น้ำยาบ้วนปากชนิดแกรนูลฟู่ของสารสกัดชาเขียวที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อในช่องปาก

นางสาว กรณิศ วิรานุวัตร
นาย ชัชวาล ฐานมโนวงศ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2549

EFFERVESCENT GRANULES OF GREEN TEA EXTRACT MOUTHWASH HAVING ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN ORAL

MISS KORANID VIRANUVAT
MISTER CHUTCHAWAN THANMANOWONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ
เรื่อง น้ำยาบ้วนปากชนิดแกรนูลฟู่ของสารสกัดชาเขียว
ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อในช่องปาก

.....

(นางสาว กรณิศ วิรานุวัตร)

.....

(นาย ชัชวาล ฐานมโนวงศ์)

.....

(รศ. ดร. วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ศ. ดร. นันทวัน บุญยประภัศร)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(ผศ. ดร. ดวงดาว ฉันทศาสตร์)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(ผศ. ดร. มัลลิกา ชมนาวัง)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
น้ำยาบ้วนปากชนิดแกรนูลฟู่ของสารสกัดชาเขียว ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อในช่องปาก

กรณิศ วิรานุวัตร, ชัชวาล ฐานมโนวงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษา: วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ*, นันทวัน บุญยะประภัศร**, ดวงดาว ฉันทศาสตร์*, มัลลิกา ชมนาวัง***

*ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

***ภาควิชาเภสัชจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: น้ำยาบ้วนปาก, แกรนูลฟู่, สารสกัดชาเขียว, เชื้อแบคทีเรียในช่องปาก, ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากแกรนูลฟู่สารสกัดจากกากชาเขียว (*Camellia sinensis* (L.) Kentze) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Streptococcus sanguinis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบมากในช่องปาก และเป็นสาเหตุสำคัญของการก่อให้เกิดฟันผุ จากการทดสอบประสิทธิภาพของผงแห้งสารสกัดกากชาเขียวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ด้วยวิธี Agar dilution เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดกากชาเขียวที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ พบว่าสารสกัดจากกากชาเขียวมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S.mutans* และ *S.sanguinis* ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำผงแห้งสารสกัดกากชาเขียวมาเตรียมเป็นแกรนูลฟู่ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธี Wet granulation โดยใช้ Citric acid, Tartaric acid และ Sodium bicarbonate ในอัตราส่วน 1:2:3.44 (โดยน้ำหนัก) และใช้ 75% Ethanol เป็นสารยึดเกาะ โดยมี thymol, menthol, peppermint oil, sorbitol, xylitol, Acesulfame-K เป็นส่วนประกอบในตำรับ จากการประเมินประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและคุณสมบัติทางกายภาพของแกรนูลฟู่สารสกัดกากชาเขียวที่เตรียมได้ พบว่าแกรนูลฟู่นี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S.mutans* และ *S.sanguinis* ที่ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าแกรนูลฟู่มีการแตกตัวในน้ำที่ดี (ค่าเฉลี่ยของเวลาที่ใช้ในการแตกตัวเป็น 3.53 นาที) มีความชื้นต่ำ (%loss on drying เป็น 3.82% และ %moisture content เป็น 3.98%) และมีการไหลอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงดี (มีค่า angle of repose เป็น 34.9^{o})

Abstract

Effervescent granules of green tea extract mouthwash having antimicrobial activity in oral

Koranid Viranuvat, Chutchawan Thanmanowong

Project advisor: Varaporn Junyaprasert*, Nuntavan Bunyapraphatsara**, Doungdaw Chantasart*, Mullika Chumnawang***

*Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

***Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: Mouthwash, Effervescent granule, Green tea extract, Oral Bacterial, Antimicrobial activity

This special project was aimed to develop effervescent granule mouthwash of spent green tea leaf (*Camellia sinensis* (L.) Kentze) extract that could inhibit the growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*, the two most common bacteria found in oral which cause dental caries. By using agar dilution method, the effective concentration of green tea extract in effervescent granules was determined. The results show that green tea extract in dry powder could inhibit the growth of *S .mutans* and *S. sanguinis* at 2 mg/ml and 4 mg/ml, respectively. To formulate effervescent granule of 4 mg/ml green tea extract powder by wet granulation method, citric acid, tartaric acid, sodium bicarbonate at a ratio 1:2:3.44 (by weight) were employed by using 75% ethanol as a binder. Other additives included thymol, menthol, peppermint oil, sorbitol, xylitol, and Acesulfame-K. Subsequently, the granules were evaluated their antibacterial activity as well as their physical properties. From the results, it was found that the effervescent granules inhibited the growth of *S. mutans* and *S. sanguinis* at 0.9 mg/ml and 15 mg/ml, respectively. In addition, from physical property evaluation, the results indicate that the granules possessed good disintegration (an average of disintegration time in water was 3.53 minutes), low moisture content (%loss on drying was 3.82% and %moisture content was 3.98%), and fair-to-good flowing ability (angle of repose was 34.9°).

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงตามความมุ่งหมายได้ด้วยความช่วยเหลือจากคณะอาจารย์ที่ปรึกษา ประกอบด้วย รศ. ดร. วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ ภาควิชาเภสัชกรรม ศ. ดร. นันทวัน บุญยะประภัศร ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย ผศ. ดร. ดวงดาว ฉันทศาสตร์ ภาควิชาเภสัชกรรม และ ผศ. ดร. มัลลิกา ชมนาวัง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำในการค้นคว้า การทำการทดลอง การรวบรวม และ เรียบเรียงข้อมูล ผู้ทำการวิจัยจึงกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

นอกจากนี้ยังได้รับความช่วยเหลือจาก คุณกาญจนา ทิมฉ่ำ และ คุณดวงใจ ขวัญอ่อน พนักงานวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล คุณจรัล นับเนืองทรัพย์ และ คุณปิยทิพย์ ขันตยาภรณ์ และ พี่ๆ นักศึกษาปริญญาโท-เอก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยเหลือและคอยอำนวยความสะดวกในการทำการทดลองเป็นอย่างดี

นศภ. กรณิศ วิรานุวัตร

นศภ. ชัชวาล ฐานมโนวงศ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ช
บทนำ	1
ทบทวนวรรณกรรม	3
วัสดุและวิธีการวิจัย	23
ผลการวิจัย	32
วิจารณ์ผลการวิจัย	41
ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ	43
เอกสารอ้างอิง	45

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แบคทีเรียที่ก่อให้เกิด Plaque, Dental Caries, Gingivitis และ Periodontis ที่พบมาก	9
2	ความเข้มข้นของ Ethanol ในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ	24
3	ความเข้มข้นของ SLS ในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ	25
4	ความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรสในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ	26
5	เกณฑ์การประเมินการไหลของผงแห้งโดยการวัดการไหลผ่านกรวยแก้ว	28
6	เกณฑ์การประเมินการไหลของผงแห้งโดยการวัด Angle of repose	28
7	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวและ Chlorhexidine ต่อเชื้อ *S. mutans*	29
8	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวและ Chlorhexidine ต่อเชื้อ *S. sanguinis*	30
9	ผลการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ Ethanol ที่ใช้เป็น Binder	31
10	ผลการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ SLS ที่ใช้เป็น Surfactant	31
11	ผลการประเมินสารแต่งกลิ่นและรสที่เหมาะสม	32
12	ผลการประเมินลักษณะภายนอกของแกรนูลฟู่	35
13	ผลการวัดแตกตัวของผงแห้ง	35
14	ผลการหาปริมาณความชื้นในผงแห้ง	36
15	ผลการวัดการไหลผ่านกรวยแก้วที่มีรูเปิดขนาดต่างๆ กัน	36
16	ผลการวัดการไหลโดยการวัด Angle of repose	37
17	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตำรับที่ 14, Chlorhexidine, Thymol และ Catechin ต่อเชื้อ *S. mutans*	33
18	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตำรับที่ 14, Chlorhexidine, Thymol และ Catechin ต่อเชื้อ *S. sanguinis*	34

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	เชื้อ *Streptococcus Mutans*	6
2	เชื้อ *Streptococcus Sanguinis*	6

สัญลักษณ์ และ คำย่อ

mg	=	มิลลิกรัม
ml	=	มิลลิลิตร
CO_2	=	Carbon dioxide
SLS	=	Sodium Lauryl Sulfate
^{O}C	=	องศาเซลเซียส
α	=	alpha
β	=	beta
mm	=	มิลลิเมตร
UV	=	Ultraviolet
BHI	=	Brain Heart Infusion

บทนำ

ปัจจุบันความสนใจของสังคมที่มีต่อผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมีเพิ่มมากขึ้นเนื่องมาจากผู้บริโภคมีความเข้าใจว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่า และไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ทำให้ผู้ผลิตให้ความสนใจพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีจำหน่ายกันอย่างแพร่หลายในท้องตลาดต่างมุ่งเน้นความเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสารจากธรรมชาติเป็นส่วนประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์จากชาเขียว (ซึ่งเป็นชาที่ไม่ผ่านการหมัก) ส่วนใหญ่มักอยู่ในลักษณะของเครื่องดื่ม รวมทั้งมีการนำชาเขียวเข้ามาช่วยเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่จำหน่ายอยู่มากมาย

ชา (*Cemellia sinensis* L.) มีสารสำคัญในปริมาณสูง ได้แก่ polyphenol, (-)-epicatechin gallate (ECG), (-)-gallocatechin gallate (GCG), (+)-catechin (CC+), (-)-epicatechin (EC), (+)-gallocatechin (GC) และ (-)-epigallocatechin (EGC) มีรายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบชามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในช่องปาก คือ *Bacteriodes gingivalis, Pseudomonas saccharophila, Streptococcus salivarius และ Streptococcus viridans* (1, 2) จากการศึกษาส่วนประกอบสำคัญของใบชา พบว่า สาร polyphenol มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุ โรคปริทันต์ได้ดี (3) โดยสารละลาย polyphenol ของชาในความเข้มข้น 1-4 mg/ml สามารถยับยั้งการยึดเกาะจาก *Streptococcus mutans* บน pellicle และ collagen ที่ได้จากน้ำลายอย่างมีประสิทธิภาพ โดยอัตราเร็วในการยับยั้งจะแปรผันตามความเข้มข้นของ polyphenol (4)

ปัจจุบันนี้พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดนั้น ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารละลายซึ่งจะอยู่ในบรรจุภัณฑ์แบบขวด ทำให้ไม่สะดวกต่อการพกพาไปใช้นอกที่พักอาศัย ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะพัฒนาตำรับน้ำยาบ้วนปากให้อยู่ในรูปผลแกรนูลฟู่ที่สามารถพกพาได้อย่างสะดวกมากขึ้น สามารถพกพาออกมาใช้นอกที่พักอาศัยได้ และสะดวกต่อการใช้

การทดลองนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากชนิดแกรนูลฟู่ของสารสกัดชาเขียวให้เป็นตำรับที่สะดวกในการพกพา และมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปาก ได้แก่ *S. mutans* และ *S. sanguinis* การศึกษาวิจัยนี้มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์ของกากใบชาซึ่งเป็นส่วนเหลือใช้ (Waste product) จากกระบวนการผลิตชาพร้อมดื่ม ซึ่งเป็นตลาดที่มีอัตราการเติบโตสูงอย่างต่อเนื่องและมีความต้องการเพิ่มขึ้น ในส่วนของกากชานั้นเมื่อผ่านการชงด้วยความร้อนเพียงไม่กี่นาทีก็ไม่มีการนำมาใช้อีก จึงน่าจะมีสารสำคัญอยู่ในส่วนกากนี้ค่อนข้างมาก น่าจะมี

การนำมาใช้ประโยชน์ด้วยการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ อันเป็นการเพิ่มมูลค่าของกากชา และช่วยลดภาระในการกำจัดอีกด้วย

ทบทวนวรรณกรรม (Literature Review)

น้ำยาบ้วนปาก (Mouthwash)

1. **ความหมาย** (5)

น้ำยาบ้วนปาก หมายถึง สารละลายน้ำเจือจางเพื่อใช้สัมผัสกับเยื่อบุช่องปาก ไม่สามารถกลืนได้ มักอยู่ในรูปแบบที่สามารถใช้ได้เลยหรือในรูปสารละลายเข้มข้นก่อนนำไปเจือจาง หรือมักเตรียมอยู่ในรูปของผงหรือเม็ดเพื่อนำไปละลายในน้ำก่อนใช้ น้ำยาบ้วนปากอาจมีส่วนผสมที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเพื่อให้สารละลายที่ได้เป็นกลาง

2. **ประโยชน์ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละชนิด** (6)

1.1.น้ำยาบ้วนปากที่ช่วยให้ลมหายใจสดชื่น

ส่วนผสมที่สำคัญในน้ำยาบ้วนปากคือ ยาฆ่าเชื้อโรคและสารที่ทำให้เกิดกลิ่นหอม ช่วยให้ลมปากสดชื่น แต่ส่งผลแค่ชั่วคราวเพราะเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากมีหลายชนิด และยาฆ่าเชื้อที่ใส่ลงไปก็มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้ออย่างอ่อนๆ เท่านั้น แต่ถ้าหากว่าใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่เข้มข้นมากไปติดต่อกันเป็นเวลานาน หรือใช้น้ำยาบ้วนปากที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแบบเข้มข้นสูงเกินไป จะทำให้เกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อในช่องปากได้

