

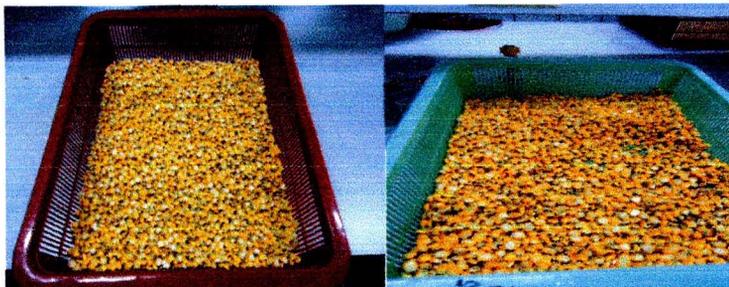
## บทที่ 4

### ผลการวิจัย



#### 4.1 การศึกษาการเตรียมพืชตัวอย่าง

จากการศึกษาได้ทำการเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด 2 ตัวอย่างจากแหล่งตำบลท่างาม อำเภอวัดโบสถ์ จังหวัดพิษณุโลก



ข้าวโพดพันธุ์ A

ข้าวโพดพันธุ์ B

รูปที่ 4.1 แสดงตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด 2 สายพันธุ์

#### 4.2 ผลของการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยวิธีการสกัด

##### แบบ Soxhlet extraction

จากการสุ่มตัวอย่างคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดที่นิยมปลูกในเขตพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก มาจำนวน 2 สายพันธุ์ นำเมล็ดข้าวโพดไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง และบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด นำไปแช่ด้วยน้ำกลั่น ปิดฝาให้สนิทแช่เป็นเวลา 3 วัน

แยกต้นอ่อน (germ) ที่ลอยอยู่ด้านบนนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำไปสกัดด้วย hexane โดยใช้เครื่อง Soxhlet extraction เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บน้ำมันที่ได้ใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดสนิท นำน้ำมันที่ได้นำมาคำนวณหาค่า %yield ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงขั้นตอนของการสกัดโดยวิธีการสกัดแบบ Soxhlet extraction สกัดด้วยตัวทำ

ละลาย Hexane

ระบบ	อุณหภูมิ (°C)	รอบ	เวลา (นาที)
Step 1	110	20	120
Step 2	100	10	10
Step 3	100	10	10

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า %yield ของน้ำมันที่สกัดได้จากตัวอย่างข้าวโพด

พันธุ์ข้าวโพด	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)	% yield	ลักษณะของน้ำมัน (สี)
A	1000.1	1.0506	0.1050	เหลืองอมส้ม
B	1000.4	1.3627	0.1362	เหลืองอมส้ม



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะน้ำมันที่สกัดได้บรรจุในขวดเก็บสาร



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะน้ำมันที่ผ่านผงถ่านแอกติเวทชาร์โคล

#### 4.3 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

การทดสอบคุณสมบัติของน้ำมันข้าวโพดที่สกัดได้ ดังแสดงผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

พันธุ์	เปอร์เซ็นต์	ค่าความหนืด	ปริมาณ	ลักษณะของน้ำมัน
ข้าวโพด	Transmittance	(กก./ตร.ซม.)	Gum	(สี)
A	60.49	4.62	2.18	เหลืองอมส้ม
B	61.19	4.69	2.65	เหลืองอมส้ม

#### 4.4 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันที่สกัดได้ โดยทำการวัดค่า Iodine Value, Saponification Value และ Unsaponifiable Matter ของน้ำมันที่สกัดได้

ตารางที่ 4.4 ค่า Iodine value, Saponification value และ Unsaponifiable matter ของน้ำมัน

พันธุ์ข้าวโพด	Iodine value	Saponification value	Unsaponifiable matter (%)
A	74.57	201.13	2.51
B	54.82	203.07	1.31

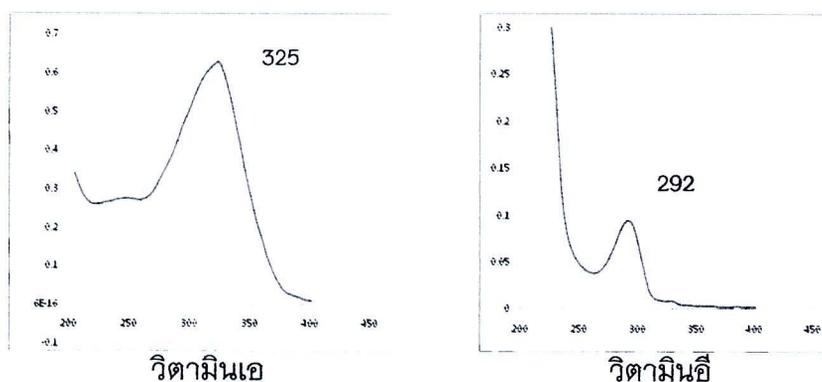
ตารางที่ 4.5 ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันข้าวโพด 2 สายพันธุ์

ส่วนประกอบของไขมันอิสระ (%)	พันธุ์ข้าวโพด A	พันธุ์ข้าวโพด B
<u>Saturated Fatty Acid (SFA)</u>		
Arachidic Acid	Trace	Trace
Palmitic Acid	31.80	32.17
Stearic Acid	0.72	0.71
Myristic Acid	Trace	Trace
<u>Monounsaturated Fatty Acid (FA)</u>		
Oleic Acid	42.40	36.76
Palmitoleic Acid	11.51	13.25
<u>Polyunsaturated Fatty Acid</u>		
Arachidonic Acid	Trace	Trace
Linoleic Acid	13.15	16.41
Linolenic Acid	0.60	0.82
Total Saturated FA (SFA)	32.52	32.88
Total unsaturated FA (UFA)	67.66	67.24
UFA/SFA	2.08	2.05

#### 4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี จากน้ำมันข้าวโพดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

