

การต้งตำรับน้ำตาเทียมจากไคโตซานเจล

Formulation of Artificial Tear from Chitosan Gel

กานต์ เวียรศิลป์¹, นิจพร ญาณสาร¹, ศักดิ์ชัย อัญญคุณ², พีรชา ธนวัฒนาวณิช³ และ ภูริวัฒน์ ลิ้มสวัสดิ์^{1*}

¹ สายวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ *Email : phuriwat@pharmacy.cmu.ac.th

² สายวิชาบริหารเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ บริษัท สยามเภสัช จำกัด

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือ การต้งตำรับน้ำตาเทียมจากไคโตซานเจล โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการต้งตำรับคือ ความเข้มข้นของไคโตซาน, ชนิดของกรดที่ใช้ในการละลาย, การทำไร้เชื้อ, ระบบบัฟเฟอร์ และ ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังได้ทำการเปรียบเทียบตำรับที่ได้กับตำรับน้ำตาเทียมที่มีจำหน่ายในท้องตลาดอีกด้วย

ผลการวิจัยพบว่า ตำรับน้ำตาเทียมมีความหนืดเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของไคโตซานที่มากขึ้น ความหนืดของน้ำตาเทียมจะลดลงหลังจากผ่านกระบวนการทำไร้เชื้อ กรดที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นตัวทำละลายไคโตซานคือ กรดแลคติก ระบบบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการควบคุมความเป็นกรด-ด่างของน้ำตาเทียมคือ บอเรตบัฟเฟอร์ ตำรับน้ำตาเทียมที่เหมาะสมคือ ตำรับที่ใช้ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.1% ในกรดแลคติก และ ควบคุมความเป็นกรด-ด่างด้วยบอเรตบัฟเฟอร์ ตำรับนี้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.97 มีความคงสภาพดีต่อการทำไร้เชื้อ และ ไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อตา จากการทดสอบประสิทธิภาพการยึดเกาะกับตาพบว่าตำรับน้ำตาเทียมนี้สามารถติดอยู่กับตาได้ยาวนานกว่าตำรับน้ำตาเทียมที่มีจำหน่ายในท้องตลาด หลังจากทดสอบความคงสภาพภายใต้สภาวะเร่งพบว่า ลักษณะทางกายภาพมีลักษณะไม่เปลี่ยนแปลง คือเป็นสารละลายใส ไม่เกิดตะกอน จึงสามารถเก็บรักษาน้ำตาเทียมได้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องเก็บในตู้เย็น

คำสำคัญ: น้ำตาเทียม, ไคโตซาน, โรคตาแห้ง

1. บทนำ

น้ำตามีประโยชน์หลายประการ ตั้งแต่มีน้ำตาไว้ทำความชุ่มชื้นแก่ดวงตา ช่วยป้องกันการอักเสบ ติดเชื้อของดวงตา ใช้ล้างสิ่งระคายเคืองออกจากตา ใช้เรียกร่องความเห็นอกเห็นใจ ความสงสารจากผู้พบเห็นใช้เป็นเครื่องมือในการระบายเอาความทุกข์โศกออกไปจากจิตใจ น้ำตาของมนุษย์มี 3 ชั้น ชั้นในสุดที่ติดกับแก้วตาจะเป็นเมือก ชั้นกลางเป็นน้ำ ซึ่งเป็นตัวให้อาหารและออกซิเจนหล่อเลี้ยงแก้วตา ส่วนชั้นนอกเป็นไขมันป้องกันการระเหยของน้ำตา (Mitra, 1993) น้ำตาของคน

สร้างต่อมน้ำตาของหนังตาบน เวลาเรากระพริบตาน้ำตาจะถูกขับออกมาเคลือบตา น้ำตาที่หลั่งออกมาจากการกระพริบตาออกครั้งละไม่มาก น้ำตาไหลจากเสียใจหรือเกิดจากการระคายเคืองจะออกเป็นปริมาณมาก

ปกติตาจะมีน้ำตามาหล่อเลี้ยงอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้ลูกตาชุ่มชื้น แก้วตาจะใสไม่ขุ่นมัว น้ำตาที่มาหล่อเลี้ยงลูกตาส่วนใหญ่มาจากต่อมน้ำตา ซึ่งอยู่ปลายหางตาด้านบน ส่วนน้อยมาจากเยื่อตาขาวและจากต่อมที่อยู่บริเวณขอบตา น้ำตาที่มากหล่อเลี้ยงลูกตาจะ

ไหลออกที่รูเล็กๆ ข้างหัวตาไปตามท่อขนานกับหนังตาบนและล่างไปสู่ถุงน้ำตาที่อยู่ข้างจมูก จากนั้นจะมีท่อใหญ่ให้น้ำตาออกจากถุงน้ำตาไปลงในจมูกและคอ (Reynolds และ Closson, 1993) โรคตาแห้งหรือน้ำตาแห้งพบได้มากพอสมควร อาการ อาจจะมีเล็กน้อย หรือเป็นมากจนแสบตาจนเป็นฝ้าขาวถึงตาบอด

สาเหตุของตาแห้ง (Vale และ Cox, 1978) คือ สภาพอากาศร้อน อากาศแห้ง ลมแรง ลมจากเครื่องปรับอากาศ ควันบุหรี่ อ่านหนังสือหรือทำงานหน้าจอคอมพิวเตอร์เป็นเวลานาน คำแนะนำคือให้หยุดพักตาและกระพริบตาบ่อยๆ สาเหตุอื่นๆ คือ การใส่เลนส์สัมผัส (contact lens) และการขาดวิตามิน เอ รวมทั้ง คนสูงอายุที่มีการขับน้ำตาออกมาน้อย โดยเฉพาะผู้หญิงจะพบได้บ่อยกว่าผู้ชาย