1.2.น้ำยาบ้วนปากที่ผสมฟลูออไรด์ช่วยป้องกันการเกิดฟันผุ

การใช้ฟลูออไรด์ที่ได้ผลดีและปลอดภัย มีประสิทธิภาพที่สุดคือการใช้ยาสีฟันเพราะมีการใช้เป็นประจำ ส่วนการใช้น้ำยาบ้วนปากที่ผสมฟลูออไรด์หลังการแปรงฟันนั้น ถึงแม้จะมีรายงานว่าสามารถลดการเกิดฟันผุได้ แต่หากได้รับในปริมาณที่มากเกินไป ก็อาจจะเกิดการสะสมทำให้ส่งผลเสียได้ เช่น ทำให้ฟันตกกระ

1.3.น้ำยาบ้วนปากที่ช่วยลดเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก

ทันตแพทย์จะให้ใช้น้ำยาบ้วนปากที่มียาฆ่าเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยที่มีเหงือกอักเสบลุกลาม หรือผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโรคเหงือกโดยวิธีการผ่าตัด เพื่อให้แผลผ่าตัดหรือเหงือกอักเสบหายเร็ว ดังนั้นการใช้น้ำยาบ้วนปากประเภทนี้จึงควรใช้เมื่อทันตแพทย์แนะนำ

1.4.น้ำยาบ้วนปากที่ผสมคลอเฮกซีดีน

มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ช่วยลดการเกิดแผลในช่องปาก ช่วยลดการเกิดฟันผุ และบรรเทาอาการเจ็บคอได้ แต่น้ำยาบ้วนปากจะขมมาก ถ้าใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานๆ มักทำให้เกิดคราบสีเหลืองปนน้ำตาลบนตัวฟันได้ และอาจทำให้การรับรสอาหารเสียไปด้วย

1.5.น้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดจากพืชหรือสมุนไพร

ช่วยให้มีกลิ่นและรสชาติดีขึ้น ช่วยระงับกลิ่นปากและช่วยลดการอักเสบในช่องปากได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าเชื้อโรคและช่วยลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ได้

1.6.น้ำยาบ้วนปากที่ระบุให้ใช้ก่อนแปรงฟัน

น้ำยาชนิดนี้จะช่วยให้คราบจุลินทรีย์อ่อนลงและหลุดออกง่ายขึ้น โดยอมก่อนแปรงฟันเพื่อช่วยให้การแปรงฟันมีประสิทธิภาพดีขึ้น แต่มีรายงานการวิจัยพบว่า การใช้น้ำยาบ้วนปากชนิดได้มีผลไม่แตกต่างจากผู้ที่ไม่ได้ใช้เลย

แกรนูลฟู่ (Effervescent Granule)

1. ความหมาย (7)

แกรนูลฟู่ หมายถึง แกรนูลที่ไม่ได้เคลือบที่ประกอบไปด้วยกรด และ carbonate หรือ hydrogen carbonate ที่จะทำปฏิกิริยาทันทีกับน้ำและปลดปล่อย carbon dioxide (CO_2) ออกมา โดยจะเป็นตำรับที่จะต้องทำไปละลาย หรือ กระจายในน้ำก่อนใช้

2. การตั้งตำรับแกรนูลฟู่ (Formulation of Effervescent Granules) (8)

การเลือกส่วนประกอบในตำรับแกรนูลฟู่ จะขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต และการละลายของตำรับ ซึ่งส่วนที่จำเป็นต้องมี คือ กรดอย่างน้อย 1 ชนิด และ เบสอีกอย่างน้อย 1 ชนิด ซึ่งเบสที่เลือกต้องเป็นเบสที่สามารถปลดปล่อย CO_2 เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดได้ ตัวอย่างของกรดที่ใช้คือ Tartaric acid และ Citric Acid แต่จะนิยมใช้ผสมกันมากกว่า ส่วนตัวอย่างของเบสที่ใช้ คือ Sodium Carbonate, Potassium Bicarbonate, Sodium Bicarbonate ซึ่งเบสที่นิยมใช้ก็คือ Sodium Bicarbonate

การที่ตำรับแกรนูลฟู่นิยมใช้กรดที่เป็นส่วนผสมของ Citric Acid และ Tartaric Acid มากกว่าการใช้กรดเพียงชนิดเดียว เนื่องจากถ้าหากใช้ Tartaric Acid เพียงชนิดเดียว จะทำให้แกรนูลที่ได้เปราะ แต่ถ้าหากใช้ Citric Acid ชนิดเดียวก็จะทำให้ส่วนผสมเหนียว ทำเป็นแกรนูลได้ยาก

โดยทั่วไป แกรนูลฟู่จะมีส่วนผสมที่นิยมใช้ คือ Sodium Bicarbonate, Citric Acid และ Tartaric Acid ซึ่งเมื่อละลายน้ำแล้ว กรดและเบสจะทำปฏิกิริยากัน ปลดปล่อย CO_2 ออกมา เกิดเป็นฟองฟู่ขึ้น โดยอัตราส่วนที่ใช้ คือ Citric Acid: Tartaric Acid: Sodium Bicarbonate = 1: 2: 3.44 (โดยน้ำหนัก)

3. **ขั้นตอนในการเตรียมแกรนูลฟู่ (Methods of Preparing Effervescent Granules) (8)**

ขั้นตอนในการเตรียมมี 3 วิธี คือ Wet Granulation, Dry Granulation และ Fusion ซึ่ง Fusion Method เป็นวิธีที่นิยมในการทำแกรนูลฟู่ในทางอุตสาหกรรมมากกว่า

3.1. Wet Granulation

เป็นวิธีที่เก่าแก่ที่สุดในการทำแกรนูล แม้จะทำให้เกิดปัญหาในการผลิตมากก็ตาม ขั้นตอนในการทำประกอบด้วย การทำให้ผงมีขนาดเท่ากัน (Milling and Sieving) การผสมผงแห้ง (Dry Powder Mixing) การทำ wet mass (Wet Massing) การทำแกรนูล (Granulation) และ Grinding

ขั้นตอนในการทำ Wet mass จะเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดสำหรับวิธีนี้ ในขั้นตอนนี้ Granulation Agent จะถูกผสมเข้าไป ซึ่งสุดท้ายจะทำให้ผงยาทั้งหมดเกาะกันเป็นก้อนๆ แตกเป็น fragment ไม่แตกเป็นผง โดย Granulation Agent อาจเป็น alcohol ซึ่งใช้เป็น Moistening Agent ได้ด้วย

ในขั้นตอนการทำ Granule ทำได้โดยการนำ Moistened Powder ไปผ่าน Oscillation Granulator หรือ Hammer Mill และนำไปอบใน Hot Air Circulation Oven หรือ Fluid Bed Drier

Particle อาจรวมตัวกันหรือจับกันเป็นกลุ่มได้ในขั้นตอนการทำให้แห้ง ดังนั้นการลดขนาดจึงเป็นขั้นตอนที่จำเป็นหลังจากอบแห้งแล้ว ซึ่งเครื่องมือที่นิยมใช้ในขั้นตอนนี้คือ Oscillation Granulator โดยขนาดของแร่งที่ใช้ในขั้นตอน Sizing นั้น ควรจะมีขนาดรูผ่านที่ใหญ่กว่าที่ใช้ในขั้นตอน Granulation เล็กน้อย ถ้าหากผงส่วนเกินที่ได้ไม่เกาะกันหรือเกิดการทำลายแกรนูลในขั้นตอน Sizing ยกตัวอย่าง ถ้าหากใช้แร่งขณะทำ Granulation ขนาด 20 mesh ตัวเลือกที่ดีที่จะนำมาใช้ในขั้นตอน Sizing ก็คือแร่งขนาด 16 mesh

3.2. Dry Granulation

ปกติแล้ววิธีการนี้จะรวมไปถึงการนำส่วนผสมของผงที่ได้ไปทำการกดให้เป็นเม็ดหยาบๆ หรือที่เรียกว่า Slug โดยใช้เครื่อง Heavy-duty Rotary Tablet Press จากนั้น Slug จะแตกออกเป็น Particle ของแกรนูลในขั้นตอน Grinding ซึ่งมักจะทำโดยการนำไปผ่าน Oscillation Granulator ขั้นตอนทั้งหมดของวิธีการนี้ จะประกอบไปด้วยการผสมผงแห้ง (Mixing of the powders) การกดให้เป็นเม็ด (Compressing หรือ Slugging) และ Grinding (Slug Reduction หรือ Granulation) ซึ่งจะไม่มีการผสม binder ที่เปียก หรือ ของเหลวในขั้นตอนใดๆ

3.3. Fusion Method

วิธีการทำแกรนูลในปัจจุบันที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือ วิธี Fusion Method ในวิธีนี้ ขั้นตอน Compressing (Slugging) ในวิธี Dry Granulation จะถูกตัดทิ้งไป แต่จะแทนที่ด้วย การนำผงที่ผสมกันแล้วไปให้ความร้อนในเตาอบหรือวิธีอื่นๆที่เหมาะสมในการให้ความร้อน ประโยชน์ที่จะได้รับจากวิธีนี้คือ วิธีนี้จะใช้โมเลกุลของน้ำที่อยู่ในรูป complex กับโมเลกุลของ Citric Acid มาเป็น Granulation หรือ Binding Agent โดยก่อนที่จะผสมผงด้วยกันนั้น เกล็ดของ Citric Acid ต้องผ่านการนำไปทำให้เป็นผงก่อน จากนั้นจึงนำไปผสมกับผงอื่นๆ (ที่ผ่านแร่งขนาด 60 mesh มาแล้ว) ทั้งนี้เพื่อให้แน่ใจว่าผงทั้งหมดผสมเข้ากันอย่างทั่วถึง แร่งและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในการผสมควรจะทำจากสแตนเลส หรือวัสดุอื่นที่ทนต่อการกัดกร่อนของกรดได้ ซึ่งในทางปฏิบัติแล้ว ขั้นตอนนี้จะใช้เวลาน้อยมาก และควรจะทำในสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นในอากาศต่ำเพื่อหลีกเลี่ยงการดูดซับน้ำที่อยู่ในอากาศโดยสารเคมี และทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ไม่ต้องการก่อนกำหนด หลังจากผสมผงเสร็จเรียบร้อยแล้ว จะทำผงที่ผสมกันแล้วไปไว้บนจานแล้ว หรือ ภาชนะที่เหมาะสมที่อยู่ในเตาอบที่ได้ตั้งอุณหภูมิไว้ก่อนแล้วที่ 93°-104° C โดยในขณะที่ให้ความร้อนอยู่นั้น ผงที่ผสมจะมีลักษณะเปลี่ยนไป

ความร้อนทำให้เกิดการปลดปล่อยของน้ำผลึกจาก Citric Acid จากนั้น น้ำที่ถูกปลดปล่อยออกมานี้จะไปละลายผงส่วนหนึ่งและทำให้เกิดการเริ่มของปฏิกิริยาเคมี และอาจทำให้มีการปลดปล่อย CO_2 ตามมาด้วยเล็กน้อย ซึ่งจะทำให้ก้อนสารกลายรูปร่างเป็นอะไรที่คล้ายๆ ฟองน้ำ และเมื่อถึงเวลาอันสมควร ให้นำก้อนสารนี้ออกจากเตาอบ และนำไปบดผ่านแร่งที่ทนการกัดกร่อนของกรดได้เพื่อทำให้ได้เป็นแกรนูลในขนาดที่ต้องการ แร่งเบอร์ 4 อาจจะใช้ในการผลิตแกรนูลที่มีขนาดใหญ่ ในขณะที่ แร่งเบอร์ 8 สามารถใช้ในการผลิตแกรนูลขนาดเล็ก เมื่อสารทั้งหมดได้ผ่านแร่งแล้ว แกรนูลที่ได้ต้องนำไปทำให้แห้งทันทีที่อุณหภูมิไม่เกิน 54° C และนำไปเก็บในภาชนะที่ปิดสนิททันทีหลังจากอบเสร็จ

ชา (Tea)

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Camellia sinensis* (L.) Kentze

ชื่อพ้อง: Thea Sinensis Linn.