##### 4.5.1 ผลการวิเคราะห์ความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี

จากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี ที่ความเข้มข้นเป็น 10 mg/L แล้วนำสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer แล้วบันทึกค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-700 nm พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานวิตามินเอ มีค่าเท่ากับ 325 nm และสารละลายมาตรฐานวิตามินอี มีค่าเท่ากับ 292 นาโนเมตร ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.4

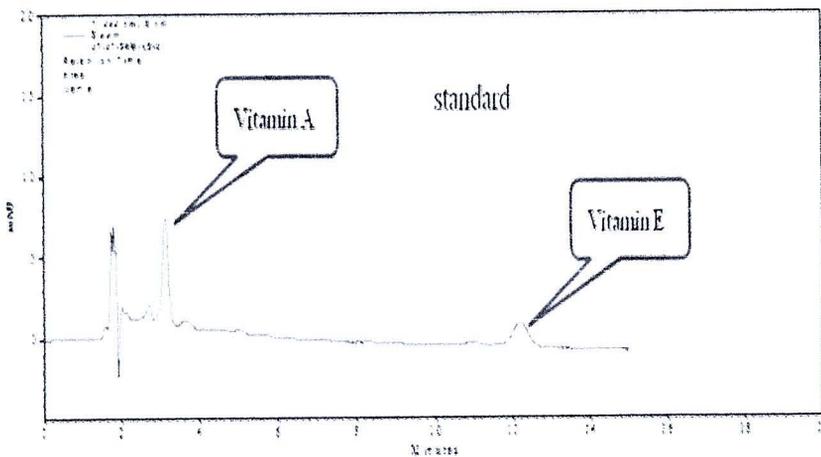


รูปที่ 4.4 แสดงความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงของวิตามินเอและวิตามินอี

#### 4.5.2 ผลการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่และสัดส่วนที่เหมาะสม

##### 4.5.2.1 การศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่

ระบบที่ 1 เมื่อนำ เมทานอลกับน้ำ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ Isocratic elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่ เป็น 90:10 อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 325 และ 292 nm ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20  $\mu$ L โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินเอและวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 mg/L ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลกับน้ำ ในระบบ Isocratic elution

ระบบที่ 2 เมื่อนำ เอทานอลกับน้ำ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ gradient elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่แสดงดังตารางที่ 4.5 อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm ตรวจวัดวิตามินเอและวิตามินอี ที่ความยาวคลื่น 325 และ 292 nm ตามลำดับ ปริมาตรสารละลายที่

ฉีดเท่ากับ 20  $\mu$ L โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินเอและวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 mg/L ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.6 (ก)

จากโครมาโทแกรมที่แสดงในรูปที่ 4.6 (ก) พบว่าการฉีดสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี สามารถแยกวิตามินเอออกได้แต่ไม่สามารถแยกวิตามินอีได้ ทำให้ไม่สามารถนำระบบนี้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้

ระบบที่ 3 เมื่อนำ อะซิโตไนโตรลกับน้ำ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ gradient elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่แสดงดังตารางที่ 4.6 อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm ตรวจวัดวิตามินเอและวิตามินอี ที่ความยาวคลื่น 325 และ 292 nm ตามลำดับ ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20  $\mu$ L โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินเอและวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 mg/L ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.6 (ข)

จากโครมาโทแกรมที่แสดงในรูปที่ 4.6 (ข) พบว่าการฉีดสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี สามารถแยกวิตามินเอและวิตามินอีออกจากกันได้ดี แต่วิตามินอีใช้เวลาในการแยกออกมาช้า ทำให้ไม่สามารถนำระบบนี้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้

ตารางที่ 4.6 แสดงสัดส่วนเฟสเคลื่อนที่เอทานอลต่อน้ำ

เวลา (นาที)	เอทานอล (%A)	น้ำ (%B)
0.01	85	15
5.01	90	10
15.00	95	5

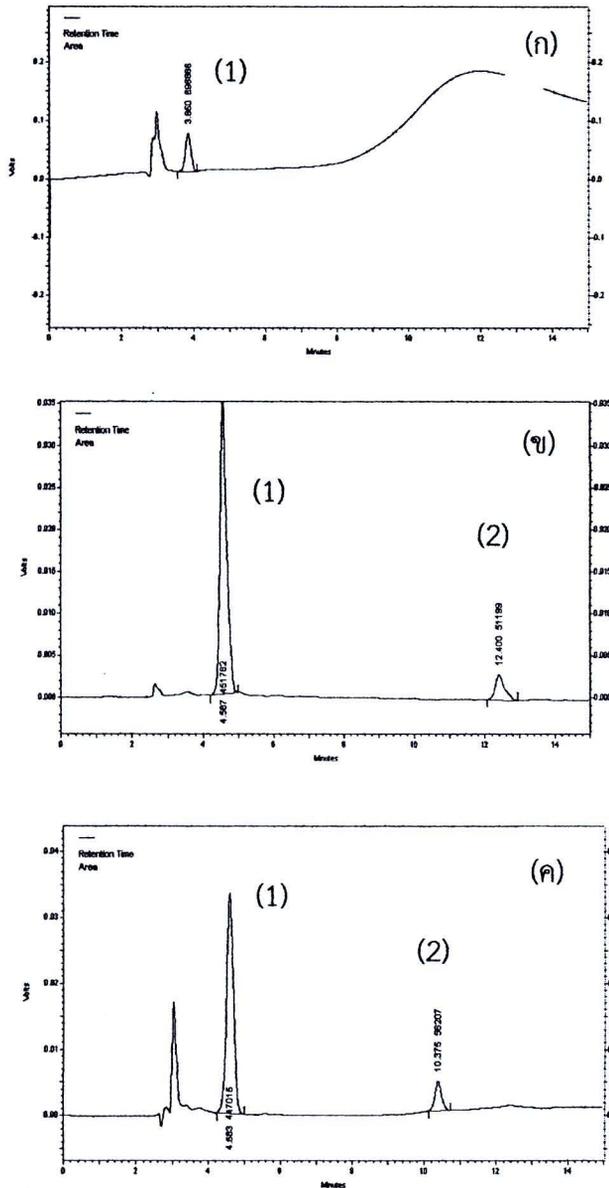
ตารางที่ 4.7 แสดงสัดส่วนเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนโตรล์ต่อน้ำ

