Livingstone, N.Y, pp 20-24
15. Lee, R. (1975). *Food Analysis, in Analytical and Quality Control Methods for the Food Manufacture and Buyer*, 3rd ed. Leonard Hill Books, London, pp 84
16. Yongwen, Z., Hiroaki, K. et al. (1997). Fractionation and chemical properties of immunomodulating polysaccharides from roots of *dipsacus* as peroides. *Planta, Med.* 63; 393-399
17. Reiland, J., (1971) 27. Gel Filtration. *Method Enzymol.*, 22 : 287
18. Marrink, J., and Gruber, M. (1969). Molecular weight determination by chromatography on Sepharose 4 B. *FEBS Lett* 2; 242-244
19. Koch, F.C., and Kanke, M.E. (1953). *Practical Methods in Biochemistry*, 6th ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A. pp 7-26
20. Russel, S., Bryant, M. and Morrison, D.B. (1964). *Clin. Chem.* 10 : 641
21. Noria, A., et al. (1990). Microquantification of cholesterol and cholesterol esters in rat peritoneal macrophages by revers-phase high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 185;339-345
22. Brock, T.D., Madigan, M.T., Mortiniqu, J.M. and Parker, J. (1994). *Biology of microorganisms*, 7th ed., Prentice Hall, Englewood Cloffs, N.J., pp. 118-124

23. Lorian, V. (1991). Antibiotics in Laboratory Medicine, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 739-786
24. The United State Pharmacopoeia XXIII and The National Formulary XVII 1995, United State Pharmacopoeia convention Inc., Rockville, MD., pp. 1681-1686
25. Roehring, K.L. (1984). Carbohydrate Biochemistry and Mutabolism. AVI publishing Co. Inc. Westport, Connecticut, U.S.A. pp 19-20
26. Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., Bergman, K.V., Grundy, S.M. and Brinkley, L.J. (2000). Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. N. Eng J. Med. 342 (19); 1392-1398
27. Baker, R.A. (1994). Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber. Food Tech. Nov. 133-139
28. Eastwood, M.A., Brydon, W.G. and Anderson, DMW (1986). The effect of the polysaccharide composition and structure of dietary fibers on cecal fermentation and fecal excretion. Am. J. Clin. Nutr. 44 : 51-55
29. Vahouny, G.V., Satchithan-andam, S., Chen, I., Tepper. S., Kritchevsky, D., Lightfoot, F.G. and Cassidy, M.M. (1988). Dietary fiber and intestinal adaptation : effects on lipid absorption and lymphatic transport in the rat. Am. J. Clin. Nutr. 47 : 201-206
30. Araki, N., Horiuchi, S., Torab, A., Rahim, M.A., Takata, K. and Morino, Y. (1990) Microquantification of cholesterol and cholesteryl esters in rat peritoneal macrophages by reverse-phase high-performance liquid chromatography, Analytical Biochemistry 185 ; 339-345.