ชื่ออื่นๆ: เมี่ยง Tea

ชื่อวงศ์: Theaceae

1. **ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** (9)

ไม้พุ่ม ใบเรียงติดสลับ ใบมีลักษณะหนา เหนียว รูปไข่ เห็นเส้นใบได้ชัดเจน ดอกคล้ายดอกสารภี มีขนาดใหญ่ มีขาวและมีกลิ่นหอม ผลมีลักษณะเป็นกล่อง เมล็ดกลมและมีขนาดใหญ่ ในผลหนึ่งจะมีเมล็ด 1-3 เมล็ด

2. **สรรพคุณ** (9)

ใบ กระตุ้นให้หายเหนื่อย ไม่ง่วงนอน ฝาดสมานอาการท้องร่วง พอกแผลไฟไหม้ บำรุงหัวใจ แก้กระหายน้ำ แก้ปวดเมื่อย แก้ร้อนใน แก้หืด รักษาโรคกลากเกลื้อน แก้ปากเปื่อย บำรุงประสาท แก้ตกโลหิต แก้บวม แก้เน่าเปื่อย แก้พยาธิ ชะล้างบาดแผล สมานแผล

กิ่ง แก้หืด สมานแผล แก้ยาพิษอันตราย

กากใบชา พอกแผลถูกไฟ น้ำร้อนลวก

น้ำชา แก้ตาอักเสบ เนื่องจากโดนลมหรือแดด

3. **สารเคมี** (9)

acetoin; acetophenone, 3-4-dimethoxy; allantoin; aniline; benzoxazole; brassicasterol; brassinolide; caffeine; camellia polysaccharide; camellia sinensis polysaccharide; (+)-catechin; (-)-catechin; (α)-damascenone; (β)-damascone; eugenol; fanesol; gallic acid; gallocatechin; (-)-gallocatechin gallate; kaempferol; lauric acid; linalool; quercetin; (-)-quinic acid; quinoline, 2-4 dimethyl; stearic acid; stigmasterol; tannic acid; tannin; teanine; teasaponin; urea

4. **ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา** (9)

กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ยับยั้งความรู้สึกไม่สบายเมื่อขึ้นที่สูง กระตุ้นให้ตื่นตัว แก้อาการซึมเศร้า ยับยั้งการเกิดมะเร็ง ยับยั้ง DNA methylation ยับยั้งการสร้าง DNA กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ต้านไวรัส ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านยีสต์ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ยับยั้งออกซิเดชัน ยับยั้ง lipid peroxidation จับอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ยับยั้งพรอสตาแกลนดิน แก้แพ้ ป้องกันฟันผุ กระตุ้นการหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร ลดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ลดไขมันในเส้นเลือด ต้านการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง

5. **องค์ประกอบหลักในชาเขียว** (10)

องค์ประกอบหลักในชาเขียวจะแตกต่างจากในชาดำ โดยชาเขียวส่วนใหญ่จะประกอบด้วย simple catechins ซึ่งเป็นสารกลุ่ม polyphenol ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 450 Daltons ขณะที่ชาดำจะประกอบด้วย catechins ที่ oxidized หรือ condensed จากกระบวนการหมัก ได้แก่ theaflavins (น้ำหนักโมเลกุล 500-1000 Daltons), thearubigins (น้ำหนักโมเลกุล

มากกว่า 1000 Daltons) อย่างไรก็ตาม ชาดำยังคงมี simple catechins อยู่บ้าง ได้แก่ epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin gallate (EGCG) นอกจากนี้ยังมีชาอีกหนึ่งชนิด คือ ชาอูลอง ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของ monomeric และ oligomeric catechins

ในชาเขียว 1 ถ้วยจะมี catechins อยู่ 0.5-1 g/L ส่วนชาดำจะมี catechins อยู่เพียง 1 ใน 3 โดยสารที่มีฤทธิ์ทางจุลชีววิทยานั้นได้แก่ catechins และ theaflavins

เป็นที่เข้าใจกันอย่างกว้างขวางว่าในชาประกอบด้วย tannins แต่ถือเป็นความเข้าใจที่ผิด เนื่องจากtannins เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลสูง (มากกว่า 1500 Daltons) มีรสขมและเป็นพิษ ซึ่งปกติพบในเปลือกไม้ แต่จะไม่พบในเครื่องดื่มที่ทำจากชา

6. กลไกในการต้านการเกิดฟันผุของชา (10)

มีรายงานเกี่ยวกับสารสำคัญที่มีในชาว่ามีฤทธิ์รบกวนกระบวนการต่างๆในการก่อฟันผุอย่างจำเพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์โดยตรงในการฆ่าเชื้อ *S. mutans*

6.1. <u>คุณสมบัติในการต้านเชื้อกลุ่ม streptococcal</u>

มีหลายรายงานที่บ่งบอกถึงฤทธิ์ในการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อ *S. mutans* หรือ *S. sobrinus* ของสารสกัดจากชาเขียว ชาดำ รวมถึง catechins ที่สกัดออกมาได้ด้วย ข้อมูลเรื่องฤทธิ์ของ catechins ยังคงแปรปรวนอยู่ โดย Muroi และ Kubo (11) พบว่าที่ความเข้มข้น 500 mg/L นั้นไม่มีฤทธิ์แต่อย่างใด แต่มีรายงานอื่นที่บ่งบอกความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อดังกล่าวอยู่ที่ 50-500 mg/L

Kubo และคณะ (12) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ flavour compound 10 ชนิดในชาเขียว ซึ่งเป็นสาร volatile กลุ่ม terpene หรือ terpene-like และพบว่าสารบางตัวมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ อย่างไรก็ตามพบว่าค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อของสารเหล่านี้มากเกินกว่าที่จะพบได้ในเครื่องดื่มชาทั่วไป

6.2. <u>ยับยั้งกระบวนการยึดจับของเชื้อแบคทีเรีย</u>

Otake และคณะ (13) แสดงให้เห็นว่าส่วนผสมของ simple catechins ที่สกัดได้จากชาเขียว (ส่วนใหญ่ประกอบด้วย EGCG, ECG, epimer ของ gallocatechin, EC, EGC) ที่ความเข้มข้น 100 mg/L สามารถยับยั้งการยึดจับของเชื้อ *S. mutans* กับ saliva-coated hydroxyapatite

Matsumoto และคณะ (14) รายงานว่าทั้งสารประกอบน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำที่สกัดได้จากชาอูลองจะทำหน้าที่จับกับ bacterial surface protein ทำให้ลดความเป็น hydrophobicity มีผลเร่งให้เกิด cellular aggregation

6.3. ยับยั้ง glucosyl transferase

มีรายงานหลายฉบับที่พิสูจน์ว่าการทำงานของเอนไซม์ glucosyl transferase ในเชื้อ *S. mutans* และ *S. sobrinus* ถูกยับยั้งโดย catechins ทั้ง Otake และคณะ (13) รวมทั้ง Hattori และคณะ (15) ต่างค้นพบว่า ECGC และ ECG มีฤทธิ์มากกว่า catechins ตัวอื่น นอกจากนี้มีรายงานว่ามีพืชชนิดอื่นที่มีส่วนประกอบของสาร polyphenols ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่ากลุ่ม simple catechins ก็สามารถยับยั้งเอนไซม์ glucosyl transferase ได้เช่นกัน ได้แก่ oligomeric catechins จากชาอูลอง polyphenol จากฮอปป์ รวมทั้ง gallotannins และ procyanidins จาก betel nuts

6.4. ยับยั้งเอนไซม์ amylase ในน้ำลายและในแบคทีเรีย

Kashket และ Paolino (16) พบว่าเครื่องดื่มชาสามารถยับยั้ง amylase ในน้ำลาย ภายใต้สภาวะขณะและหลังจากดื่มเครื่องดื่มชาไม่นาน นอกจากนั้นในปัจจุบัน Zhang และ Kashket ยังพบว่าสามารถยับยั้ง amylase ในเชื้อ *S. mutans* ได้อีกด้วย โดยในชาดำจะมีฤทธิ์ในการยับยั้ง amylase ทั้ง 2 ชนิดมากกว่า คาดว่าน่าจะเป็นผลจากปริมาณ polyphenol ที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่สูงกว่า ซึ่งสรุปนี้สอดคล้องกับผลของ Hara และ Honda (17) ที่พบว่าไม่เพียงแค่ simple catechins เท่านั้นแต่ยังรวมถึง theaflavins ด้วยที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ amylase ในน้ำลายได้ มีรายงานของ Zhang และ Kashket (18) พิสูจน์ว่าปริมาณ fluoride ที่มีในเครื่องดื่มชาไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ amylase

เชื้อแบคทีเรียในช่องปาก (Oral Bacteria)

ปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพของฟัน เช่น ฟันผุและโรคของช่องปากเป็นปัญหาสาธารณสุขของประชากรที่สำคัญอย่างยิ่ง ฟันผุมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียที่มีอยู่ประจำในช่องปาก และมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน จากการที่เชื้อเหล่านี้มีความสามารถผลิตกรด streptococcus เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติดังกล่าว และเชื่อว่าเป็นตัวทำให้เกิดฟันผุที่สำคัญ จะเห็นได้จากการทดลองของ Orland (19) ซึ่งได้นำเอาเชื้อ streptococcus ที่พบในช่องปากของคน ไปใส่ในปากหนูที่ไม่มีเชื้อ (Germfree Rat) ปรากฏว่าสัตว์ทดลองเหล่านั้นมีฟันผุเกิดขึ้น โดยเฉพาะ *Streptococcus mutans*

เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเฉพาะและคุณสมบัติเด่นบางอย่างที่ไม่พบในแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ซึ่งในปัจจุบันเมื่อกล่าวถึงสาเหตุของฟันผุ คนส่วนมากจะนึกถึง *S. mutans* (20) แบคทีเรียตัวนี้จึงถูกนำมาทดลอง และศึกษาในแง่มุมต่างๆ มากมาย

S. mutans (20) ทำให้เกิดฟันผุได้จากความสามารถยึดเกาะบนผิวหน้าฟันที่เรียบ กล่าวคือในขั้นแรกเกิดการยึดเกาะกันระหว่างสาร glucoprotein ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในน้ำลาย และกระจายอยู่ในแผ่นคราบฟัน (Acquired pellicle) glucoprotein จะไปจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ของ *S. mutans* ขั้นที่ 2 เกิดจากการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์ต่อเซลล์โดยมีสาร glucan เป็นสื่อช่วยในการยึดเกาะ glucan เป็นสารที่เกิดขึ้นเนื่องจากการรวมตัวกันของน้ำตาลกลูโคสหลายๆ โมเลกุล และมีคุณสมบัติเป็นเมือกเหนียวๆ ไม่ละลายน้ำ และที่บริเวณผนังของเซลล์ของ *S. mutans* จะมีที่สำหรับให้ glucan ยึดเกาะ (glucan receptor) นอกจากนี้ยังมีสารอย่างอื่นอีกที่ช่วยในการยึดเกาะ เช่น glucosyltransferase (GTF) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์ glucan ดังสมการ

$$\text{n sucrose} \xrightarrow{\text{glucosyltransferase}} \underbrace{(\text{glucose})_n}_{\text{glucan}} + \text{n fructose}$$

ในขั้นตอนนี้จะทำให้มีจำนวนแบคทีเรียมาสะสมกันอยู่อย่างมากมาย และทับถมกันมากเข้าจนกลายเป็นแผ่นคราบแบคทีเรียที่แน่นหนา (19)

เมื่อตรวจแผ่นคราบแบคทีเรียที่เกาะอยู่บนตัวฟันที่มีรอยผุ จะพบเชื้อ *S. mutans* เป็นจำนวนมากมาย บริเวณอื่นที่ไม่มีรอยผุก็ตรวจพบได้เหมือนกัน แต่บริเวณที่มีรอยผุจะพบได้มากกว่า และในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสอยู่ด้วยจะพบว่ามีจำนวนเชื้อนี้เพิ่มขึ้นอย่างมากมาย

S. mutans นำน้ำตาลซูโครสไปใช้สร้างสาร extracellutar polysaccharide ได้หลายชนิด โดยการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวมันเอง สารดังกล่าวได้แก่ glucan ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียยึดเกาะกันได้ดี นอกจากนี้ยังมี fructan หรือ levan ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ จะแตกตัวออกเป็นโมเลกุลเล็กๆ และถูกแบคทีเรียนำไปใช้เป็นสารอาหารต่อไปได้

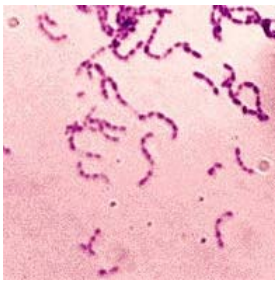
S. mutans สามารถนำน้ำตาลซูโครสไปใช้ได้อีกทางหนึ่ง คือเมื่อซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปแล้วจะถูกนำไปเผาผลาญให้กลายเป็นพลังงาน ซึ่งจะได้ผลิตผลออกมาเป็นกรด กรดที่ได้มีหลายชนิดด้วยกันทั้งนี้ขึ้นกับสภาวะแวดล้อม กล่าวคือถ้ามีกลูโคสมากเกินพอผลผลิตที่ได้จากการนำไป

หมัก (fermentation) จะได้กรดแลคติค แต่ถ้ามีกลูโคสจำนวนจำกัด ผลิตผลที่ได้จะเป็น กรดฟอร์มิค กรดอะซิติค และอีทานอล

กรดแลคติคที่ผลิตออกมาได้นี้จะมีความรุนแรงมากกว่ากรดอะซิติคในระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยกรดที่ได้นี้จะไปละลายแร่ธาตุซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อฟัน ฟอสฟอรัสที่ละลายออกมากก็จะถูกนำไปใช้ในขบวนการ phosphorylation เกิดเป็นกรดออกมาอีก หมุนเวียนอยู่เช่นนี้เรื่อยไป จนเนื้อเยื่อฟันถูกทำลายกลายเป็นแผลที่กว้างขึ้นมากทุกที นั่นคือสภาพของฟันผุ นอกจากนี้กรดแลคติคยังเกิดได้จากปฏิกิริยาการหมักของฟรุคโทส ที่ได้จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์ glucan จากซูโครสดังกล่าวมาแล้ว กับ streptococcus และแบคทีเรียอื่นที่มีในช่องปาก (19)