เวลา (นาที)	อะซิโตไนโตรล์ (%A)	น้ำ (%B)
0.01	85	15
5.01	90	10
15.00	95	5

ตารางที่ 4.8 แสดงสัดส่วนเฟสเคลื่อนที่เมทานอลต่อน้ำ

เวลา (นาที)	เมทานอล (%A)	น้ำ (%B)
0.01	85	15
5.01	90	10
15.00	95	5





รูปที่ 4.6 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานวิตามินเอ (1) และวิตามินอี (2)

เมื่อใช้ เฟสเคลื่อนที่เป็นเอทานอล (ก) อะซิโตไนไตรล์ (ข) เมทานอล (ค) ในระบบ gradient elution

ระบบที่ 4 เมื่อนำ เมทานอลกับน้ำ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ gradient elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่แสดงดังตารางที่ 4.7 อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm ตรวจวัด

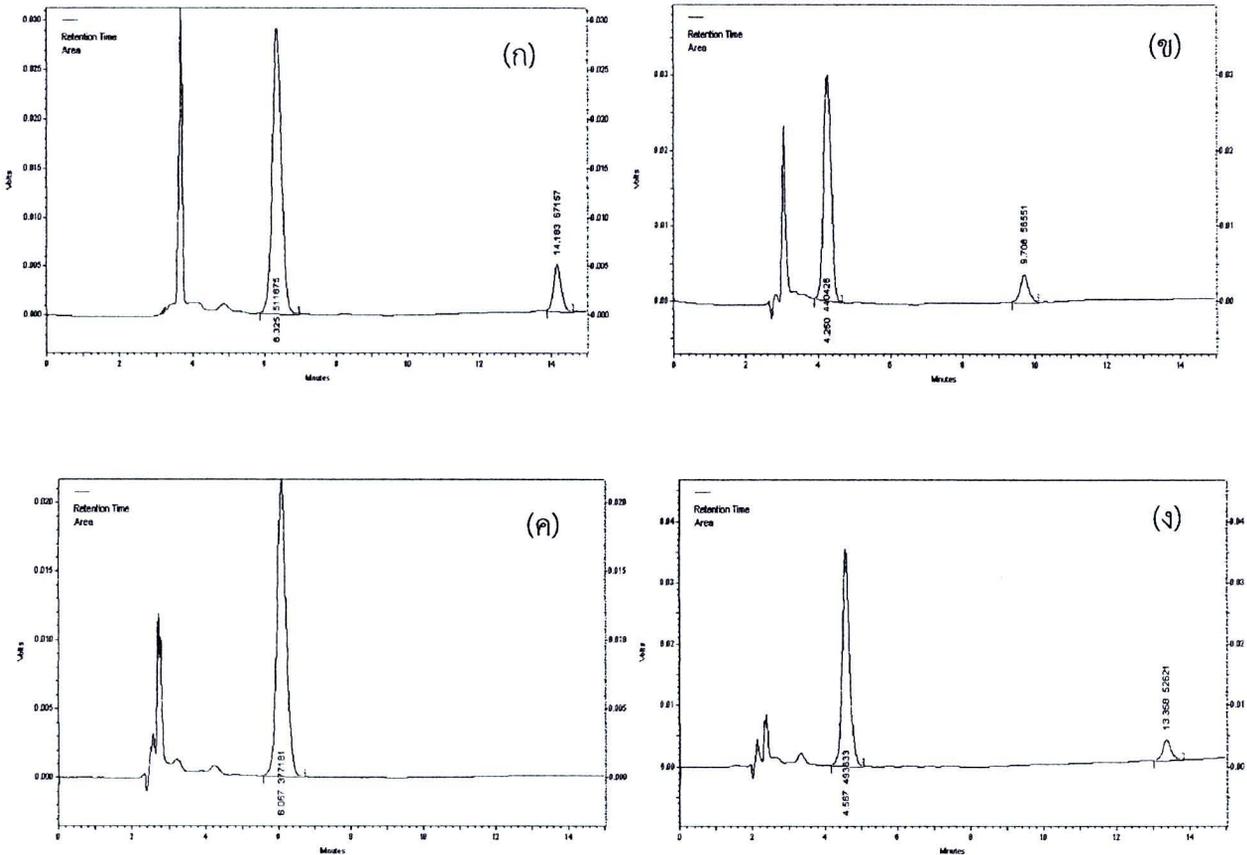
วิตามินเอและวิตามินอี ที่ความยาวคลื่น 325 และ 292 nm ตามลำดับ ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20  $\mu$ L โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินเอและวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 mg/L ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.6 (ค)

จากโครมาโทแกรมที่แสดงในรูปที่ 4.6 (ค) พบว่าการฉีดสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี สามารถแยกวิตามินเอและวิตามินอีออกจากกันได้ดี และใช้เวลาในการแยกที่เหมาะสม ทำให้สามารถเลือกระบบนี้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้

#### 4.5.2.2 การศึกษาอัตราการไหล (flow rate) ที่เหมาะสม

จากการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม เมื่อนำเมทานอลกับน้ำมาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยปรับเปลี่ยนอัตราการไหลเป็น 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm ตรวจวัดวิตามินเอและวิตามินอี ที่ความยาวคลื่น 325 และ 292 nm ตามลำดับ ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20  $\mu$ L โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างวิตามินเอและวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 mg/L

จากการทดลองพบว่า เมื่อลดอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ปรากฏว่าสารทั้ง 2 ชนิดสามารถแยกออกจากกันได้ แต่วิตามินอีจะแยกออกมาช้า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ได้พีคของวิตามินเอและวิตามินอีแยกออกจากกันได้ดี เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าไม่สามารถแยกวิตามินอีออกมาได้ และเมื่อเพิ่มอัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ได้พีคของวิตามินเอและวิตามินอีแยกออกจากกันแต่แยกวิตามินอีออกมาได้ช้า จึงเลือกอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลการทดลองที่เหมาะสมที่สุด โครมาโทแกรมแสดงในรูปที่ 4.7 (ข)