อาการของโรคตาแห้ง คือ เคืองตา แสบตา ตาแดง ตาแฉะ เมื่อกระพริบตาจะมองเห็นชัดขึ้น น้ำตาไหลมาก เคืองตาหลังจากใช้งานเป็นเวลานาน น้ำตาเทียมนั้น ใช้สำหรับผู้ที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับดวงตา อาทิเช่น ดวงตาแห้งหรือโรคที่ทำให้เกิดการระคายเคืองดวงตา รวมถึงผู้ที่ใส่เลนส์สัมผัสแล้วมีปัญหาดวงตาแห้ง ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ดวงตาตามมาได้

ในตำรับน้ำตาเทียมนั้นประกอบด้วยสารพอลิเมอร์จากธรรมชาติหรือพอลิเมอร์สังเคราะห์ (พาณิ คิริ สะอาด, 2534) เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และ สารกลุ่มเซลลูโลส ได้แก่ ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (HPMC) ซึ่งเป็นสารช่วยเพิ่มความหนืดและเป็นสารช่วยเปียก (wetting agent) ทำให้น้ำตาเทียมติดอยู่ในตาได้ดี ดังมีตัวอย่างเป็นตำรับที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ส่วนสารพอลิเมอร์จากธรรมชาติชนิดอื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกันนี้ ได้แก่ ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ประจุบวกที่ได้จากส่วนเปลือกของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู และปลาหมึก มีคุณสมบัติ คือ เป็นสารช่วยยึดติดเมือก (mucoadhesive) ที่ดี (ญูริวัฒน์ ลีสวัสดิ์, 2534) เข้ากับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ (biocompatibility) สามารถสลายตัวได้ในทางชีวภาพ (biodegradability) มี

ความชอบน้ำทำให้แพร่กระจายออกไปได้ดี (ฤกษ์ณี เต็งรุ่งโรจน์ และ เกศินี หงษ์ใส, 2544.) และ มีความเฉื่อยทางชีวภาพ (bioinertness) อีกด้วย รวมทั้งได้มีการรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าไคโตซานมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Felt และคณะ, 1999) พวก *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งจะเป็นผลดีสำหรับผู้ใช้น้ำตาเทียมที่อาจจะเกิดการติดเชื้อจากอาการตาแห้ง และ จากการวิจัยพบว่าตำรับน้ำตาเทียมที่มีไคโตซานเป็นองค์ประกอบที่ความเข้มข้นน้อยกว่าตำรับน้ำตาเทียมทั่วไป 5 เท่า จะมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกัน (Felt และคณะ, 2000)

จากคุณสมบัติดังกล่าวของไคโตซาน ทำให้ผู้ทำการวิจัยตั้งใจจะดำเนินการพัฒนาตำรับน้ำตาเทียมโดยใช้ไคโตซานเป็นองค์ประกอบสำคัญ และ ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตำรับน้ำตาเทียมที่ได้กับตำรับน้ำตาเทียมที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป รวมทั้งเปรียบเทียบต้นทุนของการผลิตด้วย ปัจจุบันความต้องการของการใช้น้ำตาเทียมของผู้บริโภคมีปริมาณมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุหลายประการ อาทิเช่น จากความนิยมของการใช้เลนส์สัมผัสที่มีมากขึ้น รวมทั้งโรคหรืออาการบางอย่างที่มีผลทำให้เกิดการระคายเคืองกับดวงตา ดังนั้นการพัฒนาตำรับน้ำตาเทียมโดยใช้ไคโตซานเป็นองค์ประกอบสำคัญจึงเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ใหม่สำหรับผู้บริโภค

2. วัตถุประสงค์

- 2.1. เพื่อพัฒนาตำรับน้ำตาเทียมโดยใช้ไคโตซานเป็นสารสำคัญ
- 2.2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตำรับน้ำตาเทียมที่มีไคโตซานเป็นองค์ประกอบสำคัญและตำรับน้ำตาเทียมที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป
- 2.3. ศึกษาความคงสภาพของตำรับน้ำตาเทียมต่อการทำไร่เชื้อ และศึกษาอายุการเก็บของตำรับ

- 2.4. ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตซานในตำรับน้ำตาเทียม และ ความระคายเคืองของตำรับ
- 2.5. สนับสนุนการใช้วัตถุดิบ (ไคโตซาน) ที่ผลิตจากวัสดุเหลือใช้แล้วซึ่งเป็นการลดขยะและมลภาวะในระดับชาติ และ ยังทดแทนการนำเข้าสารเคมีวัตถุดิบจากต่างประเทศ

3. แนวทางการแก้ปัญหา

จากการสำรวจในวงการยาในประเทศไทย (Chan, 2002) พบว่ายังไม่มีน้ำตาเทียมที่ใช้ไคโตซานเป็นสารสำคัญจำหน่ายในท้องตลาดเลย การเตรียมน้ำตาเทียมที่ใช้ไคโตซานเป็นสารสำคัญย่อมสนองตอบความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการใช้ผลิตภัณฑ์รูปแบบที่ทันสมัย สามารถใช้ได้สะดวก มีประสิทธิภาพในการรักษา และ ราคาไม่แพง อุตสาหกรรมการผลิตยาในเมืองไทยมีศักยภาพในการผลิตน้ำตาเทียมที่ใช้ไคโตซานเป็นสารสำคัญออกสู่ท้องตลาดและสนองความต้องการของลูกค้าได้ ทั้งยังเป็นการสนับสนุนการพึ่งพาตนเองได้ทางด้านยาซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำตาเทียมนี้ส่วนใหญ่เป็นวัตถุดิบภายในประเทศ

จากเหตุผลข้างต้น ทางคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการผลิตน้ำตาเทียมไคโตซานเพื่อใช้ในการบรรเทาและรักษาอาการตาแห้ง ซึ่งคาดว่าจะได้เภสัชภัณฑ์ที่ดีมีประสิทธิภาพในการรักษา มีความปลอดภัยในการใช้ และสามารถเพิ่มกำลังการผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป นอกจากนี้ยังเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์สารเหลือใช้จากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์แก่ประเทศชาติและประชาชนสูงสุด