Streptococcus ที่พบในช่องปากเป็นเชื้อแกรมบวกแบคทีเรีย ชนิด facultative anaerobic bacteria พบได้ประมาณครึ่งหนึ่งของพวก viable count จากน้ำลาย และโคนลิ้น และประมาณ 1 ใน 4 ของ viable count จากโคนลิ้น

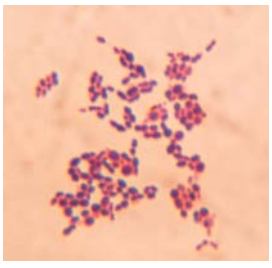
Oral streptococcus ส่วนใหญ่ประมาณ 90% ประกอบด้วย 5 species คือ



1. ***Streptococcus mutans*** (รูปที่ 1)

จากการทดลองพบว่าทำให้เกิดฟันผุได้ทั้งในสัตว์ทดลองและในคน โดยสามารถสร้าง Soluble และ insoluble glucan polymer จาก sucrose ปัจจุบันแบ่งเป็น 8 serotype คือ a-h

รูปที่ 1 *Streptococcus Mutans* (21)



2. ***Streptococcus sanguinis*** (รูปที่ 2)

สามารถสร้าง extracellular polysaccharide ได้ แต่ไม่สามารถสร้างคราบแบคทีเรีย (plaque) ได้ในสัตว์ทดลอง และมักพบเชื้อนี้เกี่ยวข้องกับคนไข้ subacute bacterial endocarditis

รูปที่ 2 *Streptococcus Sanguinis*

3. ***Streptococcus salivarius***

สามารถสร้าง extracellular fructan (levan) ได้ พบประมาณครึ่งหนึ่งของ viable count จากน้ำลายหรือโคนลิ้น แต่พบน้อยมากใน plaque หรือ gingival sulcus

4. *Streptococcus mitis*

เป็น Heterogeneous group คือไม่มีลักษณะเด่นในการ identify ซึ่งจะรวมทั้ง alpha-hemolytic streptococcus ด้วย

5. *Streptococcus milleri*

พบมากใน Gingival crevice และเคยพบในแบคทีเรียที่เกิดจาก dental otegin โดยปกติจะ resist ต่อ sulfonamide ซึ่งสามารถใช้เป็น selective isolation จาก oral streptococcus

ตารางที่ 1 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิด Plaque, Dental caries, Gingivitis และ Periodontitis ที่พบมาก (21)

BACTERIUM	Plaque	Dental caries	Gingivitis	Periodontitis
Streptococcus sanguis	++	++	++	+
S. mutans	++	++	0	0
S. salivarius	0	0	0	0
Actinomyces viscosis	+	+	++	+
A. israelii	+	+	++	++
Lactobacillus sp.	+	+	0	0
Propionibacterium acnes	0	+	+	++
Bacteroides sp.	0	0	+	++
Selenomonas sputagena	0	0	+	++
Large spirochetes	0	0	0	++

++ = Frequently encountered in high proportions

+ = Frequently encountered in low to moderate proportions

0 = Sometimes encountered in low proportions or not detectable.

คุณสมบัติของสารที่ใช้ในตำรับ

1. Citric acid anhydrous (22)

1.1. สูตรโมเลกุล

$C_6H_8O_7$

1.2.น้ำหนักโมเลกุล

192.12

1.3.ลักษณะทางกายภาพ

ผงผลึกใส หรือผลึกโปร่งแสง หรือผลึกขาว ไม่มีกลิ่น มีรสกรดแรง โครงสร้างผลึกเป็น Orthorhombic

1.4.หน้าที่

Acidifying agent, Antioxidant, Buffering agent, Chelating agent, Flavor enhancer

1.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้เป็นส่วนประกอบในเภสัชตำรับอย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่ใช้เพื่อปรับ pH มีการใช้ citric acid anhydrous ในการเตรียมยาเม็ดผงฟู่

1.6.ความคงตัว

เกิดการเยิ้มเหลวเมื่อตั้งทิ้งไว้

1.7.การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Airtight container ในที่เย็นและแห้ง

1.8.ความไม่เข้ากัน

ไม่เข้ากันกับ potassium tartrate, alkali and alkali earth carbonates & bicarbonate, acetates, sulfides, oxidizing agents, bases, reducing agents และ nitrates เมื่อผสมกับโลหะ nitrate จะเกิดปฏิกิริยาระเบิดรุนแรง ในการเก็บรักษาตำรับน้ำเชื่อมที่มี citric acid อาจพบ sucrose ตกผลึกได้

2. Tartaric acid (22)

2.1.สูตรโมเลกุล

$C_4H_6O_6$

2.2.น้ำหนักโมเลกุล

150.09

2.3.ลักษณะทางกายภาพ

ผลึก Monoclinic ไม่มีสี หรือผงผลึกสีขาว-เกือบขาว ไม่มีกลิ่น มีรสเปรี้ยวแสบลิ้น

2.4.หน้าที่

Acidifying agent, Acidulant, Flavor enhancer, Sequestering agent

2.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้เป็นสารให้รสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ลูกกวาด อาหาร และเภสัชกรรม อาจใช้เป็น Acidifying agent, sequestering agent และใช้เสริมฤทธิ์ antioxidant มีการใช้ tartaric acid ร่วมกับ sodium bicarbonate ในการเตรียมตำรับแกรนูลฟู่, ผงฟู่ และเม็ดฟู่

2.6.ความคงตัว

มีความคงตัวดี

2.7.การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Well-closed container ในที่เย็นและแห้ง

2.8.ความไม่เข้ากัน

ไม่เข้ากันกับธาตุเงินและทำปฏิกิริยากับ Metal carbonate และ bicarbonate (เกิดมากในการเตรียมตำรับฟู่)

3. Sodium bicarbonate (22)

3.1.สูตรโมเลกุล

$NaHCO_3$

3.2.น้ำหนักโมเลกุล

84.01

3.3.ลักษณะทางกายภาพ

ผงผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสเค็มและฝาดเล็กน้อย โครงสร้างผลึกเป็น Monoclinic prisms sodium bicarbonate ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดแบ่ง grade จากขนาดอนุภาคที่ต่างกัน (ตั้งแต่ระดับผงละเอียดจนถึงระดับแกรนูลที่มีการไหลอย่างอิสระ)

3.4.หน้าที่

Alkalizing agent, Therapeutic agent

3.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

โดยทั่วไปจะนำไปใช้ในเภสัชตำรับเม็ดฟู่หรือแกรนูลฟู่เพื่อเป็นต้นกำเนิดของ Carbon dioxide และใช้เป็นตัวปรับ pH ในขั้นตอนการเตรียมยา นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยาเม็ดที่มีตัวยาเป็นกรดอ่อน เพื่อเพิ่มอัตราเร็วในการละลายและลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร

ในอดีตมีรายงานการใช้ sodium bicarbonate เป็น Buffering agent สำหรับยา erythromycin, lidocaine, local anesthetic solutions และกลุ่มอาหารที่ให้ทางหลอดเลือด ใน

การเตรียมอาหารทางสายบางกรณี จะใช้ sodium bicarbonate เป็นสารที่ให้เกลือNa ยังมีการใช้ sodium bicarbonate ในยาสีฟัน และเป็น freeze-drying stabilizer

ในทางการรักษา Sodium bicarbonate จะถูกใช้เป็นยาลดกรด และใช้เป็นตัวที่ให้ bicarbonate anion ใน dialysis fluids รวมทั้งในการรักษาภาวะ metabolic acidosis ด้วย นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนประกอบในผงน้ำตาลเกลือแร่

3.6. ความคงตัว

เมื่อทำให้ร้อนจนถึงอุณหภูมิ 50° C sodium bicarbonate จะเริ่มเปลี่ยนเป็น carbon dioxide, sodium carbonate และ น้ำ ส่วนในการให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 250° - 300° C ในระยะเวลาสั้นๆ sodium bicarbonate จะเปลี่ยนแปลงเป็น anhydrous sodium carbonate อย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม กระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับเวลาที่ใช้และอุณหภูมิเป็นสำคัญ โดยจะมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงอยู่ที่ 90 % ในเวลา 75 นาที ที่อุณหภูมิ 93° C

Sodium bicarbonate จะคงตัวที่ค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 76 % ที่อุณหภูมิ 25° C และต่ำกว่า 48% ที่อุณหภูมิ 40° C

3.7. การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Well-closed container ในที่เย็นและแห้ง

3.8. ความไม่เข้ากัน

Sodium bicarbonate ทำปฏิกิริยากับ กรด เกลือของกรด และ เกลือของด่าง ที่สามารถเปลี่ยนเป็น CO_2 ได้

4. Sodium Lauryl Sulfate (22)

4.1. สูตรโมเลกุล

$C_{12}H_{25}NaO_4S$

4.2. น้ำหนักโมเลกุล

288.38

4.3. ลักษณะทางกายภาพ

ประกอบด้วยเกล็ดผลึกสีขาวหรือสีนวล-เหลือง หรือเป็นผง รสขมคล้ายสบู่ มีกลิ่นอ่อนๆ ของไขมัน

4.4. หน้าที่

Anionic surfactant, Detergent, Emulsifying agent, Skin penetrant, Tablet and capsule lubricant, Wetting agent

4.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้อย่างแพร่หลายในการเตรียมเภสัชตำรับและเครื่องสำอาง และเป็น Detergent และ wetting agent ที่มีประสิทธิภาพทั้งในสภาพกรดและด่าง ในอดีตมีการนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ electrophoretic และยังใช้ในการเพิ่มความ selectivity ของ Micellar electrokinetic chromatography (MEKC)

4.6.ความคงตัว

มีความคงตัวภายใต้สภาวะปกติ อย่างไรก็ตาม เมื่ออยู่ในสถานะสารละลายในสภาวะเร่ง (เช่น pH 2.5 หรือต่ำกว่านั้น) จะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ได้เป็น lauryl alcohol และ sodium bisulfate

4.7.การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Well-closed container ในที่เย็นและแห้ง หลีกเลี่ยงจาก oxidizing agents ที่แรง

4.8.ความไม่เข้ากัน

SLS ทำปฏิกิริยากับ cationic surfactants ทำให้สูญเสียคุณสมบัติ แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นที่ต่ำมากก็ตาม SLS แตกต่างจากสบู่ทั่วไปตรงที่ SLS สามารถเข้ากันได้กับ dilute acids และ calcium &magnesium ions

สารละลาย SLS (pH 9.5-10.0) มีความสามารถกัดกร่อนอย่างอ่อนๆกับพวกเหล็กอ่อน ทองแดง ทองเหลือง ทองสัมฤทธิ์ และ aluminum นอกจากนี้ SLS ยังไม่เข้ากันกับเกลือ alkaloid บางตัว และ เกิดการตกตะกอนกับเกลือ lead และเกลือ potassium

5. Thymol (23)

5.1.คำนิยาม

Thymol คือ 5-methyl-2-(methylethyl) phenol

5.2.ลักษณะทางกายภาพ

ผลึกไม่มีสี ละลายน้ำได้น้อยมาก ละลายใน Alcohol ได้ดี ละลายใน essential oils และ fatty oils ได้อย่างไม่จำกัด ละลายใน glycerol ได้น้อย ละลายได้ในสารละลายด่าง alkali เจือจาง

5.3.การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Airtight container หลีกเลี่ยงจากแสง

6. Menthol (22)

6.1. สูตรโมเลกุล

$C_{10}H_{20}O$

6.2. น้ำหนักโมเลกุล

156.27

6.3. ลักษณะทางกายภาพ

Racemic menthol เป็นส่วนผสมในอัตราส่วนเท่ากันของ (1R, 2S, 5R) - และ (1S, 2R, 5S) – isomers ของ menthol ลักษณะเป็นผงที่มีการไหลอิสระ หรือเป็นผงผลึกเกาะรวมกัน หรือเป็นผลึกวาวรูปทรง prism หรือ acicular ไม่มีสี มีกลิ่นและรสเฉพาะตัวรุนแรง

6.4. หน้าที่

Flavoring agent, Therapeutic agent

6.5. การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้อย่างกว้างขวางในทางเภสัชกรรม อุตสาหกรรมผลิตลูกกวาด ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่น l-menthol ซึ่งพบในธรรมชาติจะให้ความรู้สึกเย็นและสดชื่นดังที่พบในผลิตภัณฑ์ใช้ทาภายนอกต่างๆ ส่วน d-menthol ไม่มีผลดังกล่าว ขณะที่ racemic menthol นั้นมีผลตาม l-menthol ที่มีอยู่

6.6. ความคงตัว

มีรายงานว่าตำรับที่มี Menthol 1%w/w ใน aqueous cream มีความคงตัวเป็นเวลามากกว่า 18 เดือนเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง

6.7. การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Well-closed container ที่อุณหภูมิไม่เกิน 25° C เนื่องจาก menthol ระเหิดง่าย

6.8. ความไม่เข้ากัน

ไม่เข้ากันกับ butylchloral hydrate, camphor, chloral hydrate, chromium trioxide, β-naphthol, phenol, potassium permanganate, pyrogallol, resorcinol และ thymol