รูปที่ 4.7 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมวิตามินเอและวิตามินอีเมื่อ

ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลต่อน้ำ ที่อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที (ก), 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ข), 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ง)

#### 4.6 ผลการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC สำหรับวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอีในตัวอย่างน้ำมันข้าวโพด

ในการทดลองวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอีด้วยเทคนิค HPLC จากการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ดังนี้

ชนิดคอลัมน์: C8-3 Inersil GL science ขนาด 4.6 mm x 150 mm

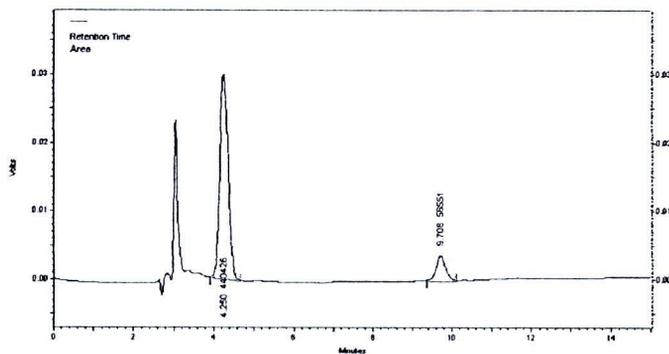
เฟสเคลื่อนที่: ระบบ gradient elution เมทานอล (A) และ น้ำ (B) ดังตารางที่ 4.5

เวลาที่ใช้ทั้งหมด : 15 นาที

อัตราการไหล : 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาตรของสารที่ฉีด : 20 ไมโครลิตร

ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น : 325 และ 292 นาโนเมตร



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี ที่ความเข้มข้น 5 mg/L

จากโครมาโทแกรม รูปที่ 4.7 วิตามินเอมีค่า retention time เท่ากับ 4.290 นาที และ วิตามินอีมีค่า retention time เท่ากับ 9.708 นาที ตามลำดับ ซึ่งพีคของวิตามินเอและวิตามินอี ใช้เวลาในการแยก 15 นาที

#### 4.7 ผลการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (validation method)

##### 4.7.1 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection)

จากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection) เพื่อดู sensitivity ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นภายในวันเดียวและระหว่างวัน

ของสารละลายมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการ  $3.3S.D/s$  เมื่อ S.D คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีควิตามินเอและวิตามินอีตามลำดับ ส่วน s คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.06 mg/L ของวิตามินเอ และ 0.07 mg/L ของวิตามินอี ตามลำดับ

#### 4.7.2 ผลการศึกษาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (limit of quantitation)

จากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (limit of quantitation) เพื่อหาค่าขีดต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นภายในวันเดียวและระหว่างวันของสารละลายมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการ  $10S.D/s$  เมื่อ S.D คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคของวิตามินเอและวิตามินอี ตามลำดับ ส่วน s คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.19 mg/L ของ วิตามินเอ และ 0.20 mg/L ของวิตามินอี ตามลำดับ

#### 4.7.3 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range)

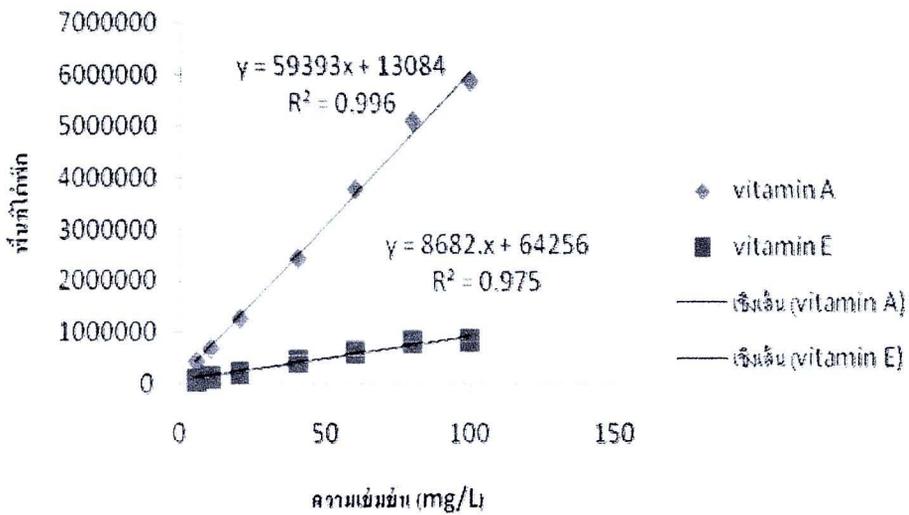
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 1 mg/L ถึง 100 mg/L แล้วดูความเป็นเส้นตรง ได้ข้อมูลดังตารางที่

ตารางที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของวิตามินเอและวิตามินอี

ความเข้มข้น(mg/L)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย	
	วิตามินเอ	วิตามินอี
5	442674	79963
10	698133	135562
20	1273826	225368
40	2444049	447223
60	3787855	626131
80	5111758	821661
100	5866433	848957

ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลาย

มาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี ดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของวิตามินเอและวิตามินอี ในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L

#### 4.7.4 ผลการศึกษาความแม่นยำ ( precision )

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5, 10, และ 20 mg/L ตามลำดับ โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี ให้มีความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/L แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่ ทำการฉีดความเข้มข้นละ 7 ครั้ง เพื่อศึกษา repeatability และ reproductability คำนวณหาค่า S.D และ %R.S.D ของผลการทดลอง ได้ % R.S.D ไม่เกิน 5% จะอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังรายละเอียดผลการทดลองในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงค่า Repeatability และ reproductability สำหรับสารละลายมาตรฐานวิตามินเอและวิตามินอี (n=7)