4. ผลลัพธ์ที่คาดว่าจะได้รับโดยตรง

- 4.1. ได้ตำรับน้ำตาเทียมซึ่งมีไคโตซานเป็นองค์ประกอบสำคัญ ที่มีคุณภาพดี มีประสิทธิภาพในการรักษา และ มีราคาถูก
- 4.2. เพื่อสนับสนุนการประยุกต์ใช้ไคโตซานในทางเภสัชกรรม

- 4.3. เพื่อสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากไคโตซาน (ที่ผลิตจากเปลือกกุ้งซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้) ซึ่งเป็นการลดปริมาณ ขยะ ที่ก่อให้เกิดมลภาวะ และ ยังทดแทนการนำเข้าสารเคมีวัตถุดิบเกี่ยวกับยาจากต่างประเทศโดยช่วยลดการขาดดุลการค้าของประเทศ
- 4.4. เพื่อสนับสนุนโรงงานผลิตยาในประเทศในด้านวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ซึ่งช่วยเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันทั้งในระดับประเทศและในระดับนานาชาติ

5. การทดลอง (Experiment)

5.1. สารเคมี

ผงไคโตซานจากปลาหมึก, กรดอะซิติก (Acetic acid), กรดแลกติก (Lactic acid), กรดบอริก (Boric acid) โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate), โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride), โซเดียมบอเรต (Sodium borate), Sodium acid phosphate (NaH_2PO_4), Disodium phosphate (Na_2HPO_4), สี Malachite green, 10% Fluorescene, Pilocarpine 4%, น้ำตาเทียมที่จำหน่ายในท้องตลาด (TEARS NATURALE II TM)

5.2. วัสดุและอุปกรณ์

Magnetic Stirrer พร้อมด้วย แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar), หม้อหนึ่งทำไว้เพื่อภายใต้ความดัน (Autoclave), เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer, เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter), Membrane filter ขนาด 0.45 μ และ 0.22 μ , เครื่องวัดค่า Osmolarity (Osmometer), UV Spectrophotometer

5.3. สัตว์ทดลอง

กระต่ายขาว ตาสีแดง ไม่จำกัดเพศ จำนวน 6 ตัว

6. วิธีทำการทดลอง

6.1. การเตรียมสารละลายไคโตซานเจล

ทำการละลายโคโตซานจากปลาหมึกในกรดอินทรีย์ที่ต่างกัน 2 ชนิด คือ กรดอะซิติก และกรดแลกติก เพื่อทดสอบคุณสมบัติของเจลโคโตซานที่ได้ โดยมีตำรับดังแสดงในตารางที่ 1

วิธีการเตรียมสารละลายโคโตซานเจลความเข้มข้น 1% (w/v)

1. ชั่งผงโคโตซาน 1.0 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมกรดความเข้มข้น 1% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3. คนให้ละลายด้วย Magnetic Stirrer
4. เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4-8°C

ตารางที่ 1 ตำรับสารละลายโคโตซานเจล

ตำรับที่	ส่วนประกอบ		
	โคโตซาน (กรัม)	กรดอะซิติก เข้มข้น 1% (มิลลิลิตร)	กรดแลกติก เข้มข้น 1% (มิลลิลิตร)
1	1	100	-
2	1	-	100

วิธีการเตรียมสารละลายโคโตซานเจลความเข้มข้น 1% (w/v)

5. ชั่งผงโคโตซาน 1.0 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. เติมกรดความเข้มข้น 1% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
7. คนให้ละลายด้วย Magnetic Stirrer
8. เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4-8°C

6.2. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารละลายโคโตซานเจล

- สังเกตลักษณะภายนอกของสารละลายโคโตซานเจล สี และ ความใส
- วัดความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโคโตซานเจล โดยใช้ pH paper
- สังเกตลักษณะความหนืดของสารละลายโคโตซานโดยเอียงสารละลาย และสังเกตการไหล

6.3. การพัฒนาตำรับน้ำตาลเทียมจากโคโตซาน

6.3.1. ศึกษาความเข้มข้นของโคโตซานในตำรับน้ำตาลเทียมที่เหมาะสม

เตรียมตำรับน้ำตาลเทียมโดยเจือจางสารละลายโคโตซานเจลที่ละลายในกรดอะซิติกด้วยไอโซโทนิค อะซิเตท บัฟเฟอร์ (Isotonic acetate buffer) ให้มีความเข้มข้นของโคโตซานอยู่ในช่วง 0.3 - 1.0 % (w/v) แล้วบรรจุลงในภาชนะ เพื่อนำไปทำไร่เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลานาน 20 นาที จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของน้ำตาลเทียม

6.3.2. ศึกษาการเลือกใช้ระบบบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในตำรับน้ำตาลเทียม

จากการนำข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของโคโตซานเจลและความเข้มข้นของโคโตซานในตำรับมาวิเคราะห์ พบว่ากรดที่ใช้ละลายโคโตซานและความเข้มข้น มีผลต่อคุณสมบัติของน้ำตาลเทียม จึงได้เลือกกรดแลกติกที่มีความเข้มข้น 1% และ โคโตซานที่มีความเข้มข้น 0.1% มาพัฒนาต่อไปโดยการทำการศึกษากับระบบบัฟเฟอร์ 3 ระบบ ได้เป็นตำรับที่ 3 - 5 ดังแสดงในตารางที่ 2 จากนั้นจึงนำไปทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของน้ำตาลเทียม

ตารางที่ 2 ตำรับน้ำตาลเทียมจากโคโตซานเจล

ตำรับที่	ความเข้มข้นโคโตซาน % (w/v)	กรดที่ใช้ทำละลายโคโตซาน (ความเข้มข้น 1%)	ระบบบัฟเฟอร์ที่ใช้ปรับปริมาตร
3	0.1	กรดแลกติก	อะซิเตท บัฟเฟอร์
4	0.1	กรดแลกติก	ฟอสเฟต บัฟเฟอร์
5	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์