7. Sorbitol (22)

7.1. สูตรโมเลกุล

$C_6H_{14}O_6$

7.2.น้ำหนักโมเลกุล

182.17

7.3.ลักษณะทางกายภาพ

sorbitol คือ D-glucitol ซึ่งเป็น hexahydric alcohol ที่สัมพันธ์กับ mannose และเป็น isomer กับ mannitol ลักษณะเป็นผงผลึกสีขาวหรือเกือบไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ดูดความชื้น มีรสชาติที่เย็น หวานน่าพึงพอใจ ความหวานเป็น 50 – 60 % ของ sucrose sorbitol มีหลาย grade และหลาย polymorphic forms เช่น granules, flake, pellets

7.4.หน้าที่

Humectant, Plasticiczer, Sweetening agent, Tablet and capsule diluent

7.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้อย่างแพร่หลายในการเป็นส่วนประกอบหนึ่งในเภสัชตำรับ และยังมีการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางอีกด้วย

มีการใช้ Sorbitol เป็น diluent ในตำรับยาเม็ดที่เตรียมโดยวิธี wet granulation และ direct compression อีกทั้งยังนิยมใช้ในตำรับยาเม็ดเคี้ยวจากคุณสมบัติของสารที่ให้รสหวานและให้ความรู้สึกเย็น ในตำรับยาเม็ดแคปซูลมีการใช้ sorbitol เป็น plasticizer สำหรับ gelatin ในตำรับยาน้ำ sorbitol ถูกนำมาใช้เป็น vehicle ในตำรับยาน้ำปราศจากน้ำตาล และใช้เป็น stabilizer ของยา, วิตามิน, และยาแขวนตะกอนลดกรด ส่วนในตำรับยาน้ำ syrup นั้น sorbitol มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดการตกผลึกน้ำตาลรอบฝาขวด นอกจากนี้ยังมีการใช้ sorbitol ในตำรับยาฉีด, ยาทาภายนอก และยังเป็นยาระบายแบบ osmotic laxative

ในงานวิเคราะห์มีการใช้ sorbitol เป็น marker ในการประเมิน liver blood flow

7.6.ความคงตัว

Sorbitol เป็นสารที่ inert และเข้ากันได้ดีกับสารช่วยหลายชนิด มีความคงตัวทั้งในอากาศที่ภาวะปราศจากตัวเร่งปฏิกิริยา และในสารละลายเจือจางกรดและด่างที่เย็น sorbitol จะไม่เกิดการสลายตัวหรือมีสีคล้ำขึ้นที่อุณหภูมิสูงหรือในสภาวะที่มี amines และ sorbitol ไม่ติดไฟ ไม่กัดกร่อน และไม่ระเหย

แม้ว่า sorbitol จะมีความสามารถต่อต้านปฏิกิริยา fermentation ของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด แต่ควรมีการเติม preservative ลงในสารละลาย sorbitol ด้วย

7.7.การเก็บรักษา

ในรูปสารละลายควรเก็บในภาชนะแก้ว พลาสติก อลูมิเนียม สแตนเลส สำหรับสารละลายสำหรับฉีดอาจทำให้ปราศจากเชื้อได้โดยวิธี autoclave

ในรูปผงจะเยิ้มเหลวได้ง่าย ควรเก็บใน airtight container ในที่เย็นและแห้ง

7.8.ความไม่เข้ากัน

Sorbitol จะเกิดเป็น water-soluble chelates กับ divalent และ trilavent metal ions หลายตัว ในสภาวะกรดและด่างเข้มข้น การเติม polyethylene glycol เหลวลงในสารละลาย sorbitol และคนอย่างแรง จะทำให้เกิด water soluble gel คล้ายขี้ผึ้งซึ่งมีจุดหลอมเหลว 35° - 40° C สารละลาย sorbitol สามารถทำปฏิกิริยากับ iron oxide ทำให้เปลี่ยนสี นอกจากนี้ sorbitol ยังเพิ่ม degradation rate ของ penicillins ในสารละลายน้ำที่เป็นกลาง

8. Xylitol (22)

8.1.สูตรโมเลกุล

$C_5H_{12}O_5$

8.2.น้ำหนักโมเลกุล

152.15

8.3.ลักษณะทางกายภาพ

Xylitol มีลักษณะเป็นแกรนูลสีขาว มี diameter ประมาณ 0.4-0.6 mm ไม่มีกลิ่น มีรสหวานและให้ความรู้สึกเย็น Xylitol ที่มีขายจะมีหลายแบบ ทั้งแบบเป็นผงและแบบเป็นแกรนูล

8.4.หน้าที่

Antimicrobial preservative, Base for medicated confectionery, Coating agent, Emollient, Humectant, Sweetening agent, Tablet and capsule diluent

8.5.การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

Xylitol ใช้เป็น non carcinogenic sweetening agent ในหลายตำรับ ได้แก่ ตำรับยาเม็ด ตำรับ Syrup และ ตำรับยาเม็ดเคลือบ และยังใช้อย่างแพร่หลาย ในการแทนที่ซูโครสในผลิตภัณฑ์อาหารและของหวาน Xylitol เริ่มมีการประยุกต์ใช้มากขึ้นในอุตสาหกรรมผลิตหมากฝรั่ง น้ำยาบ้วนปาก และ ยาสีฟัน ในการเป็นสารที่ใช้ลด dental plaque และป้องกันฟันผุ ซึ่งมีข้อแตกต่างกับซูโครสตรงที่ Xylitol ไม่เกิดปฏิกิริยา fermentation ที่จะทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์เป็นกรด ซึ่งจะก่อให้เกิดโรคฟันผุได้ Xylitol มีระดับความหวานเทียบเท่าซูโครส และมี cooling effect อีก

ด้วย Xylitol มีประสิทธิภาพสูงในการช่วยให้รสชาติของตำรับดีขึ้น และช่วยกลบรสขมที่มาจากสารสำคัญหรือสารช่วยในตำรับอีกด้วย

ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ Xylitol สามารถนำมาใช้เป็นสารใช้ความชุ่มชื้น ทำให้ผิวอ่อนนุ่ม แม้ว่าจะมีรายงานเกี่ยวกับผลของความคงตัว จากส่วนผสมของ Xylitol กับ preservative

แกรนูลของ Xylitol สามารถใช้เป็น diluent ในตำรับยาเม็ด รวมไปถึงพวกยาเม็ดเคี้ยวด้วย โดยจะให้ความหวานและความรู้สึกเย็นได้ สารละลาย Xylitol นำมาใช้ในการเคลือบฟิลม์เม็ดยา โดยใช้ที่ความเข้มข้นมากกว่า 65 % จะทำให้ตัวฟิลม์ที่ได้ค่อนข้างทนทาน และให้รสหวาน

ในการเตรียมยาน้ำ Xylitol ใช้เป็นสารให้ความหวาน รวมถึงใช้เป็น vehicle ในตำรับ sugar free ส่วนในตำรับยา Syrup จะช่วยลดการตกผลึกของซูโครสรอบฝาบรรจุภัณฑ์ Xylitol ยังมี water activity ที่ต่ำกว่า และมี osmotic pressure ที่สูงกว่าซูโครส จึงทำให้ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น นอกจากนั้น Xylitol ยังมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้ออย่างจำเพาะเจาะจง โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อ spoilage organism

ในทางการรักษา Xylitol ใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการให้อาหารทางหลอดเลือดดำ สำหรับผู้ป่วยบาดเจ็บสาหัส

8.6. <u>ความคงตัว</u>

Xylitol จะคงตัวเมื่อได้รับความร้อน แต่อาจเกิด hygroscopic ได้ การเกิด Caramelization สามารถเกิดได้เฉพาะเมื่อได้รับความร้อนหลายนาทีที่อุณหภูมิใกล้จุดหลอมละลาย Xylitol ในรูป Crystalline จะคงตัวอยู่อย่างน้อย 3 ปี ถ้าเก็บรักษาที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์น้อยกว่า 65% ที่อุณหภูมิ 25° C และจากการที่ microorganism ไม่สามารถเจริญเติบโตบน Xylitol ได้ ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จาก Xylitol จึงมักจะปลอดภัยจาก fermentation และ microbial spoilage

8.7. <u>การเก็บรักษา</u>

ควรเก็บใน Well-closed container ในที่เย็นและแห้ง

8.8. <u>ความไม่เข้ากัน</u>

Xylitol ไม่เข้ากันกับสารพวก oxidizing agents

9. Acesulfame-K (22)

9.1. สูตรโมเลกุล

$C_4H_4KNO_4S$

9.2. น้ำหนักโมเลกุล

201.24

9.3. ลักษณะทางกายภาพ

ผงผลึกใสไม่มีสี หรือผลึกขาว ไม่มีกลิ่น มีรสหวานจัด

9.4. หน้าที่

Sweetening agent

9.5. การประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม

ใช้เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในเครื่องสำอาง อาหาร เครื่องดื่ม เครื่องปรุง ยาเตรียมทั้งรูปแบบยาผง ยาเม็ด ยาน้ำ ยาสีฟัน

มีความหวานกว่าน้ำตาล Sucrose 180-200 เท่า

9.6. ความคงตัว

มีความคงตัวดี เมื่ออยู่ในรูปแบบ Bulk form ไม่พบการสลายตัวเป็นเวลาหลายปี เมื่ออยู่ในรูปแบบ aqueous solution (pH 3.0-3.5 ที่ 20° C) พบว่าความหวานไม่ลดลงหลังจากทำการสังเกตการณ์เป็นเวลามากกว่า 2 ปี ที่อุณหภูมิสูงมีความคงตัวดี แม้ว่าจะพบรายงานบางส่วนของการสลายตัวที่อุณหภูมิ 40° C การ sterilization และ pasteurization ไม่มีผลต่อเรื่องรสชาติของ Acesulfame potassium

9.7. การเก็บรักษา

ควรเก็บใน Well-close container ในที่เย็นและแห้ง

10. Peppermint oil (23)

10.1. คำนิยาม

เป็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำของส่วนที่อยู่บนผิวดินของ *Mentha pipreita* Linne

10.2. ลักษณะทางกายภาพ

ของเหลวไม่มีสี สีเหลืองอ่อน หรือสีเหลืองเขียว มีกลิ่นเฉพาะตัว มีรสหอมเย็น

10.3. ความสามารถในการละลาย 70% alcohol

1 Volume สามารถละลายใน 3 Volume ของ 70% alcohol

10.4. <u>การเก็บรักษา</u>

ควรเก็บใน Airtight container และหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับความร้อน

วัสดุและวิธีการวิจัย (Materials and Methods)

วัสดุในการวิจัย

1. **วัสดุสำหรับใช้ในการตั้งตำรับและประเมินลักษณะทั่วไปของผงแห้ง**
    1. Green Tea Extract (Batch NO.1, โครงการสารสกัดจากกากชาเขียวที่ผ่านกระบวนการผลิตชาเขียวพร้อมดื่ม)
    2. Citric Acid Anhydrous (Batch NO.2A144182M, Carlo Erba Reagent, Italy)
    3. Tartaric Acid (Batch NO.1E199191L, Carlo Erba Reagent, Italy)
    4. Sodium Bicarbonate (Batch NO.8H014079D, Carlo Erba Reagent, Italy)
    5. SLS (Batch NO.F0B061, APS Ajax Finechem Co.,ltd, Australia)
    6. Thymol (Batch NO.TC13/100, Germany)
    7. Menthol (Code NO.237545, S.Tong Chemical Co.,ltd, Thailand)
    8. Sorbitol (Code NO.85532, Fluka, Italy)
    9. Xylitol (Fluka, Italy)
    10. Acesulfame-K (Batch NO.0405039, Vitasweet Co.,ltd, China)
    11. Peppermint Oil (Code NO.PZ-9512, S.Tong Chemical Co.,ltd, Thailand)
    12. Ethanol
    13. Analytical Balance (Model TP2KS, serial NO.5377, OHAUS Corporation, U.S.A.)
    14. ช้อนเขา
    15. กระดาษชั่งยา
    16. Beaker 50 ml, 100 ml, 250 ml, 400 ml (Pyrex, U.S.A.)
    17. Cylinder 5 ml, 10 ml, 25 ml, 100 ml (Witeg, Germany)
    18. Stirring rod
    19. Dropper

20. Watch glass
21. โกร่ง และลูกโกร่ง Wedge wood
22. โกร่ง และลูกโกร่ง Porcelain
23. Stainless Spatula
24. แร่ง 12, 10 mesh (Fisher scientific company, U.S.A.)
25. ถาดอลูมิเนียม
26. Hot air oven (Model ED53/E2, serial NO.00-19729, Scientific promotion Co.,ltd, Thailand)
27. Desiccators
28. Funnel diameter 38 mm

2. วัสดุสำหรับใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ

1. เชื้อ *Streptococcus mutans* ATCC 25175T (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
2. เชื้อ *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย)
3. Chlorhexidine acetate (lot NO.A970289, Metha Group Trading Ltd. Part, Thailand)
4. Distilled Deionized Water
5. BHI Broth (lot NO.5070657, Becton,Dickinson and company, U.S.A.)
6. BHI Agar (lot NO.81124, Hispanlab, U.S.A.)
7. Bacteriological Agar (lot NO.D04-08, Alpha Biosciences,Inc., U.S.A.)
8. Crystal Violet
9. Iodine
10. Decolorizer (Alcohol + Acetone)
11. Safranin
12. Glass Slide
13. Microscope (Model CHS, serial NO.6C0060, Olympus optical Co.,ltd, Japan)