สารละลาย มาตรฐาน	ความเข้มข้น ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	repeatability	reproductability
		%R.S.D	%R.S.D
retinol	5	2.34	2.02
	10	1.81	1.00
	20	1.48	1.01
$\alpha$ -tocopherol	5	2.16	2.05
	10	1.36	1.21
	20	1.94	1.33

ดังนั้น ผลการศึกษาความแม่นยำ โดยการนำข้อมูลเบื้องต้นมาแปลผลทางสถิติ แล้วได้ค่า % R.S.D ตามตารางที่ 4.10 ซึ่งมีค่า % R.S.D ไม่เกิน 5% ซึ่งยอมรับได้

#### 4.7.5 ผลการศึกษาความถูกต้อง (accuracy)

การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยการหา % recovery ดังรายละเอียดผลการทดลองในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงค่า % recovery ของการศึกษาค่า accuracy ของตัวอย่างน้ำมันข้าวโพด

สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้น (mg/L)		% Recovery (average $\pm$ S.D)
	Added	Found	
retinol	5	5.50 $\pm$ 0.13	109.97 $\pm$ 2.52
	10	10.97 $\pm$ 0.35	109.69 $\pm$ 3.47
	20	22.15 $\pm$ 0.26	110.73 $\pm$ 1.73
	30	34.30 $\pm$ 0.23	114.30 $\pm$ 1.15
$\alpha$ -tocopherol	5	5.31 $\pm$ 0.13	106.16 $\pm$ 2.52
	10	8.82 $\pm$ 0.35	88.22 $\pm$ 3.47
	20	19.83 $\pm$ 0.26	99.16 $\pm$ 1.73
	30	30.14 $\pm$ 0.23	100.45 $\pm$ 1.15

จากผลการทดลองตัวอย่างน้ำมันข้าวโพดโดยการเติมสารมาตรฐานลงไปในตัวอย่งใน ความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 30 mg/L ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์แล้วนำค่าได้พิก มาทำการแปลผลทางสถิติโดยการหาค่า % recovery ได้ไม่เกิน  $\pm 5\%$  จึงจะยอมรับได้ จากตารางที่ 4.11 ค่า % recovery ของแต่ตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้มี % recovery ไม่เกิน  $\pm 5\%$  ดังนั้น วิธีนี้จึงยอมรับได้

#### 4.7.6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี ในน้ำมันข้าวโพดทั้งสองสายพันธุ์

โดยใช้เทคนิค HPLC รายละเอียดดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี ด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้น

จากสมการช่วงความเข้มข้น 5-40 mg/L

วิตามินเอ (retinol) :  $y = 62321x$      $R^2 = 0.989$

วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) :  $y = 11366x$      $R^2 = 0.986$

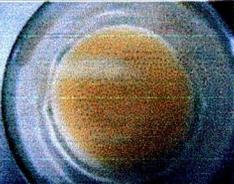
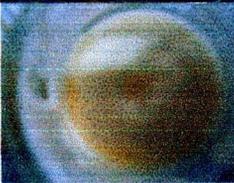
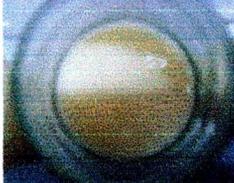
ตัวอย่างน้ำมัน ข้าวโพด	ปริมาณที่ตรวจพบ	
	Retinol ( $\mu\text{g/g}$ )	$\alpha$ -tocopherol ( $\mu\text{g/g}$ )
พันธุ์ A	0.27	12.80
พันธุ์ B	0.03	10.06

4.8 ผลการเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากน้ำมันข้าวโพดและศึกษาความคงสภาพของวิตามินเอ และวิตามินอีในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

4.8.1 การเตรียมครีมและโลชั่นทาผิวจากน้ำมันข้าวโพดที่สกัดได้ตามสูตรต่าง ๆ ได้ลักษณะ

เนื้อโลชั่นและครีมดังแสดงดังตารางที่ 4.13 และ รูปที่ 4.11 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.13 แสดงลักษณะเนื้อโลชั่นจากการเตรียมในสูตรต่าง ๆ

สูตร	เนื้อครีม	ลักษณะเนื้อครีม
1		เนื้อเนียนมีความมันวาว
2		เนื้อไม่เนียนมีความมันวาว
3		เนื้อเนียนมีความมันวาว
4		เหลว
5		เหลว
6		เหลวมาก





รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะเนื้อครีมธรรมดาที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำมันข้าวโพดและเนื้อครีมที่มีส่วนผสมของน้ำมันข้าวโพด

#### 4.8.2 การวัด pH ของครีมและโลชั่น

ชั่งครีมหนัก 1 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 10 ml เติมน้ำกลั่นลงไป 10 ml คนจนละลายให้เข้ากัน แล้ววัด pH โดยใช้ pH meter

ชั่งโลชั่นหนัก 1 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 10 ml เติมน้ำกลั่นลงไป 10 ml คนจนละลายให้เข้ากัน แล้ววัด pH โดยใช้ pH meter

ตารางที่ 4.14 แสดงค่า pH ของโลชั่นและครีม

สูตร	ค่า pH
<u>โลชั่น</u>	
1	7.84
2	7.71
3	7.94
4	7.85
5	7.89
6	8.01
<u>ครีม</u>	
ครีม	7.95
ธรรมชาติ	
ครีมผสม	8.01
<u>น้ำมัน</u>	

4.8.3 ลักษณะทางกายภาพของโลชันหรือครีม

สังเกตดูลักษณะทางกายภาพของครีม ซึ่งได้แก่ สี กลิ่น เนื้อครีม และ การแยกชั้น ดัง

ตารางที่ 4.13

4.8.4 ความคงตัวของตำรับโลชันหรือครีม

ทดสอบความคงตัวของครีมที่เตรียมได้โดยการทดสอบเก็บไว้ที่สภาวะเร่งต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิต่ำ (4-5 °C) อุณหภูมิห้อง (25 °C) และอุณหภูมิสูง (45°C) เป็นเวลา 4 เดือน แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี โดยวิธี HPLC ได้ผลดังรูปที่ 4.10, 4.11 และ 4.12