ขั้นตอนการเตรียมตำรับที่ 3 - 5

1. เตรียมระบบบัฟเฟอร์ ที่ pH 6
2. เจือจางโคโตซานเจลความเข้มข้น 1%(w/v) ที่เตรียมไว้ให้มีความเข้มข้น 0.1%(w/v) โดยใช้บัฟเฟอร์
3. วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง, สังเกตลักษณะน้ำตาลเทียมที่ได้

6.3.3. ศึกษาการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสมในตำรับน้ำตาเทียม

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาระบบบัฟเฟอร์ พบว่าระบบบัฟเฟอร์มีผลต่อลักษณะทางกายภาพของน้ำตาเทียมจึงเลือกบอเรตบัฟเฟอร์มาพัฒนาต่อไป โดยทำการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบบัฟเฟอร์ (pH 6 – 7.4) เพื่อให้ได้ตำรับที่เหมาะสมที่สุด ได้เป็นตำรับน้ำตาเทียมที่ 6 – 11 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตำรับน้ำตาเทียมจากโคโคซานเจลที่ทำการศึกษาความเป็นกรด-ด่าง

ตำรับที่	ความเข้มข้นโคโคซาน % (w/v)	กรดที่ใช้ทำละลายโคโคซาน (ความเข้มข้น 1%)	ระบบบัฟเฟอร์ที่ใช้ปรับปริมาตร	pH ของบัฟเฟอร์
6	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	6.0
7	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	7.0
8	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	7.1
9	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	7.2
10	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	7.3
11	0.1	กรดแลกติก	บอเรต บัฟเฟอร์	7.4

ขั้นตอนการเตรียมตำรับที่ 6 - 11

1. เตรียมโคโคซานเจล 1% (w/v) โดยการละลายด้วยกรดแลกติก 1%
2. เจือจางด้วยให้มีความเข้มข้น 0.1%(w/v) ด้วยบอเรต บัฟเฟอร์ ที่เตรียมให้มี pH ต่าง ๆ กัน
3. นำไปทำไรซ์เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน ที่ 121°C นาน 20 นาที
4. วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง,สังเกตลักษณะน้ำตาเทียมที่ได้

6.3.4. ศึกษาขั้นตอนการเตรียมน้ำตาเทียมจากโคโคซาน

ทดลองเตรียมน้ำตาเทียมตำรับที่ 9 โดยให้มีขั้นตอนการผลิตที่สอดคล้องกับการผลิตจริงในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตยา ดังนี้

1. เตรียมโคโคซานเจล 1% (w/v) ละลายด้วยกรดแลกติก 1%

2. เจือจางด้วยบอเรต บัฟเฟอร์ pH 7.2 ให้มีความเข้มข้น 0.1%
3. นำไปทำไรซ์เชื้อครั้งที่หนึ่งโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน ที่ 121° C นาน 20 นาที
4. ทำไรซ์เชื้อครั้งที่สองโดยการกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน
5. บรรจุลงในขวดยาตาพลาสติก

6.4. การทดสอบคุณสมบัติและประสิทธิภาพของน้ำตาเทียม

6.4.1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำตาเทียม

การศึกษาคูณสมบัติทางกายภาพของน้ำตาเทียม เพื่อเก็บเป็นข้อมูลในการเลือกพัฒนาตำรับให้มีความเหมาะสมมากที่สุด

6.4.1.1. สังเกตลักษณะภายนอกของน้ำตาเทียม, การเกิดตะกอน, ความใส และ อนุภาคแปลกปลอม

6.4.1.2. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำตาเทียม โดยใช้ pH meter

6.4.1.3. วัดความหนืดโดยใช้เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)

6.4.1.4. วัด Osmolarity ของน้ำตาเทียมโดยใช้เครื่อง Osmometer

6.5. ศึกษาประสิทธิภาพในการแผ่กระจายและระยะเวลาของการติดในดวงตาของน้ำตาเทียม

6.5.1. การทดสอบโดยใช้สี Malachite green

6.5.1.1. ผสมสี Malachite green ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในตำรับน้ำตาเทียมปริมาตร 10 มิลลิลิตร

6.5.1.2. ใช้กระต่ายขาว ตาสีแดง สภาพของตาทั้งสองข้างปกติ

- 6.5.1.3. หยดสารผสมลงในตากระต่าย
ข้างขวา 1 หยด ข้างซ้ายใช้เป็น
ตัวควบคุม
- 6.5.1.4. สังเกตการแผ่กระจายของสีและ
การติดในตาทุก 10 นาที
- 6.5.2. การทดสอบโดยใช้ Pilocarpine
 - 6.5.2.1. ผสม Pilocarpine ลงในตำรับ
น้ำตาเทียมจากโคโคซานให้มี
ความเข้มข้น 1%
 - 6.5.2.2. นำสารผสมในข้อ 6.5.2.1 มา
หยอดตากระต่ายข้างซ้าย 1
หยด และใช้ตาข้างขวาเป็นตัว
ควบคุม (สำหรับเปรียบเทียบผล)
 - 6.5.2.3. จับเวลาที่ม่านตาของกระต่ายหด
โดยการสังเกตทุก 15 นาที
 - 6.5.2.4. ทดลองเปรียบเทียบกับตำรับ
ควบคุมโดยผสม Pilocarpine ลง
ในน้ำเกลือที่ใช้สำหรับตาให้มีความ
เข้มข้น 1% และ ทำการ
ทดลองเช่นเดียวกับตำรับทดลอง
 - 6.5.2.5. ทดลองเปรียบเทียบกับน้ำตา
เทียมที่มีจำหน่ายทั่วไป
 - 6.5.2.6. บันทึกผลระยะเวลาที่ม่านตา
กระต่ายหด
- 6.5.3. การทดสอบโดยใช้ Fluorescene
 - 6.5.3.1. ทำการผสม Fluorescene ลงใน
ตำรับน้ำตาเทียมจากโคโคซาน
ให้มีความเข้มข้น 2%
 - 6.5.3.2. นำสารผสมในข้อ 6.5.3.1 มา
หยอดตากระต่ายข้างซ้าย 1
หยด
 - 6.5.3.3. ทำการผสม Fluorescene ลงใน
น้ำเกลือที่ใช้สำหรับตาให้มีความ
เข้มข้น 2%
 - 6.5.3.4. นำสารผสมในข้อ 6.5.3.3 มา
หยอดตากระต่ายข้างขวา 1 หยด
เพื่อใช้เป็นตัวควบคุม