14. Test tube (Pyrex, U.S.A.)
15. Plate (Kimax, U.S.A.)
16. Inoculating Loop
17. ช้อนอลูมิเนียม
18. Micropipette (serial NO.HU18640,HS77500, Gibthai Co.,ltd, Thailand)
19. Vertex Mixer (Model G-560E, serial NO.2-114505, Scientific industries.Inc, U.S.A.)
20. Laminar Air Flow Hood (Model 1.2, serial NO.30302764, C.E.Co.,ltd, Denmark)
21. Autoclaves (Model MLS-3020, Sanyo, Japan)
22. UV Spectrometer (Model Novaspec II, serial NO.80-2094-37 E04, Pharmacia Biotech, Netherlands)
23. Incubator (Model 100-800, Memmert Co.,ltd, Germany)
24. Candle Jar

วิธีดำเนินการวิจัย

1. **ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก**

1.1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* และ *S. sanguinis*

นำเชื้อ *S. mutans* จาก stock มา streak ลงบน Petri dish ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar จำนวน 1 plate นำไป incubate ใน candle jar ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 37° C ปริมาณ CO_2 95 % เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้น นำเชื้อ *S. mutans* จาก BHI Agar มาเพาะใน BHI Broth จำนวน 1 หลอด นำไป incubate ภายใต้สภาวะเดียวกัน

สำหรับเชื้อ *S. sanguinis* ทำตามวิธีการเดียวกันกับการเตรียมเชื้อ *S. mutans*

1.2. การทดลองหาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* และ *S. sanguinis* โดยวิธี Agar Dilution

ก) ละลายสารสกัดชาเขียวน้ำหนัก 64 mg ใน distilled deionized water 1 ml

ข) เตรียม BHI Agar ในหลอดทดลองแบบมีฝาจุกเกลียวหลอดละ 1 ml จำนวน 10 หลอด นำไป autoclave ภายใต้อุณหภูมิ 121° C เป็นเวลา 15 นาที

ค) ในขณะที่ BHI Agar ในหลอดทดลองยังหลอมเหลวอยู่ ทำการไปเปตสารละลายสารสกัดชาเขียว 1 ml ลงใน BHI Agar ที่หลอมเหลว (หลอดที่ 1) แล้วเจือจางแบบ 2-fold dilution จำนวน 9 dilution (หลอดที่ 1-9) โดยใช้ chlorhexidine 0.1 mg/ml เป็น positive control และ distilled deionized water 1 ml เป็น negative control

ง) นำ BHI Agar ที่ยังหลอมเหลวอยู่ทั้ง 10 หลอดมาเอียงทิ้งไว้จน Agar แข็งตัวเพื่อทำ slant

จ) นำเชื้อ S. mutans จาก BHI Broth 1 loop มา streak ลงบน slant ทุกๆ หลอด

ฉ) นำทุกหลอดไป incubate ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 37° C ปริมาณ CO_2 95 % เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

ช) สำหรับการทดสอบเชื้อ S. sanguinis ให้ทำตามวิธีการ ก) – ฉ) เช่นเดียวกัน

ซ) บันทึกผลการทดลองเพื่ออ่านค่า Minimum Inhibition Concentration (MIC) ของสารสกัดชาเขียว

2. **เตรียมแกรนูลฟู่จากสารสกัดชาเขียว**

a) คำนวณปริมาณสารต่างๆ ที่ต้องการใช้ตามตำรับ ในอัตราส่วน Citric acid : Tartaric acid : Sodium Bicarbonate = 1 : 2 : 3.44 (โดยน้ำหนัก)

b) บดสารทุกชนิดที่ต้องการใช้ให้ละเอียดด้วยโกร่ง Wedgewood

c) ชั่งสารทุกชนิดตามที่คำนวณไว้ในข้อ a)ด้วยเครื่องชั่ง

d) สำหรับสารที่ไม่ละลายน้ำ ให้นำสารไปละลายใน 95% Ethanol ก่อน จากนั้นใช้การคำนวณจากน้ำหนักที่ต้องการใช้จริงเป็นปริมาตรที่ต้องใช้

e) บดผสมสารที่ชั่งให้เข้ากันด้วยวิธี Geometric Dilution โดยใช้โกร่ง Porcelain

f) ค่อยๆ หยดสารที่เป็นของเหลวลงไปทีละน้อย แล้วบดผสมทุกครั้ง

g) เติม binder ลงในโกร่ง พร้อมกับนวดให้เข้ากันจนได้ damp mass

h) นำ damp mass ไปผ่านแร่งขนาด 12 mesh จะได้แกรนูลเปียก

i) นำแกรนูลเปียกไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 38° – 40° C ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง

j) นำแกรนูลที่ผ่านการอบแล้ว ไปผ่านแร่งขนาด 10 mesh ได้เป็นแกรนูลแห้ง

3. **พัฒนาตำรับแกรนูลฟู่ที่เตรียมได้**

3.1. <u>การทดลองหาความเข้มข้นของ ethanol ที่ใช้เป็น binder</u>

ทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่าง ethanol ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 95%, 85% และ 75% เพื่อดูว่าที่ความเข้มข้นใดของ ethanol เป็น binder ที่เหมาะสม คือ ไม่ระเหยเร็วเกินไปจนไม่สามารถทำให้ผงเกาะกันเป็น damp mass และ ไม่มีน้ำมากเกินไปจนทำให้ตำรับไม่คงตัว ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของ ethanol ในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ

ตำรับที่	1	2	3
Citric acid anhydrous	3.11 g	3.11 g	3.11 g
Tartaric acid	6.22 g	6.22 g	6.22 g
Sodium Bicarbonate	10.67 g	10.67 g	10.67 g
% Ethanol	95 %	85 %	75 %

3.2.การทดลองหาความเข้มข้นของ Sodium Lauryl Sulfate ที่ใช้เป็น Surfactant

นำผลิตภัณฑ์ที่คัดเลือกมาจากข้อ 3.1 มาทำการทดสอบเปรียบเทียบระหว่าง SLS ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.5%, 0.1%, 0.05% และ 0.01% เพื่อดูความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SLS คือ ไม่มากเกินไปจนทำให้เกิดเป็นฟองถาวรหลังจากละลาย ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของ SLS ในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ

ตำรับที่	4	5	6	7
Citric acid anhydrous	3.09 g	3.10 g	3.10 g	3.105 g
Tartaric acid	6.18 g	6.20 g	6.21 g	6.211 g
Sodium bicarbonate	10.63 g	10.68 g	10.68 g	10.682 g
% Ethanol	75 %			
% SLS (w/w) (น้ำหนัก SLS)	0.5 % (0.1 g)	0.1 % (0.02 g)	0.05 % (0.01 g)	0.01 % (0.002 g)
น้ำหนักรวม	20 g			

3.3.การทดลองหาความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรส

นำผลิตภัณฑ์ที่คัดเลือกมาจากข้อ 3.2 มาทดลองเติมสารแต่งกลิ่นและรส ดังแสดงในตารางที่ 4

4. ประเมินคุณสมบัติทั่วไปของแกรนูลฟู่

4.1.การตรวจสอบลักษณะทางภายนอก

ตรวจสอบและประเมินลักษณะทางกายภาพโดยทั่วไปของผงแห้งสารสกัดที่เตรียมได้ด้วยประสาทสัมผัส (24)

4.2.การวัดการแตกตัวของผงแห้ง (Error! Bookmark not defined.)

ตรวจสอบการแตกตัวของผงแห้งในน้ำ โดย นำผงแกรนูลฟู่ 1 Dose เทลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำอุณหภูมิ 15° - 25° C ปริมาตร 200 ml เริ่มจับเวลาตั้งแต่เทผงแกรนูลฟู่ลงน้ำ จนกระทั่งผงแกรนูลฟู่ละลายหมดได้เป็นของเหลวปราศจาก particle ที่ไม่ละลาย ทำทั้งหมด 6 dose โดยแต่ละ dose ต้องใช้เวลาในการแตกตัวไม่เกิน 5 นาที

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรสในตำรับแกรนูลฟู่ที่จะใช้เปรียบเทียบ

ตำรับที่	8	9	10	11	12	13	14
Green tea extract	ตามค่า MIC (4 mg/ml)						
Citric acid anhydrous	qs.						
Tartaric acid	qs.						
Sodium Bicarbonate	qs.						
% Ethanol	75						
% SLS	0.01						
% Thymol	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
% Menthol	0.05	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5
% Peppermint oil	0.01	0.1	0.2	0.5	1.0	0.5	0.5
% Sorbitol	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	5.0	8.0
% Xylitol	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
% Acesulfame-K	0.1	0.5	1.0	0.75	1.0	0.75	0.75

4.3.<u>การหาปริมาณความชื้นในผงแห้ง</u>

ประเมินความชื้นในผงแห้งด้วยการหาค่า Loss on drying (LOD) และ Moisture content (MC) (25) ด้วยการชั่งน้ำหนักผงแห้งก่อนและหลังการอบที่ 105° C นาน 2 ชั่วโมง แล้วคำนวณหาค่า %LOD และ %MC ดังนี้

$$\%LOD = \frac{\text{น้ำหนักสารก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักสารหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักสารก่อนอบ (g)}} \times 100$$

$$\%MC = \frac{\text{น้ำหนักสารก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักสารหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักสารหลังอบ (g)}} \times 100$$

$$= \frac{\%LOD \times 100}{100 - \%LOD}$$

4.4.<u>การวัดการไหล (Flowability) ของผงแห้ง</u>

4.4.1.*การวัดการไหลผ่านกรวยแก้วที่มีรูเปิดขนาดต่างๆ กัน (26)*

ใส่ผงแห้งในกรวยแก้วที่มีความสูง 80 mm มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 38 mm และมีความกว้างของรูเปิดต่างกัน คือ 2.5, 5, 8, 12 และ 18 mm และประเมินคุณสมบัติการไหลของสารตามเกณฑ์ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เกณฑ์การประเมินการไหลของผงแห้งโดยการวัดการไหลผ่านกรวยแก้ว

กรวยแก้ว ลำดับที่	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูเปิดของกรวยแก้ว (mm)	การประเมินการไหลของผงผ่านรูเปิดของกรวยแก้ว
1	2.5	ดีมาก
2	5	ดี
3	8	ดีพอใช้
4	12	พอใช้
5	18	ไม่ดี
ไม่สามารถผ่านกรวยแก้วลำดับที่ 5		ไหลไม่ได้

4.4.2.*การวัดการไหลโดยการวัด Angle of repose (27,28)*

ค่อยๆ เทผงยาลงในกรวยขนาดสูง 80 mm มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 mm และมีความกว้างของรูเปิดขนาด 18 mm ที่วางอยู่ในระยะความสูง 2 cm จากพื้น จนกระทั่งกองผงยาบนพื้นรูปโคนมีความสูง (H) และรัศมี (R) ของกองผงยาที่พื้น แล้วคำนวณค่า Angle of repose (θ) จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Tan}\,\theta = H/R$$

ประเมินผลของการไหลของผงยาตามเกณฑ์การประเมินในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เกณฑ์การประเมินการไหลของผงแห้งโดยการวัด Angle of repose

ค่า θ	การประเมินการไหลของผง
$\theta < 10^{\circ}$	ไหลตามอากาศเป็นฝุ่นผง (Aerated)
$10^{\circ} < \theta < 30^{\circ}$	ไหลได้ดีมาก (Excellent Flowing)
$30^{\circ} < \theta < 45^{\circ}$	ไหลได้ดี (Free-flowing)
$45^{\circ} < \theta < 60^{\circ}$	ไหลได้ปานกลาง (Fairly free-flowing)
$60^{\circ} < \theta$	ไหลยากหรือไม่ไหล (Cohesive, non-flowing)

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ Thymol และ Catechin ในการต้านเชื้อร่วมด้วย เนื่องจาก Thymol เป็นส่วนประกอบหนึ่งของตำรับซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ส่วน Catechin ถือว่าเป็นส่วนประกอบหลักที่อยู่ในสารสกัดชาเขียวและเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เช่นกัน โดยทำการทดสอบตามวิธีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก (ข้อ 1) โดยใช้ Thymol 16 mg/ml และ Catechin 5.76 mg/ml ในการทดสอบนี้

ผลการวิจัย (Results)

1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก

ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดชาเขียวที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 2 mg/ml ในขณะที่ ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ Chlorhexidine ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 3.12×10^{-3} mg/ml ดังแสดงในตารางที่ 7

ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดชาเขียวที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 4 mg/ml และ ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ Chlorhexidine ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 3.12×10^{-3} mg/ml ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวและ Chlorhexidine ต่อเชื้อ *S. mutans*

หลอดที่	สารสกัดชาเขียว		Chlorhexidine	
	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ
1	16	-	0.1	-
2	8	-	0.05	-
3	4	-	0.025	-
4	2	-	0.012	-
5	1	+	0.0062	-
6	0.5	+	3.12×10^{-3}	-
7	0.25	+	1.56×10^{-3}	+
8	0.12	+	0.78×10^{-3}	+
9	0.062	+	0.39×10^{-3}	+
10	0.031	+	0.19×10^{-3}	+