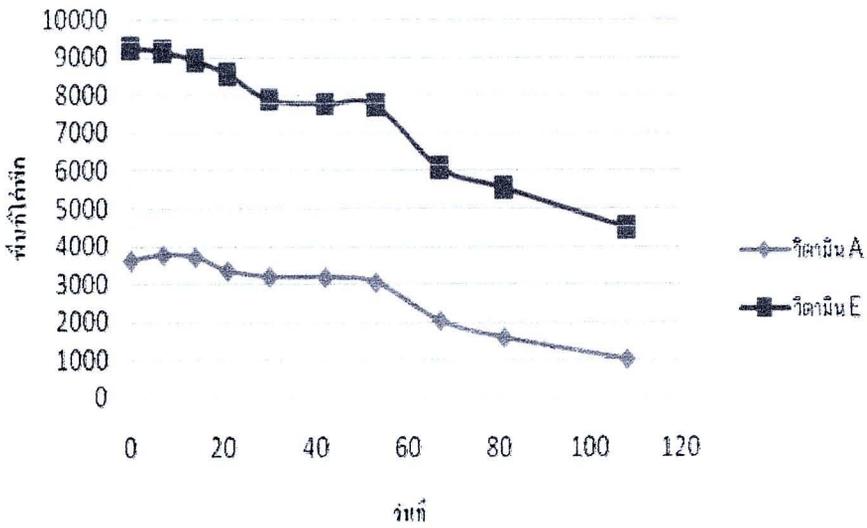
ตารางที่ 4.15 ลักษณะทางกายภาพของโลชันและครีม

ตัวอย่าง	สี	กลิ่น	ความหนืด	ลักษณะเนื้อครีม	การแยกชั้น
โลชันที่ผสม					
น้ำมันข้าวโพด					
สูตร 1	สีเหลือง อ่อน	กลิ่นหอม อ่อน ๆ	ไม่หนืดมาก	เนื้อเนียนมีความ มันวาว	ไม่แยกชั้น
สูตร 2	สีเหลือง อ่อน	กลิ่นหอม อ่อน ๆ	หนืดมาก	เนื้อไม่เนียนมี ความมันวาว	ไม่แยกชั้น
สูตร 3	สีเหลือง อ่อน	กลิ่นหอม อ่อน ๆ	ไม่หนืดมาก	เนื้อเนียนมีความ มันวาว	ไม่แยกชั้น
สูตร 4	สีเหลือง อ่อน	กลิ่นหอม อ่อน ๆ	เหลว	เหลว	ไม่แยกชั้น
สูตร 5	สีเหลือง	กลิ่นหอม	เหลว	เหลว	ไม่แยกชั้น

---

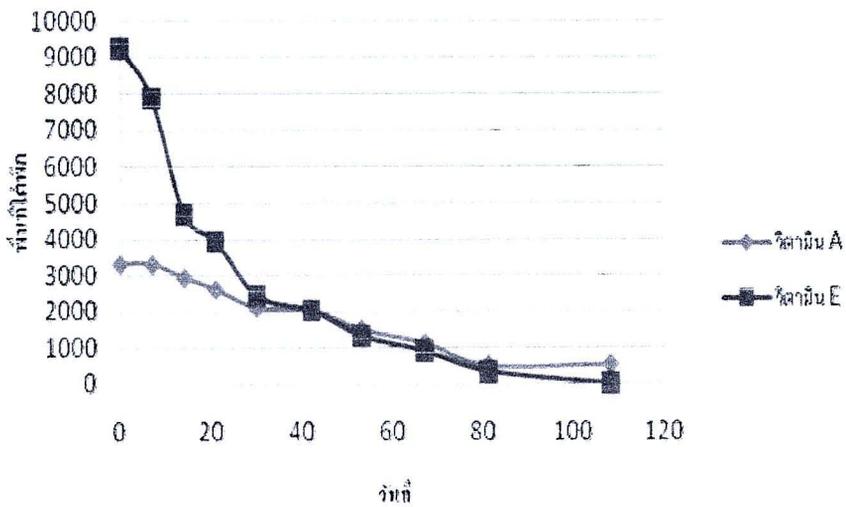
	อ่อน	อ่อน ๆ			
สูตร 6	สีเหลือง	กลิ่นหอม	เหลวมาก	เหลวมาก	ไม่แยกชั้น
	อ่อน	อ่อน ๆ			
ครีม					
ครีมธรรมชาติ	สีขาว	ไม่มีกลิ่น	ไม่หนืดมาก	เนื้อเนียน	ไม่แยกชั้น
ครีมน้ำมัน	สีเหลือง	กลิ่นหอม	ไม่หนืดมาก	เนื้อเนียนมีความ	ไม่แยกชั้น
ข้าวโพด	อ่อน	อ่อน ๆ		มันวาว	

---



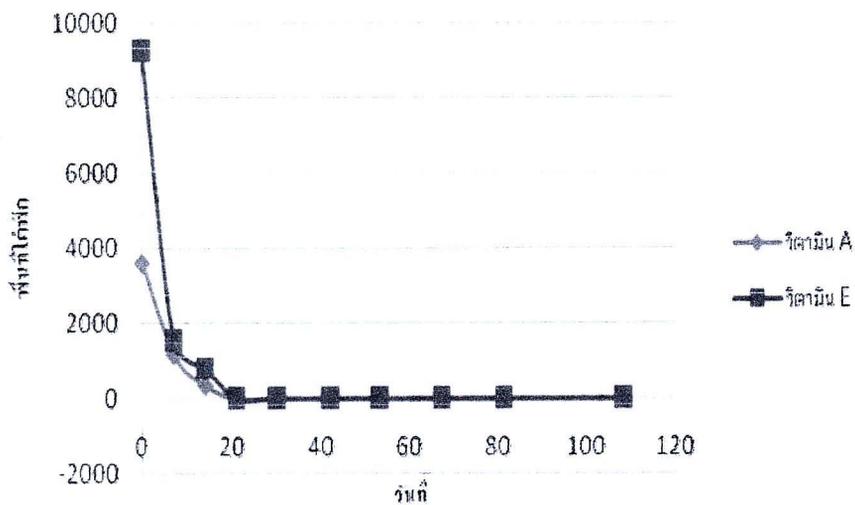
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความคงตัวของวิตามินเอและวิตามินอี ในตัวอย่างครีมจากน้ำมัน