6.5.3.5. จับเวลาที่เห็นการเรืองแสงจาก
ตากระต่าย

6.5.3.6. ทดลองเปรียบเทียบกับน้ำตา
เทียมที่มีจำหน่ายทั่วไป

6.6. การทดสอบความระคายเคืองต่อตา

- 6.6.1. ทดสอบโดยใช้กระต่ายขาว ตาสีแดง ไม่
จำกัดเพศ จำนวน 6 ตัว
- 6.6.2. หยดน้ำตาเทียมลงในตาข้างขวา 1 หยด
ส่วนตาข้างซ้ายใช้เป็นตัวควบคุม
- 6.6.3. ตรวจดูอาการและลักษณะผิดปกติของ
กระจกตา (cornea) เยื่อตาขาว
(conjunctiva) และม่านตา (iris)
หลังจากหยดน้ำตาเทียมแล้วเป็นเวลา
24 ชั่วโมง ตามหลักเกณฑ์การทดสอบ
การระคายเคืองต่อตาสำหรับชมพู
มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.
162-2541

6.7. การศึกษาถึงผลของการทำไร่เชื้อต่อ ความคงสภาพของน้ำตาเทียม

- 6.7.1. ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพโดยการ
วัดความหนืดของน้ำตาเทียมที่เตรียม
ให้มีความเข้มข้น 0.3 – 1.0 % w/v
ก่อนการทำไร่เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้
แรงดัน (autoclave) และภายหลังจาก
ทำไร่เชื้อ
- 6.7.2. ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก
ตะกอนที่เหลือหลังจากการระเหยแห้ง
น้ำตาเทียมก่อนการทำไร่เชื้อโดยใช้
หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน (autoclave) และ
ภายหลังจากทำไร่เชื้อ
 - 6.7.2.1. ชั่งน้ำตาเทียมก่อนการทำไร่เชื้อ
และ ภายหลังจากทำไร่เชื้อ ให้มี
น้ำหนักประมาณ 50 กรัม (ทราบ
น้ำหนักแน่นอน) ลงในบีกเกอร์
ขนาด 150 มิลลิลิตร
 - 6.7.2.2. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้าจนมี
ปริมาตรเหลือเพียงเล็กน้อย

6.7.2.3. นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ

50 °C นาน 24 ชั่วโมง

6.7.2.4. ชั่งน้ำหนักตะกอนที่เหลือ

6.7.2.5. คำนวณหา % ตะกอนที่เหลืออยู่

6.8. การศึกษาความคงสภาพของน้ำตาเทียมภายใต้สภาวะเร่ง

6.8.1. เก็บน้ำตาเทียมไว้ในที่อุณหภูมิห้อง , ในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 45 °C และในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4-8 °C

6.8.2. ศึกษาลักษณะทางกายภาพ และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เวลา 15, 30 และ 60 วัน

6.9. การศึกษาผลของความเข้มข้นของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

6.9.1. เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.1-1.0 % ละลายด้วย lactic acid 1%

6.9.2. ทดสอบการยับยั้งการเจริญกับเชื้อ *S. aureus*, *E. coli* และ *Ps. aeruginosa*

7. ผลการทดลอง

7.1. ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของไคโตซานเจล

ไคโตซานเจลที่ความเข้มข้น 1% (w/v) สามารถละลายได้สมบูรณ์ในกรดอะซิติก และกรดแลกติก ซึ่งมีความเข้มข้น 1% มีลักษณะเป็นเจลสีเหลืองอ่อนใส และค่อนข้างหนืด (ดังแสดงในตารางที่ 4) แต่สำหรับกรดอะซิติกจะมีกลิ่นเปรี้ยว ฉุน ซึ่งเป็นกลิ่นของกรดอะซิติกซึ่งจะทำให้ไม่น่าใช้ในตำรับน้ำตาเทียมจึงเลือกใช้กรดแลกติกเป็นตัวทำละลายสำหรับใช้ในการทำวิจัยต่อไป

7.2. ผลการพัฒนาตำรับน้ำตาเทียมจากไคโตซานเจล

7.2.1. ผลการศึกษาความเข้มข้นของไคโตซานในตำรับน้ำตาเทียม

ในการทดลองเตรียมน้ำตาเทียมที่มีความเข้มข้นของไคโตซาน 0.3-1.0 % (w/v) และนำมาศึกษาสมบัติทางกายภาพ พบว่ามีลักษณะใส ไม่มีสี ไม่เกิดตะกอน มีความหนืดอยู่ในช่วง 3.25 ถึง 14.4 cP และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของตำรับน้ำตาเทียมอยู่ระหว่าง 4.955 ถึง 5.293 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) จะลดลงในตำรับน้ำตาเทียมที่มีความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าตำรับน้ำตาเทียมที่มีความเข้มข้นของไคโตซานสูงจะมีผลทำให้น้ำตาเทียมมีความหนืดสูงและมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ต่ำ ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่เหมาะสมในการเตรียมน้ำตาเทียมคือทำให้เกิดการเหนียวเหนอะตาและอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตาได้ จึงตัดสินใจลดความเข้มข้นของไคโตซานให้ต่ำลงเหลือ 0.1% w/v เพื่อนำมาพัฒนาต่อไป

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของไคโตซานเจล

ตำรับที่	ลักษณะทางกายภาพ	กลิ่น	ความเป็นกรด-ด่าง	ลักษณะความหนืด
1	เจลสีเหลืองอ่อน ใส	เปรี้ยว ฉุน	4	ไหลค่อนข้างช้า
2	เจลสีเหลืองอ่อน ใส	ไม่มีกลิ่น	4	ไหลค่อนข้างช้า