ตารางที่ 8 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวและ** Chlorhexidine **ต่อเชื้อ** *S. sanguinis*

หลอดที่	สารสกัดชาเขียว		Chlorhexidine	
	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ
1	16	-	0.1	-
2	8	-	0.05	-
3	4	-	0.025	-
4	2	+	0.012	-
5	1	+	0.0062	-
6	0.5	+	$3.12x10^{-3}$	-
7	0.25	+	$1.56 x10^{-3}$	+
8	0.12	+	$0.78 x10^{-3}$	+
9	0.062	+	$0.39 x10^{-3}$	+
10	0.031	+	$0.19 x10^{-3}$	+

2. ผลการเตรียมแกรนูลฟู่จากสารสกัดชาเขียว

แกรนูลที่เตรียมได้มีลักษณะสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นชาค่อนข้างมาก เมื่อนำไปละลายน้ำผงฟู่ดี สามารถละลายได้หมด รสขม

3. ผลการพัฒนาตำรับแกรนูลฟู่ที่เตรียมได้

3.1. การทดลองหาความเข้มข้นของ ethanol ที่ใช้เป็น binder

ความเข้มข้นของ ethanol ที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เป็น binder คือที่ 75% ethanol ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ Ethanol ที่ใช้เป็น Binder

ตำรับที่	1	2	3
ความร่วนของแกรนูล	มาก	มาก	ปานกลาง
การระเหยของ Binder	เร็ว	เร็ว	ปานกลาง

3.2. **การทดลองหาความเข้มข้นของ Sodium Lauryl Sulfate ที่ใช้เป็น surfactant**

ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เป็น surfactant คือที่ 0.01% SLS ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ SLS ที่ใช้เป็น Surfactant

ตำรับที่	4	5	6	7
ปริมาณฟอง	+++	+++	++	+
การเกิดฟอง	√	√	√	X

\+ = ปริมาณฟองน้อย

++ = ปริมาณฟองปานกลาง

+++ = ปริมาณฟองมาก

√ = มีฟองถาวร

X = ไม่มีฟองถาวร

3.3. **การทดลองหาความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรส**

ตำรับที่มีความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรสที่เหมาะสมที่สุด คือ ตำรับที่ 14 ดังแสดงในตารางที่ 11

4. ประเมินคุณสมบัติทั่วไปของแกรนูลฟู่

4.1. **การตรวจสอบลักษณะภายนอก**

ผลการตรวจสอบ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ผลการประเมินสารแต่งกลิ่นและรสที่เหมาะสม

ตำรับที่	กลิ่น	รสชาติ
8	กลิ่นชาเขียวรุนแรง ไม่มีกลิ่นอื่นเลย	ขม เปรี้ยว ซ่าลิ้น
9	กลิ่นชาเขียวรุนแรง กลิ่น Peppermint อ่อนๆ	ขม เปรี้ยวเล็กน้อย หวาน
10	กลิ่นชาเขียวรุนแรง กลิ่น Peppermint มากขึ้น	ขม หวานติดลิ้น รู้สึกเย็นเล็กน้อย
11	กลิ่นชาเขียวรุนแรง กลิ่น Peppermint ปานกลาง	ขม เปรี้ยวเล็กน้อย ความเย็นปานกลาง
12	กลิ่นชาเขียวรุนแรง กลิ่นชาเขียวแรงเกินไป	ขม เปรี้ยว หวานติดลิ้น
13	กลิ่นชาลดลง กลิ่น Peppermint ปานกลาง	ขมเพียงเล็กน้อย ความเย็นปานกลาง
14	กลิ่นชาน้อยมาก กลิ่น Peppermint ปานกลาง	แทบไม่รู้สึกขมเลย ความเย็นปานกลาง ความหวานปานกลาง

ตารางที่ 12 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของแกรนูลฟู่

ลักษณะภายนอกที่ตรวจสอบ	ตำรับที่ 13	ตำรับที่ 14
สี	เหลืองเข้ม	เหลือง
กลิ่น	หอมเย็น มีกลิ่นชาเล็กน้อย	หอมเย็น มีกลิ่นชาเล็กน้อย
รส	เย็น ขมเล็กน้อย	เย็น
สภาพแกรนูลฟู่	ร่วน แห้ง	นิ่ม มีความชื้นเล็กน้อย
ความใสหลังจากละลายน้ำ	ขุ่น	ใสกว่า

4.2. การวัดการแตกตัวของผงแห้ง

การวัดการแตกตัวของผงแห้งพบว่าทั้งตำรับที่ 13 และ ตำรับที่ 14 ผ่านการประเมินทั้ง 2 ตำรับ ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการวัดแตกตัวของผงแห้ง

เวลาที่ใช้ (นาที.วินาที)	1	2	3	4	5	6	ค่าเฉลี่ย ± S.D.	ผลการประเมิน
ตำรับที่ 13	2.28	2.30	2.10	2.38	2.20	2.32	2.26 ± 0.10	ผ่าน
ตำรับที่ 14	4.08	4.14	3.51	3.41	3.55	3.29	3.66 ± 0.36	ผ่าน

4.3. การหาปริมาณความชื้นในผงแห้ง

ปริมาณความชื้นในผงแห้งของตำรับที่ 13 พบว่ามีค่าเฉลี่ยของ %LOD เป็น 7.24%, %MC เป็น 7.80% ส่วนปริมาณความชื้นในผงแห้งของตำรับที่ 14 พบว่ามีค่าเฉลี่ยของ %LOD เป็น 3.82% และ %MC เป็น 3.97% ดังแสดงในตารางที่ 14

4.4. การวัดการไหล (Flowability) ของผงแห้ง

4.4.1. <u>การวัดการไหลผ่านกรวยแก้วที่มีรูเปิดขนาดต่างๆ กัน</u>

ผลการประเมินของตำรับที่ 13 พบว่าไหลพอใช้ ส่วนตำรับที่ 14 พบว่าไหลไม่ดี ดังแสดงในตารางที่ 15

4.4.2. <u>การวัดการไหลโดยการวัด Angle of repose</u>

ผลการประเมินของตำรับที่ 13 พบว่าไหลได้ดีมาก ส่วนตำรับที่ 14 พบว่าไหลได้ดี ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 14 ผลการหาปริมาณความชื้นในผงแห้ง

ครั้งที่	น้ำหนักฟลอยด์	น้ำหนักสาร + ฟลอยด์ก่อนอบ	น้ำหนักสารก่อนอบ	น้ำหนักสาร + ฟลอยด์หลังอบ	น้ำหนักสารหลังอบ	%LOD	%MC
ตำรับที่ 13							
1	0.4345	1.9652	1.5307	1.8541	1.4196	7.26	7.82
2	0.4242	1.9224	1.4982	1.8154	1.3912	7.14	7.69
3	0.4092	1.9094	1.5002	1.7997	1.3905	7.31	7.88
ค่าเฉลี่ย ± S.D.						7.24 ±0.09	7.80 ±0.10
ตำรับที่ 14							
1	0.4627	1.9768	1.5141	1.9153	1.4526	4.06	4.23
2	0.4101	1.9343	1.5242	1.8758	1.4657	3.84	3.99
3	0.4275	1.9264	1.4989	1.8729	1.4454	3.57	3.70
ค่าเฉลี่ย ± S.D.						3.82 ± 0.25	3.97 ± 0.27

ตารางที่ 15 ผลการวัดการไหลผ่านกรวยแก้วที่มีรูเปิดขนาดต่าง ๆ กัน

กรวยแก้วลำดับที่	1	2	3	4	5	ผลการประเมิน
ตำรับที่ 13	-	-	-	-	+	ไหลพอใช้
ตำรับที่ 14	-	-	-	+	+	ไหลไม่ดี

- = ผงแห้งไม่สามารถไหลผ่านได้

+ = ผงแห้งสามารถไหลผ่านได้

ตารางที่ 16 ผลการวัดการไหลโดยการวัด Angle of repose

ครั้งที่		ตำรับที่ 13	ตำรับที่ 14
1	H	1.45	2
	R	3.37	2.725
	θ	23.28°	36.28°
2	H	1.32	2
	R	3.305	2.75
	θ	21.77°	36.03°
3	H	1.4	2
	R	3.2	3.09
	θ	23.63°	32.91°
ค่าเฉลี่ยของ $\theta \pm$ S.D.		22.89° ± 0.99	35.07° ± 1.88
ผลการประเมิน		ไหลได้ดีมาก (Excellent flowing)	ไหลได้ดี (Free-flowing)

5. ประเมินประสิทธิภาพในการต้านเชื้อของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้

ผลการประเมินประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S. mutans* และ *S. sanguinis* ของผลิตภัณฑ์แกรนูลฟู่สารสกัดชาตำรับที่ 14 แสดงไว้ในตารางที่ 17 และ 18 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ chlorhexidine, thymol และ catechin พบว่า ความเข้มข้นต่ำที่สุดของตำรับที่ 14 ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 0.94 mg/ml ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ chlorhexidine ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 1.56×10^{-3} mg/ml ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ thymol ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 0.062 mg/mlความเข้มข้นต่ำที่สุดของ catechin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 0.72 mg/ml

ความเข้มข้นต่ำที่สุดของตำรับที่ 14 ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 15 mg/ml ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ chlorhexidine ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 1.56×10^{-3} mg/ml ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ thymol ที่

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 0.12 mg/ml ความเข้มข้นต่ำที่สุดของ catechin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 1.44 mg/ml

ตารางที่ 17 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลฟู่ตำรับที่ 14 ร่วมกับ chlorhexidine, thymol และ catechin ต่อเชื้อ *S. mutans*

หลอดที่	ตำรับที่ 14		Chlorhexidine		Thymol		Catechin	
	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ
1	30	-	0.05	-	8	-	2.88	-
2	15	-	0.025	-	4	-	1.44	-
3	7.5	-	0.012	-	2	-	0.72	-
4	3.75	-	0.0062	-	1	-	0.36	+
5	1.88	-	0.0031	-	0.5	-	0.18	+
6	0.94	-	1.56×10^{-3}	-	0.25	-	0.09	+
7	0.47	+	0.78×10^{-3}	+	0.12	-	0.045	+
8	0.23	+	0.39×10^{-3}	+	0.062	-	0.022	+
9	0.12	+	0.19×10^{-3}	+	0.031	+	0.011	+
10	0.059	+	0.098×10^{-3}	+	0.016	+	0.0055	+

ตารางที่ 18 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแกรนูลฟู่ตำรับที่ 14 ร่วมกับ chlorhexidine, thymol และ catechin ต่อเชื้อ *S. sanguinis*

หลอดที่	ตำรับที่ 14		Chlorhexidine		Thymol		Catechin	
	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/ml)	ผลการทดสอบ
1	30	-	0.05	-	8	-	2.88	-
2	15	-	0.025	-	4	-	1.44	-
3	7.5	+	0.012	-	2	-	0.72	+
4	3.75	+	0.0062	-	1	-	0.36	+
5	1.88	+	0.0031	-	0.5	-	0.18	+
6	0.94	+	1.56×10^{-3}	-	0.25	-	0.09	+
7	0.47	+	0.78×10^{-3}	+	0.12	-	0.045	+
8	0.23	+	0.39×10^{-3}	+	0.062	+	0.022	+
9	0.12	+	0.19×10^{-3}	+	0.031	+	0.011	+
10	0.059	+	0.098×10^{-3}	+	0.016	+	0.0055	+

วิจารณ์ผลการวิจัย (Discussion)

ผู้วิจัยได้เลือกใช้ wet granulation method ในการเตรียมแกรนูลฟู่สารสกัดกากชาเขียว ถึงแม้จะเป็นวิธีที่มี reproducibility ค่อนข้างต่ำ แต่จากเหตุผลที่สารประกอบที่ใช้ในการผลิตหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดจากกากชาเขียว, Peppermint oil, Thymol และ Menthol ไม่ทนต่อความร้อนสูง เช่น การผลิตด้วยวิธี dry granulation method และ fusion method

ผู้วิจัยเลือกใช้วิธี Agar dilution แทนวิธี Broth dilution เนื่องจากวิธี Broth dilution เหมาะกับการทดสอบสารที่เมื่อละลายลงใน broth แล้วไม่มีสี หรือไม่ทำให้ broth ขุ่น รวมถึงเหมาะกับการทดสอบเชื้อที่กระจายตัวได้ดีใน broth ไม่กระจุกตัวอยู่ที่ก้นหลอด ซึ่งจะเห็นผลการทดสอบได้อย่างชัดเจน ในการวิจัยนี้ สารสกัดกากชาเขียวและผลิตภัณฑ์ ทำให้ broth ขุ่นหลังจากละลาย ประกอบกับเชื้อที่นำมาใช้ คือ *S. mutans* และ *S. sanguinis* เป็นเชื้อที่มีธรรมชาติที่ชอบรวมตัวอยู่ที่ก้นหลอด ไม่สามารถกระจายตัวได้ดีใน broth ด้วย

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชาเขียวในการต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก พบว่า ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดชาเขียวที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ คือ 2 mg/ml ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดชาเขียวที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. sanguinis* ได้ คือ 4 mg/ml ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าถึง 2 เท่า แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *S. sanguinis* มีความดื้อต่อสารสกัดกากชาเขียวมากกว่า *S. mutans*