ข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความคงตัวของวิตามินเอและวิตามินอี ในตัวอย่างครีมจากน้ำมัน

ข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 25 °C



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความคงตัวของวิตามินเอและวิตามินอีในตัวอย่างครีมจากน้ำมัน

ข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 45 °C

จากกราฟแสดงความคงตัว จะเห็นว่าปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี ที่วิเคราะห์ได้ในตำรับครีมทาผิวหลังจากเก็บไว้ที่สภาวะต่างๆ ก็ยังคงมีปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี คงเดิม ไม่เปลี่ยนแปลง คือเท่ากับตอนที่เตรียมตำรับครีมเสร็จใหม่ ๆ ภายหลัง 2 เดือนปริมาณ วิตามิน

เอและวิตามินอี ในตำรับครีมทาผิวดังกล่าวที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 4-5 °C ต่อกันไปอีกจนถึงเดือนที่ 4 พบว่าปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี ในตำรับครีมทาผิวมีค่าคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด ในขณะที่เดียวกันได้ทำการทดลองโดยบรรจุครีมทาผิวดังกล่าวในขวดแก้วสีชาวยุโรปใส แล้วเก็บไว้ ณ สภาวะต่างๆ คือที่ 45 °C และอุณหภูมิห้อง พบว่าหลังจากเก็บไว้นาน 1 เดือน ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอี จะลดลงประมาณ 5 % วิตามินเอและวิตามินอีที่ตรวจพบทันทีหลังเตรียมครีมเสร็จ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องบรรจุครีมเก็บไว้ในขวดที่ทึบแสงและเก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 4-5 °C

#### 4.8.5 ประเมินความพึงพอใจในการใช้ครีมทาผิวหรือโลชั่น

ประเมินโดยใช้แบบสอบถาม ถ้ามองจากอาสาสมัครที่ทดลองใช้ครีม โดยสอบถามด้านลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ดูด้วยตาเปล่า ได้แก่ ความเนียนของเนื้อครีม ความชื้นของเนื้อครีม ความมันเงาของเนื้อครีม สี กลิ่น ความรู้สึกขณะที่ใช้ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความง่ายในการเกลี่ย ความหอมของกลิ่น ความลื่น และความรู้สึกหลังใช้ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความหอมของกลิ่น ความเหนอะหนะของผิว ความชุ่มชื้นที่ผิว แสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 แสดงความพึงพอใจเกี่ยวกับลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	ความเนียน	ความชื้น	ความมันเงา	สี	ความหอมของกลิ่น
ครีม	75%	67.5%	72.5%	70%	65%

ตารางที่ 4.17 แสดงความพึงพอใจขณะที่ใช้ผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	ความง่ายในการเกลี่ย	ความหอมของกลิ่น	ความลื่น
ครีม	72.5%	62.5%	67.5%

ตารางที่ 4.18 แสดงความพึงพอใจหลังใช้ผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	ความหอมของกลิ่น	ความเหนอะหนะ	ความชุ่มชื้น
ครีม	70%	70%	60%

จากการประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ โดยสอบถามจากอาสาสมัครที่ทดลองใช้ครีมจำนวน 30 คน พบว่ามีระดับความพึงพอใจอยู่ในช่วง 60-70% ซึ่งความพึงพอใจอยู่ในระดับปานกลางถึงดี

#### 4.8.6 การเตรียมสบู่จากน้ำมันข้าวโพด

สบู่ น้ำมันข้าวโพดที่เตรียมขึ้นมีสีเหลือง กลิ่นหอม เนื้อสบู่นุ่มนวล เมื่อนำไปทดสอบพบว่า มี pH ประมาณ 9 และมีฟองมากพอสมควร เมื่อเตรียมสบู่เสร็จจะต้องเก็บสบู่ไว้ 2-4 สัปดาห์ จึงนำไปถูตัวหรือจำหน่ายได้

ตารางที่ 4.19 ลักษณะทางกายภาพของสบู่ น้ำมันข้าวโพดหลังเตรียมเสร็จ

ตัวรับ	pH	สี	กลิ่น	ความนุ่มนวล	การเกิดฟอง
					เวลาใช้
สบู่ น้ำมันข้าวโพด	9	เหลือง	หอม	เนื้อนุ่มนวล	มากพอสมควร
				ต่อผิวพรรณ	

#### 4.8.7 การเตรียมอาหารเสริมสุขภาพ

ได้ทำการศึกษาความเข้ากันได้ของน้ำมันข้าวโพดกับสารช่วยต่างๆ ได้แก่ peanut oil และ PEG 600 ในอัตราส่วน 1:1 เรียงตามลำดับ และสังเกตดูผลทุก 7 วัน รวม 3 สัปดาห์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 แสดงผลความเข้ากันได้ของน้ำมันข้าวโพดกับเจลลาตินแคปซูลและสารช่วยต่างๆ