7.2.2. ผลการศึกษาการเลือกใช้ระบบ

บัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในตำรับน้ำตาเทียม

ระบบบัฟเฟอร์ที่ทดลอง คือ อะซิเตท บัฟเฟอร์ (Acetate buffer), ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) และ บอเรต บัฟเฟอร์ (Borate buffer) ตามตำรับที่ 3 – 5 ซึ่งผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 5 พบว่าระบบบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ บอเรต บัฟเฟอร์ (Borate buffer) ซึ่งให้ลักษณะทางกายภาพของน้ำตาเทียมที่ดี ไม่เกิดตะกอน และไม่มีการฉุน รวมทั้งยังสามารถเตรียมได้ง่ายตามสูตรของระบบ Feldman ophthalmic buffer

ตารางที่ 5 ผลการทดลองเจือจางโคโตซานเจลด้วยระบบบัฟเฟอร์ต่าง ๆ

ตำรับที่	ระบบบัฟเฟอร์	ลักษณะที่สังเกตได้	กลิ่น	pH
3	อะซิเตท บัฟเฟอร์	สารละลายใส ไม่เกิดตะกอน	เปรี้ยว ฉุน	5.25
4	ฟอสเฟต บัฟเฟอร์	เกิดตะกอนสีขาว สารละลายขุ่น	ไม่มีกลิ่น	6
5	บอเรต บัฟเฟอร์	สารละลายใส ไม่เกิดตะกอน	ไม่มีกลิ่น	3.55

7.2.3. ผลการศึกษาการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสมในตำรับน้ำตาเทียม

การทดลองตำรับที่ 6 – 11 ทำเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำตาเทียมให้เหมาะสม พบว่าการใช้บอเรตบัฟเฟอร์ ที่เตรียมให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.2 (ตำรับที่ 9) จะทำให้ได้น้ำตาเทียมที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ใกล้เคียง 6 ซึ่งเหมาะสมที่สุดสำหรับตำรับน้ำตาเทียมจากโคโตซานเนื่องจาก ณ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 นั้นเป็นจุดสูงสุดที่โคโตซานยังสามารถคงสภาพในรูปสารละลายไว้ได้ในตำรับ ซึ่งถ้าค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำตาเทียมจากโคโตซานสูงกว่านี้จะทำให้เกิดการไม่ละลาย และเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโคโตซานซึ่งจะส่งผลให้ตำรับน้ำตาเทียมขุ่น ดังนั้นตำรับที่ 9 จึงเป็นตำรับที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเตรียมเป็นน้ำตาเทียมต่อไป

7.2.4. ผลการศึกษาขั้นตอนการเตรียมน้ำตาเทียมจากโคโตซาน

จากการทดลองเตรียมน้ำตาเทียมตามขั้นตอนดังกล่าว นั้น พบว่าสามารถเตรียมน้ำตาเทียมได้ และสอดคล้องกับการผลิตจริงในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตยา ซึ่งจะใช้วิธีการเตรียมโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) โดยขั้นตอนการผลิตจะนำน้ำตาเทียมที่เตรียมเสร็จแล้วไปทำไรซ์เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้ความดัน ที่ 121° C นาน 20 นาที จากนั้นจึงนำมารองผ่าน 0.22 µ membrane filter ก่อนการบรรจุลงขวดยาตาพลาสติก

ตารางที่ 6 ผลการทดลองปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของตำรับน้ำตาเทียม

ตำรับที่	pH ของบัฟเฟอร์	ลักษณะทางกายภาพ	pH ของน้ำตาเทียม	ลักษณะทางกายภาพหลัง Autoclave
6	6.0	สารละลายใส	3.57	สารละลายใส
7	7.0	สารละลายใส	5.11	สารละลายใส
8	7.1	สารละลายใส	5.61	สารละลายใส
9	7.2	สารละลายใส	5.97	สารละลายใส
10	7.3	สารละลายใส	6.64	เกิดตะกอนขุ่นขาว
11	7.4	สารละลายใส	6.74	เกิดตะกอนขุ่นขาว

7.3. ผลการทดสอบคุณสมบัติและประสิทธิภาพของน้ำตาเทียม

7.3.1. ลักษณะทางกายภาพของน้ำตาเทียม

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของน้ำตาเทียมจากโคโตซานพบว่า มีลักษณะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นน้ำตาเทียมโดยมีลักษณะใส ไม่มีสี มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 6 และมีค่า Osmolarity ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำตาปกติ รวมทั้งพบว่าให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกับน้ำตาเทียมที่จำหน่ายทั่วไป ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำตาเทียม

คุณสมบัติทางกายภาพ	น้ำตาเทียมจากโคโตซาน	TEARS NATURALE II TM
ลักษณะภายนอก	สารละลายใส ไม่มีสี	สารละลายใส ไม่มีสี
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	6	7
ความหนืด (cP)	-	6.74
Osmolarity (mOsm/L)	295	-

7.3.2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการแผ่กระจายและระยะเวลาของการติดในดวงตาของน้ำตาเทียม

ในการทดสอบประสิทธิภาพของการแผ่กระจาย และระยะเวลาการติดในดวงตาจะทำการทดลองในกระต่าย ซึ่งมีการทดลองใช้ตัวบ่งชี้ 3 ชนิด คือ สี Malachite green , สี fluorescene และ pilocarpine พบว่าจากการทดลองโดยใช้สี Malachite

green ผสมลงในตำรับน้ำตาลเทียม แล้วนำไปหยดลงในตากระต่ายนั้นไม่สามารถมองเห็นสีเขียวของ Malachite green ในตากระต่ายจึงไม่สามารถนำมาวัดผลได้ ส่วนการทดลองโดยใช้ fluoresceine นั้นสามารถสังเกตเห็นการเรืองแสงในตากระต่ายและสามารถจับเวลาได้เช่นเดียวกับการใช้ pilocarpine ที่สามารถสังเกตผลของระยะเวลาการหดตัวของม่านตา