การทดลองหาความเข้มข้นของ ethanol ที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็น binder ผู้ทำการวิจัยเลือกใช้ 75 % ethanol เนื่องจากไม่ระเหยเร็วเกินไป และสามารถทำให้ผงเกาะกันเป็น damp mass ได้ดีพอ ในที่นี้จะไม่ได้ทำการทดลองที่ความเข้มข้น ethanol ต่ำกว่า 75 % เนื่องจากผู้ทำการวิจัยต้องการให้มีน้ำเป็นส่วนประกอบน้อยที่สุด ด้วยเหตุผลในเรื่องความคงตัวของตำรับแกรนูลฟู่

การทดลองหาความเข้มข้นของ Sodium lauryl sulfate เพื่อใช้เป็น surfactant ของตำรับ ผู้ทำการวิจัยเลือกใช้ SLS ที่ความเข้มข้น 0.01% เพราะเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ไม่ทำให้เกิดฟองถาวรหลังจากละลาย

การทดลองหาความเข้มข้นของสารแต่งกลิ่นและรส พบว่า ตำรับที่เหมาะสมที่สุดคือตำรับที่ 14 โดยเป็นการประเมินจากลักษณะทั่วไปของแกรนูลและรสชาติของน้ำยาบ้วนปากเป็นสำคัญ

การวัดการแตกตัวของผงแห้ง พบว่า ในตำรับที่ 14 ใช้เวลาในการแตกตัวมากกว่าตำรับที่ 13 ถึง 1.27 นาที ซึ่งอาจมีผลสำคัญในการนำไปพัฒนาตำรับต่อไป เนื่องจากตำรับแกรนูลฟู่นั้นมีจุดสำคัญอยู่ที่การแตกตัวเป็นฟองฟู่ ซึ่งไม่ควรใช้เวลามากจนเกินไป แต่อย่างไรก็ดียังอยู่ในเกณฑ์ตามกำหนด BP 2005

การหาปริมาณความชื้นในผงแห้ง พบว่า ในตำรับที่ 13 มีความชื้นในผลิตภัณฑ์มากกว่าในตำรับที่ 14 ทั้งนี้อาจเกิดจากสภาพแวดล้อมในการผลิต เช่น ความชื้นสัมพัทธ์ในวันที่ทำการผลิต เนื่องจากห้องผลิตไม่มีการควบคุมสภาพอากาศ หรือ สภาพการเก็บรักษา เช่น การเก็บโดยมีหรือไม่มีสารดูดความชื้นในบรรจุภัณฑ์ ซึ่งหากต้องการค่าเปรียบเทียบที่แน่นอน ควรมีการควบคุมปัจจัยดังกล่าวด้วย อย่างไรก็ตามแกรนูลตำรับที่ 13 และ 14 มีค่า %LOD และ %MC ไม่เกิน 10% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้และประเมินว่าเป็นแกรนูลที่มีความชื้นต่ำ

จากการทดสอบคุณสมบัติการไหลของผงแห้งพบว่า การทดสอบด้วยวิธีการวัดการไหลผ่านกรวยแก้วที่มีรูเปิดขนาดต่างๆ กัน เปรียบเทียบกับวิธีการวัดการไหลโดยการวัด Angle of repose นั้น ได้ผลการประเมินที่แตกต่างกัน เนื่องจากทั้งสองวิธี มีเกณฑ์ในการประเมินแตกต่างกัน โดยที่การทดสอบการวัดการไหลผ่านกรวยแก้ว พบว่า ตำรับที่ 13 มีการไหลพอใช้ และตำรับที่ 14 มีการไหลไม่ดี แต่การประเมินโดยการวัด Angle of repose พบว่า ตำรับที่ 13 มีการไหลได้ดีมาก และ ตำรับที่ 14 มีการไหลได้ดี ซึ่งถ้าหากต้องการผลการประเมินเพื่อการยืนยัน ควรหาวิธีการทดสอบวิธีอื่น เพื่อนำมาเปรียบเทียบผลต่อไป

จากการประเมินคุณสมบัติทั้งหมดของตำรับแกรนูลฟู่ ในเรื่องความพึงพอใจในลักษณะที่ได้ พบว่า ตำรับที่ 14 มีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาต่อไป จึงเลือกเฉพาะตำรับที่ 14 ในการนำไปทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของตำรับที่ 14 พบว่า ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมีค่าต่ำกว่าค่าที่ทดสอบไว้ของสารสกัดชาเขียวในขั้นตอนแรก ซึ่งทำให้อาจคิดได้ว่าผลการยับยั้งเชื้อที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเกิดจากฤทธิ์การต้านเชื้อเสริมจากสารประกอบที่อยู่ในตำรับได้แก่ Thymol และ Menthol อย่างไรก็ตามจากการตรวจสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของ Thymol และ Menthol พบว่า ต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าที่อยู่ในตำรับถึง 500 เท่า ดังนั้น ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อของ ตำรับที่ 14 จะเกิดจากประสิทธิภาพของสารสกัดกากชาเขียว ร่วมกับ Thymol และ Menthol ในตำรับ

ข้อสรุป และ ข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

ข้อสรุป (Conclusion)

ผลจากการวิจัยพบว่า ตำรับน้ำยาบ้วนปากแกรนูลฟู่สูตรผสมสารสกัดชาเขียวที่เหมาะสมที่สุดทั้งในเรื่องฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากและความพึงพอใจในการใช้ คือ ตำรับที่ 14 ซึ่งประกอบไปด้วย

Green tea extract	6.67 %	(Active ingredient)
Citric acid anhydrous	qs.	(Effervescent base)
Tartaric acid	qs.	(Effervescent base)
Sodium bicarbonate	qs.	(Effervescent base)
SLS	0.01 %	(Surfactant)
Thymol	0.1 %	(Co-active ingredient, Flavoring agent)
Menthol	0.5 %	(Flavoring agent)
Peppermint oil	0.5 %	(Flavoring agent)
Sorbitol	8 %	(Humectant, Sweetening agent)
Xylitol	2 %	(Sensation modifier, Sweetening agent)
Acesulfame-K	0.75 %	(Sweetening agent)

ซึ่งผลในการประเมินผลของตำรับ พบว่ามีคุณสมบัติดังนี้

1. ลักษณะทางกายภาพของตำรับ พบว่าเป็นแกรนูลที่ค่อนข้างนิ่ม เมื่อละลายน้ำแล้วได้ของเหลวสีเหลือง ไม่มีการแยกชั้นกันระหว่างวัตภาคน้ำกับวัตภาคน้ำมัน ปราศจาก particle ที่ไม่ละลาย รสชาติและกลิ่นหอมเย็นเป็นที่น่าพอใจ

2. มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. mutans* และ *S. sanguinis* ที่ความเข้มข้น 0.94 mg/ml และ 15 mg/ml ตามลำดับ

3. แกรนูลที่เตรียมได้มีการแตกตัวผ่านตามเกณฑ์ BP2005

4. ตำรับมีปริมาณความชื้นต่ำ (%LOD และ %MC มีค่าต่ำกว่า 10%)

5. การไหลของตำรับอยู่ในเกณฑ์พอใช้

ข้อเสนอแนะ (Recommendation)

1. ควรเพิ่มสารดูดความชื้นเข้าไปในตำรับเพื่อเพิ่มความคงตัวของตำรับ

2. ทำการประเมินผลในเรื่องความคงตัวของตำรับทั้งในสภาวะปกติและสภาวะเร่ง เพื่อให้ทราบถึงอายุของตำรับและการเก็บรักษาตำรับ

3. ปรับปรุงเรื่องการไหลของแกรนูล หากต้องการนำไปพัฒนาต่อเป็นตำรับเม็ดฟู่ โดยการปรับขนาดแกรนูลให้เหมาะสม หรืออาจใส่ lubricant เพิ่มในตำรับ

4. พัฒนาตำรับให้มีความน่าใช้มากขึ้น ในเรื่องของสี ความใสของตำรับหลังละลายน้ำ และควรทำการประเมินผลความพึงพอใจของผู้ใช้ในรูปแบบ Quantitative โดยใช้ 9-Point Hedonic Scale Method

5. ทำการค้นคว้าหาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลดีและผลเสียอื่นๆของการใช้สารสกัดชาเขียว ว่ามีผลอย่างไรต่อช่องปากหรือไม่

6. ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่นที่มีอิทธิพลต่อการก่อโรคในช่องปาก เพื่อเพิ่มขอบเขตของการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

1. รายงานโครงการจัดทำข้อมูลทันสมัยของสมุนไพรด้านความปลอดภัยและการใช้ประโยชน์จากสมุนไพร. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2548: 115-497.
2. Patel VK, Venkatakrishna-Bhatt H. Folklore therapeutic indigenous plants in periodontal disorders in India (review, experimental and clinical approach). Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 1988; 26(4):176-84.
3. Li M, Liu Z. Effect of tea polyphenol on pathogenic bacteria in oral and pharynx in vitro. Shanghai Dier Yike Daxue Xuebao 1999; 19(1):41-3, 55.
4. Xiao Y, Lin TJ, Zhan L, Dong Zhou X. The effect of tea polyphenols in the adherence of cariogenic bacteria to the salivary acquired pellicle and collagen in vitro. Chinese J Dental Res 2002; 5(1):22-6.
5. Calam DH, Goldsmith JA, Andrews AH, et al. Mouthwashes. In: Vallender M, editor. British Pharmacopoeia. 5th edition. London: The Stationary Office, 2005: 2173.
6. ธนาคม พจนาพิทักษ์, บรรณาธิการ. มาทำความรู้จักกับน้ำยาบ้วนปากกันเถอะ. นิตยสารชีวจิต 2546; 124: 14-15.
7. Calam DH, Goldsmith JA, Andrews AH, et al. Granules. In: Vallender M, editor. British Pharmacopoeia. 4th edition. London: The Stationary Office, 2004: 2115-6.
8. Forman Y, Levin O, Friedman D, Friedman M. Effervescent Granule. Freepatentonline [Online]; 1999. Available from: http://www.freepatentsonline.com/5948439.html [Accessed 2006 Jun 2].
9. นันทวัน บุญยะประภัศร, อรนุช โชคชัยเจริญพร, บรรณาธิการ. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัท ประชาชน จำกัด, 2542, 796-825.
10. Hamilton-Miller J. M. T. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). J Med Microbial 2001; 50: 299-302.
11. Muroi H, Kubo I. Combination effects of antibacterial compounds in green tea flavor against Streptococcus mutans. J Agr Food Chem 1993; 41:1102-1105.

12. Kubo I, Muroi H, Himejima M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. J Agr Food Chem 1992; 40: 245-248.
13. Otake S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. Caries Res 1991; 25: 438-443.
14. Matsumoto M, Mimami T, Sasaki H, Sobue S, Hamada S, Ooshima T. Inhibitory effects of oolong tea extract on caries-inducing properties of mutans streptococci. Caries Res 1999; 33: 441-445.
15. Hattori M, Kusumoto IT, Namba T, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. Chem Pharm Bull 1990; 38: 717-720.
16. Kashket S, Paolini VJ. Inhibition of salivary amylase by water soluble extracts of tea. Arch Oral Biol 1988; 33: 845-846.
17. Hara Y, Honda M. The inhibition of alpha amylase by tea phenols. Agr Biol Chem 1990; 54: 1939-1945.
18. Zhang J, Kashket S. Inhibition of salivary amylase by black and green teas and their effects on the intraoral hydrolysis of starch. Caries Res 1998; 32: 233-238.
19. ทวิช กาญจนบุตร. บทบาทของสเตร็พโตคอคคัส มิวแทนส์ ต่อโรคฟันผุ. วารสารทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2526; 6(3): 187-195.
20. จินตกร คูวัฒนสุชาติ, รัตน์ เสรีนิราช. ความแตกต่างในการผลิตกรดแลคติค จากน้ำตาลไซลิทอลของสเตร็พโตคอคคัส มิวแทนส์ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่น. วารสารทันตแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2526; 6(3): 142.
21. Todar K. The bacterial flora of humans. Todar's online textbook of bacteriology [Online]. Universityj of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology; 2002. Available from: http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html [Accessed 2006 May 30]
22. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Paul J Weller. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 4th edition. London: Pharmaceutical Press, 2003: 3-4, 158-160, 383-384, 552-554, 568-569, 596-598, 644-645, 694-697.

23. Calam DH, Goldsmith JA, Andrews AH, et al. In: Vallender M, editor. British Pharmacopoeia. 5th edition. London: The Stationary Office, 2005: 1535, 1956.
24. Wells JI. Pharmaceutical formulation: The physicochemical propertied of drug substances. Chichester: Ellis Hoewood Ltd. 1988; 206-8.
25. Knwgt RJ, Brink H. Improvement of the drying oven method for the determination of the moisture content of milk powder. Int Dairy J 1998; 8:733-8.
26. Technical Bulletin Pigments Synthetic Silicas as a Flow Aid and Carrier Substance. No 31. Degussa, Germany.
27. Thalberg K, Lindholm D, Axelsson. Comparison of different flowability test for powders for inhalation. Powder Tech 2004; 146: 206-13.
28. Santomaso A, Lazzaro P, Canu P. Powder flowability and density ratios: the impact of granules packing. Chem En Sci 2003; 58: 2857-74.