ส่วนประกอบของ ลักษณะของแคปซูลเมื่อเวลาผ่านไป			
ตำรับ	7 วัน	14 วัน	21 วัน
Corn oil-7 100%	แคปซูลนิ่ม ตัวยาที่ บรรจุมีสึเขียวอ่อน เป็นเนื้อเดียวกัน	แคปซูลนิ่ม และมีการ ผิดรูป มีน้ำมันเยิ้ม ออกมาด้านนอกของ แคปซูลตัวยาที่บรรจุมีสึ เขียวอ่อนเป็นเนื้อ เดียวกัน	แคปซูลนิ่ม มีการผิด รูปและหลอมติดกัน มีน้ำมันเยิ้มออกมา ด้านนอกของ แคปซูล มีกลิ่นเหม็น หืน ตัวยาที่บรรจุมีสึ เขียวอ่อนเป็นเนื้อ เดียวกัน
Corn oil : peanut oil = 1 : 1	แคปซูลนิ่ม ตัวยาที่ บรรจุมีสึเขียวอ่อนใส มีส่วนที่แยกลอยอยู่	แคปซูลนิ่ม และมีการ ผิดรูป มีน้ำมันเยิ้ม ออกมาด้านนอกของ แคปซูล ตัวยาที่บรรจุมีสึ เขียวอ่อนเป็นเนื้อ เดียวกัน	แคปซูลนิ่ม มีการผิด รูปและหลอมติดกัน มีน้ำมันเยิ้มออกมา ด้านนอกของ แคปซูล มีกลิ่นเหม็น หืน ตัวยาที่บรรจุมีสึ เขียวอ่อนเป็นเนื้อ เดียวกัน
Corn oil : PEG 600	แคปซูลแข็ง ตัวยาที่	แคปซูลแข็ง มีการผิด	แคปซูลแข็ง มีการ

= 1 : 1	บรรมจุมีสีเขียวอ่อน ใส	รูปและการรั่วของตัว	ผิดรูปและการรั่ว
		ยาออกมาด้านนอกของ	ของตัวยาออกมา
		แคปซูล ตัวยาที่บรรมจุมีสี	ด้านนอกของ
	สีเขียวอ่อน ใส		แคปซูล มีกลิ่นเหม็น
			หืน ตัวยาที่บรรมจุมีสี
			เขียวอ่อน ใส

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.20 สรุปได้ว่าไม่สามารถบรรมจุน้ำมันข้าวโพดลงในเจลาตินแคปซูลชนิดแข็งได้โดยตรง และสารเจือจางคือ peanut oil และ PEG 600 ซึ่งเป็นของเหลวก็ไม่สามารถนำมาผสมกับน้ำมันข้าวโพดเพื่อบรรมจลงในแคปซูลได้เช่นกัน เนื่องจากเกิดการนึ่มและผิดรูปของแคปซูล ซึ่งเมื่อทิ้งไว้นานจะเกิดการรั่วซึมของตัวยาออกจากแคปซูล ทำให้เกิดการสลายตัว ทั้งนี้อาจเกิดจากความไม่เข้ากันขององค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันข้าวโพดและการที่ตำรับมีลักษณะเป็นของเหลวทำให้เกิดการรั่วซึมได้ง่าย

ดังนั้นในขั้นตอนต่อไปจะต้องทำตำรับที่ไม่ใช่ของเหลว โดยควรเป็นแบบ Thermosetting formulation คือ ตั้งตำรับในลักษณะที่เมื่อให้ความร้อนตำรับก็จะเป็นของเหลว และเมื่อทิ้งไว้ให้เย็นก็จะกลับเป็นของแข็งตามเดิม เพื่อลดการสัมผัสของน้ำมันข้าวโพดกับเปลือกของแคปซูลและป้องกันการรั่วซึมของตัวยาออกจากแคปซูล

ผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

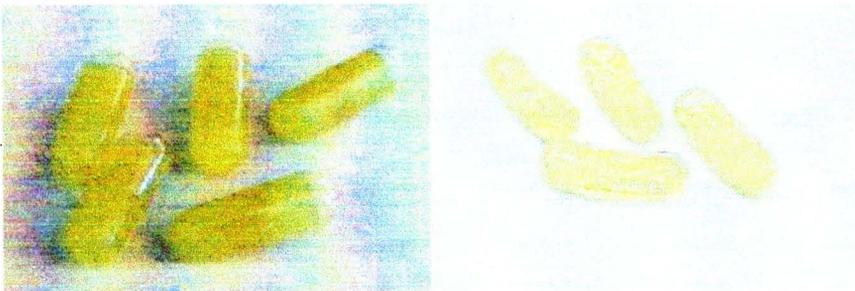
- ทั้ง PEG 600 ซึ่งเป็นของเหลว และ PEG 1450 ซึ่งเป็นของแข็ง ไม่ทำให้เจลาตินแคปซูลเกิดการอ่อนนึ่ม และไม่ละลายเข้ากับน้ำมันทำให้เกิดการแยกชั้นของตัวยาในแคปซูล

- Liquid paraffin สามารถละลายเข้ากับน้ำมันได้ ทำให้ไม่เกิดการแยกชั้นของตัวยาในแคปซูล แต่ทำให้เจลาตินแคปซูลอ่อนนิ่ม
- การใช้ส่วนผสมที่เหมาะสมของ PGE 60, Liquid paraffin และ Bee wax จะทำให้ได้ตำรับที่เป็นเนื้อเดียวกัน และไม่ทำให้เจลาตินแคปซูลเกิดการอ่อนนิ่ม
- การเก็บตำรับในตู้เย็นจะไม่สามารถสังเกตความไม่เข้ากันหรือความคงตัวของตำรับได้ดีเท่ากับการเก็บที่อุณหภูมิห้อง
- ตำรับที่เหมาะสมที่สุดที่จะให้กับน้ำมัน คือ น้ำมันมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เกิดการอ่อนนิ่มของแคปซูล และไม่เกิดการรั่วซึมของน้ำมัน แม้เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานกว่า 12 สัปดาห์ ขณะหลอมตำรับเป็นสีเหลืองขุ่นเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อแข็งตัวยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน ลักษณะแคปซูลแข็ง น้ำมันเป็นเนื้อเดียวกันสีเหลืองขุ่น ไม่รั่ว





รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะของสบู่น้ำมันข้าวโพดหลังเตรียมเสร็จ



รูปที่ 4.15 แสดงผลิตภัณฑ์ของน้ำมันข้าวโพดกับเจลาตินแคปซูลและสารช่วยต่าง ๆ