จากการทดลองพบว่าทั้งวิธีการทดลองโดยใช้ fluoresceine และ pilocarpine ให้ผลการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ สามารถเพิ่มระยะเวลาในการคงอยู่ของสีหรือระยะเวลาการหดของม่านตาเมื่อเทียบกับตำรับควบคุม (ตารางที่ 8 และ 9) และตำรับน้ำตาลเทียมในท้องตลาด

ตารางที่ 8 การทดสอบระยะเวลาที่ม่านตากระต่ายหดโดยใช้ Pilocarpine

ตำรับที่ทดสอบ	ระยะเวลาที่ม่านตาหด (นาที)			
	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	เฉลี่ย
ตำรับควบคุม	105 - 120	120 - 135	120 - 135	115 -130
น้ำตาลเทียมจากโคโคซาน	150 -165	210 - 225	225 -240	195 -210
น้ำตาลเทียมที่จำหน่ายทั่วไป	120 - 135	105 - 120	90 - 105	105 -120

ตารางที่ 9 การทดสอบระยะเวลาที่เห็นการเรืองแสงจากตากระต่ายโดยใช้ Fluoresceine

กระต่ายตัวที่	ระยะเวลาที่เห็นการเรืองแสงจากตากระต่าย (นาที)			
	น้ำตาลเทียมจากโคโคซานเจล		น้ำตาลเทียมที่จำหน่ายทั่วไป	
	ตาซ้าย	ตาขวา (control)	ตาซ้าย	ตาขวา (control)
1	15.23	3.18	-	-
2	14.39	2.25	-	-
3	18.07	4.13	-	-
4	-	-	13.57	3.38

7.4. ผลการทดสอบความระคายเคืองต่อตา

จากการทดสอบในกระต่ายตามหลักเกณฑ์การทดสอบการระคายเคืองต่อตาสำหรับแฮมพู มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 162-2541 พบว่าตำรับ

น้ำตาลเทียมจากโคโคซานไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตา ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การให้คะแนนในการตรวจดูอาการและลักษณะผิดปกติของตากระต่ายในการทดสอบความระคายเคือง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

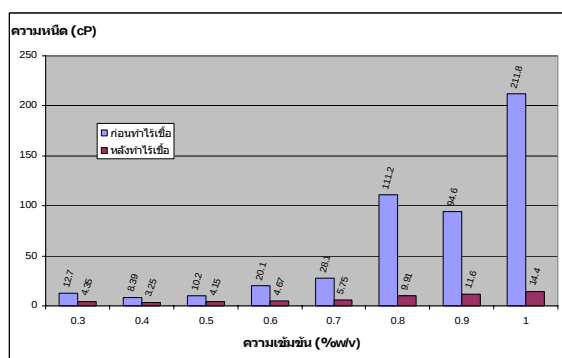
ลักษณะที่ตรวจสอบ	คะแนน					
	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 6
1. กระจุกตา						
1.1 ความขุ่น	0	0	0	0	0	0
1.2 เนื้อที่กระจุกตาขุ่น	0	0	0	0	0	0
2. ม่านตา	0	0	0	0	0	0
3. เยื่อตาขาว						
3.1 ความแดง	0	0	0	0	0	0
3.2 การบวมน้ำ	0	0	0	0	0	0
3.3 การเกิดหนอง	0	0	0	0	0	0

7.5. ผลการศึกษาถึงผลของการทำให้เชื้อต่อความคงสภาพของน้ำตาลเทียม

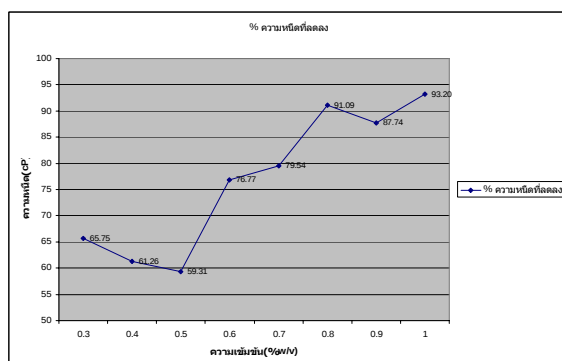
ทำการทดสอบคุณสมบัติของน้ำตาลเทียมโดยการวัดความหนืดก่อนการทำให้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดันและภายหลังการทำให้เชื้อของน้ำตาลเทียมที่เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.3 – 1.0 % (w/v) พบว่าหลังจากการทำให้เชื้อด้วยวิธีดังกล่าวนั้น ความหนืดของตำรับน้ำตาลเทียมจะลดลงอย่างมากและไม่เป็นสัดส่วนคงที่ ซึ่งการลดลงของความหนืดของตำรับน้ำตาลเทียมนั้น คาดว่าจะเกิดจากพันธะของพอลิเมอร์ถูกทำลายด้วยความร้อน ส่งผลให้สายโซ่พอลิเมอร์สั้นลงและทำให้ความหนืดลดลง และพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดที่ลดลงกับความเข้มข้นนั้นไม่เป็นไปตามเชิงเส้น กล่าวคือ การลดลงของความหนืดไม่เป็นสัดส่วนคงที่ และจะพบว่าที่ความเข้มข้นสูง ๆ นั้นความหนืดจะมีค่าลดลงมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ (ดูรูปที่ 1 และ 2) สำหรับการทดสอบโดยการระเหยแห้งน้ำตาลเทียมก่อนการทำให้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดันและภายหลังการบรรจุ พบว่าเปอร์เซ็นต์ (%) ของน้ำหนักตะกอนที่เหลือมีค่าต่างกัน 0.06 % (ในตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 การหาน้ำหนักตะกอนภายหลังจากการระเหยแห้ง

น้ำหนัก (กรัม)	น้ำตาเทียมจากโคโตซาน	
	ก่อนการทำให้เชื้อ	ภายหลังการทำให้เชื้อ
น้ำหนักบีกเกอร์	50.8368	49.2640
น้ำหนักบีกเกอร์ + น้ำตาเทียม	100.8340	99.2690
น้ำหนักน้ำตาเทียม	49.9972	50.0050
น้ำหนักบีกเกอร์ + ตะกอน	51.5900	49.9891
น้ำหนักตะกอน	0.7532	0.7251
% น้ำหนักตะกอน	1.51 %	1.45 %



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (%w/v) กับความหนืด ที่ก่อนทำให้เชื้อและหลังทำให้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน (autoclave)



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (%w/v) กับ %ความหนืดที่เปลี่ยนแปลงลดลง ภายหลังการทำให้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งภายใต้แรงดัน

7.6. ผลการศึกษาความคงสภาพของน้ำตาเทียมภายใต้สภาวะแรง

หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำตาเทียมที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่า ลักษณะทางกายภาพมีลักษณะเหมือนเดิม คือเป็นสารละลายใส ไม่เกิดตะกอน สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเก็บไว้ที่ 4 °C จะมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาที่เก็บ แต่ที่ 45 °C ดำริบยังคงอยู่ในสภาพที่ดีโดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงมากนัก ดังนั้นจึงสามารถเก็บรักษา น้ำตาเทียมได้ในอุณหภูมิห้องไม่จำเป็นต้องเก็บในตู้เย็น

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์น้ำตาเทียมหลังจากเก็บภายใต้สภาวะแรง

สภาวะ	ลักษณะทางกายภาพ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
อุณหภูมิห้อง	สารละลายใส	5.743	5.801	5.837	5.794
4 °C					
15 วัน	สารละลายใส	5.822	5.840	5.833	5.832
30 วัน	สารละลายใส	5.839	5.881	5.882	5.867
60 วัน	สารละลายใส	5.873	5.924	5.939	5.912
45 °C					
15 วัน	สารละลายใส	5.765	5.810	5.810	5.795
30 วัน	สารละลายใส	5.803	5.824	5.828	5.818
60 วัน	สารละลายใส	5.712	5.731	5.738	5.727

7.7. ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของโคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของโคโตซานที่ความเข้มข้น 0.1 – 1.0 % (w/v) โดยทดสอบกับเชื้อ 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureas*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* จากการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 13 พบว่าสารละลายโคโตซานเจลงในกรดแลกติก 1% ทุกความเข้มข้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureas* ได้เท่า ๆ กัน แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ตารางที่ 13 ผลของไคโตซานเจลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ความเข้มข้น (%)	Zone size (mm) ครั้งที่ 1			Zone size (mm) ครั้งที่ 2		
	S. aureus	E. coli	Ps. aeruginosa	S. aureus	E. coli	Ps. aeruginosa
0.1	20	No	No	18	No	No
0.2	18	No	No	16	No	No
0.3	22	No	No	19	No	No
0.4	21	No	No	20	No	No
0.5	21	No	No	18	No	No
0.6	20	No	No	19	No	No
0.7	18	No	No	22	No	No
0.8	18	No	No	20	No	No
0.9	20	No	No	22	No	No
1.0	19	No	No	20	No	No
1% Lactic	20	No	No	21	No	No

S. aureus = Staphylococcus aureus ATCC 25923

E. coli = Escherichia coli ATCC25922

Ps. aeruginosa = Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

8. สรุปผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลการทดลองตั้งตำรับน้ำตาเทียมจากไคโตซานเจลงพบว่าตำรับน้ำตาเทียมที่เหมาะสมที่สุดประกอบด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.1% w/v ละลายใน 1% กรดแลกติก และเจือจางด้วยบอเรนดัมเฟออร์ ที่เตรียมให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.2 ซึ่งจะได้ตำรับน้ำตาเทียมที่มีลักษณะใส ไม่มีสี มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6 และมีค่า Osmolarity ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำตาปกติ และจากการศึกษาการแผ่กระจายและยึดติดตาในกระต่าย พบว่าน้ำตาเทียมจากไคโตซานจะเพิ่มระยะเวลาการคงอยู่ในตาได้นานขึ้น และไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตา ผลการเก็บน้ำตาเทียมที่สภาวะเร่งแสงแสดงให้เห็นว่าสามารถเก็บน้ำตาเทียมที่อุณหภูมิห้องได้ โดยไม่จำเป็นต้องเก็บในที่เย็น เพราะมีความคงสภาพดีที่อุณหภูมิห้อง สำหรับการศึกษาถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของไคโตซานพบว่าฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 0.1 – 1.0 % w/v

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการ “โครงการอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาดุษฎี ประจำปี 2003” ที่ให้ทุนอุดหนุนโครงการอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาดุษฎีนี้ และขอขอบคุณ ดร. สุชาติ บันจายสิทธิ์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำตาเทียม

เอกสารอ้างอิง

กฤษณ์ เต็งรุ่งโรจน์ และ เกศินี หงษ์ไส, **ปัจจัยที่มีผล**

ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของไคโตซานเจล, กระบวนปัญหาพิเศษ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544.

พานิ ศิริสะอาด, “**ผลิตภัณฑ์สำหรับตา**”, ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2534.

ภูริวัฒน์ ลีสวัสดิ์, “**Polymers from the sea: chitin & chitosan**”, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2534.

Chan, W.M. **MIMS Thailand**. Volume 31, Number 1 (2002).

Felt, O.; Carrel, A.; Baehni, P.; Buri, P.; Gurny, R. “**Chitosan as tear substitute: a wetting agent endowed with antimicrobial efficacy**”, *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics: the Official Journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, Volume 16, Issue 3, June 2000, Pages 261-270.

Felt, O.; Furrer, P.; Mayer, J. M.; Plazonnet, B.; Buri, P.; Gurny, R. “**Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention**”,

International Journal of Pharmaceutics,

Volume 180, Issue 2, April 15, 1999, Pages
185-193.

Mitra. A.K. in **Ophthalmic Drug Delivery**

Systems, Drugs and the pharmaceutical
sciences, Vol.58, Marcel Dekker, Inc., New
York, 1993

Reynolds, L.A. and Closson, R.G..

Extemporaneous Ophthalmic Preparations.

Applied Therapeutics, USA, 1993.

Vale, J. and Cox, B. in **Drugs and the Eye,**

Butterworths, London, 1978.