

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

- กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกกลางสาตในพื้นที่ตำบลบ้านด่านนาขาม อำเภอเมือง และตำบลแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์
- กลุ่มเกษตรกรผู้แปรรูปกลางสาตในพื้นที่ตำบลบ้านด่านนาขาม อำเภอเมือง และตำบลแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์
- ผู้ประกอบการ บริษัท ฟากนครดอกคอม จำกัด 14 หมู่ 9 ตำบลทุ่งยั้ง อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์
- ลางสาตสดจากพื้นที่ตำบลบ้านด่านนาขาม อำเภอเมือง และตำบลแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ได้วางแผนการดำเนินการวิจัยไว้เป็น 8 ระยะดังนี้

1. ระยะการสำรวจและค้นคว้าข้อมูล

1.1 ศึกษาข้อมูลเบื้องต้น ทบทวนเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์พืชวงศ์ Meliaceae

1.2 สำรวจแหล่งปลูกกลางสาต ในเขตพื้นที่ตำบลบ้านด่านนาขาม อำเภอเมือง และตำบลแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

1.3 ประสานงานระหว่างกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูก เพื่อขอเก็บตัวอย่างทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ จากส่วนต่างๆ ของผลกลางสาตเพื่อนำมาประยุกต์ทางผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และนำตัวอย่างมาเก็บที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์

2. วิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพของตัวอย่างกลางสาต

2.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

ใช้กลางสาตจากพื้นที่ปลูกในอำเภอลับแล และอำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ เลือกผลกลางสาตที่อยู่ในระยะเก็บเกี่ยวที่เก็บโดยเกษตรกรในวันเดียวกัน หั่นผลกลางสาตก่อนนำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ เติมน้ำกลั่นแทนน้ำหนักของผลกลางสาต นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนที่เป็นของเหลวเก็บและบันทึกปริมาตรและน้ำหนักเก็บรักษาที่

อุณหภูมิ 4 °C ในที่มืดได้นาน 7 วัน ส่วนที่เป็นตะกอนนำไปชั่งน้ำหนักและนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 - 60 °C ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล

2.2 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin Ciocalteu Colorimetric Assay

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Babbar (2011) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 200 100 50 25 12.5 6.25 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในสารละลายผสมซึ่งมีส่วนผสมดังนี้ สารละลายโพลิน ชิโอะแคลทู (Folin Ciocalteu- phenol reagent : water = 1:9) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และ สารละลาย 15 g/L โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมา 200 ไมโครลิตร ลงในสารละลายผสม บ่มที่อุณหภูมิห้องและมืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสมการของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 1 กรัม (mgGAE / gFW)

2.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วย Aluminum Chloride Colorimetric Assay

หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ดัดแปลงมาจากวิธีของ Babbar (2011) โดยเตรียมสารละลายเคอร์ซีตินละลายด้วยเมทานอล แล้วนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 120, 60, 30, 15, 7.5 และ 3.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในสารละลายผสมซึ่งมีส่วนผสมดังนี้ สารละลาย 4% อะลูมิเนียมคลอไรด์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตท ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องและเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างต่อเมทานอลในอัตราส่วน 1:8 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่ในสารละลายผสมบ่มที่อุณหภูมิห้องและเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer คำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการของกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีติน แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 1 กรัม (mgQE / gFW)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical scavenging activity Assay

หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระดัดแปลงจากวิธีของ Thaipong (2006) สร้างกราฟเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเคอร์ซีตินความเข้มข้นทั้งหมด 5 จุด ดังนี้ 3, 0.75, 0.1875, 0.0938

และ 0.0469 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อใช้คำนวณหาค่าเข้มข้นในการต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀) โดยใช้สารละลายมาตรฐานคอร์ซีดินเป็นตัวควบคุมแบบบวก ผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจำนวน 5 ความเข้มข้น ปริมาตร 750 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1,500 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและมีดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer คำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%free radical scavenging) DPPH ได้จากสมการต่อไปนี้ (สุชาติ, 2558)

$$\% \text{free radical scavenging} = \left| 1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right| \times 100$$

A_{sample} = ค่า absorbance ของตัวอย่างเมื่อผสมกับ DPPH

A_{control} = ค่า absorbance ของตัวทำละลายของตัวอย่างนั้นเมื่อผสมกับ DPPH

นำค่าเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างทั้ง 5 ความเข้มข้นไปสร้างจากกราฟเพื่อใช้คำนวณหา IC₅₀

3. กิจกรรม การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าจากผลกลางสาตที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

ใช้ผลกลางสาตจากพื้นที่ปลูกในอำเภอลับแล และอำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ เลือกผลกลางสาตที่อยู่ในระยะเก็บเกี่ยวที่เก็บโดยเกษตรกรในวันเดียวกัน นำมาคัดแยกขนาดและบันทึกน้ำหนักทันที (ตารางที่ 3.1) ใช้เฉพาะผลไม่รวมขั้วผล (ภาพที่ 3.1) หั่นผลกลางสาตก่อนนำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ เติมน้ำกลั่นเทาน้ำหนักของผลกลางสาต นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนที่เป็นของเหลวเก็บและบันทึกปริมาตรและน้ำหนักเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ในที่มืดได้นาน 7 วัน ส่วนที่เป็นตะกอนนำไปชั่งน้ำหนักและนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 - 60 °C ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล

ตารางที่ 3.1 การจำแนกขนาดผลกลางสาด

ตัวอย่าง	ขนาดผล (cm.)	
	ด้านข้างผล	ซั้วถึงปลายผล
LD1	<1.5	<2.0
LD2	1.5 ถึง <2.0	2.0 ถึง <2.8
LD3	2.0 ถึง <2.5	2.8 ถึง <3.6
LD4	2.5 ถึง <3.0	3.6 ถึง <4.2
LD5	>3.0	>4.2
LD6*	<1.5 ถึง >3.0	<2.0 ถึง >4.2

*หมายเหตุ LD6 เป็นกลุ่มที่รวมตัวอย่างกลางสาดทุกขนาด ตั้งแต่ LD1 ถึง LD5

3.2 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Follin Ciocalteu Colorimetric Assay (วิธีเดียวกับ ข้อ 2.2)

3.3 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วย Aluminum Chloride Colorimetric Assay (วิธีการเดียวกับ ข้อ 2.3)

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical scavenging activity Assay (วิธีเดียวกับข้อ 2.4)

4. พัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมสารสกัดหยาบจากผลกลางสาดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.1 การเก็บตัวอย่างเปลือกกลางสาดในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์

เก็บตัวอย่างกลางสาดในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์ นำมาเตรียมวัตถุดิบโดยแยกส่วนเปลือกและเมล็ดของกลางสาดออกจากผล แล้วล้างทำความสะอาดผึ่งให้แห้ง แล้วตัดเปลือกและเมล็ดกลางสาดให้มีขนาดประมาณ 0.3 – 0.5 เซนติเมตร ก่อนนำไปอบเพื่อด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนแห้ง ปั่นให้ละเอียดเพื่อรอไปสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อใช้เป็นส่วนผสมของโลชั่นจากเปลือกกลางสาดต่อไป ดังภาพที่ 3.1

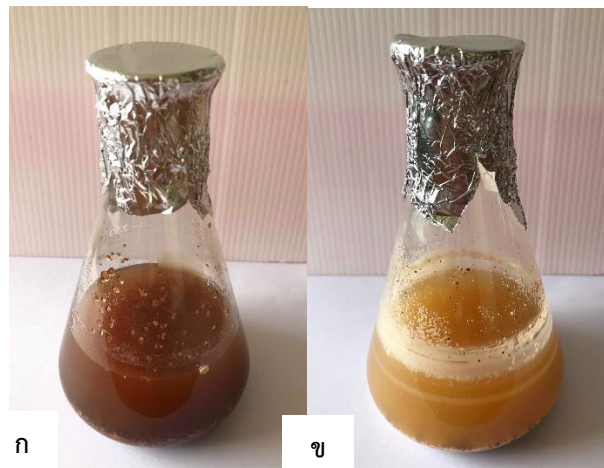


ภาพที่ 3.1 การเตรียมวัตถุดิบเปลือกและเมล็ดกลางสาต

ก1: เปลือกกลางสาต ก2: เปลือกกลางสาตอบแห้ง ก3: เปลือกกลางสาตผง
 ข1: เมล็ดกลางสาต ข2: เมล็ดกลางสาตอบแห้ง ข3: เมล็ดกลางสาตผง

4.1.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดกลางสาต

เตรียมสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาต ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร โดยนำเปลือกกลางสาตแห้งและเมล็ดกลางสาตแห้งป่นและบดจนเป็นผง แล้วชั่งน้ำหนัก 15.0 กรัม จากนั้นใช้น้ำปราศจากไอออน (Deionized water; DI water) เป็นตัวทำละลายในการสกัด ปริมาตร 150 มิลลิลิตร (ดังภาพที่ 3.1, 3.2) จากนั้นสกัดโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 rpm เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ได้สารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาตที่จะใช้เป็นส่วนผสมของโลชั่น



ภาพที่ 3.2 การเตรียมสารสกัดเปลือก (ก) และเมล็ดกลางสาต (ข) โดยสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน

4.1.2 การเตรียมสูตรโลชั่นสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาต

การเตรียมสูตรโลชั่นสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาตโดยใช้สูตรที่มีส่วนประกอบดังนี้

water phase

น้ำปราศจากไอออน (DI water)	ร้อยละที่ใช่	77.1
Methyl paraben	ร้อยละที่ใช่	1

Oil phase

น้ำมันมะกอก	ร้อยละที่ใช่	2
Shea butter	ร้อยละที่ใช่	1.4
Stearic acid	ร้อยละที่ใช่	6
Cetyl alcohol	ร้อยละที่ใช่	3
Isopropyl myristate	ร้อยละที่ใช่	3
Tween 20	ร้อยละที่ใช่	5

การเตรียมโลชั่น แบ่งส่วนประกอบออกเป็น water phase และ oil phase แล้วอุ่นส่วนประกอบทั้ง 2 phase บน hot plate stirrer ให้ได้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กวนจนส่วนผสมในแต่ละ phase ละลายเข้าด้วยกัน จากนั้นค่อยๆ เทส่วนผสมส่วน oil phase ลงในส่วนผสม water phase (ภาพที่ 3.3 ก) และเมื่ออุณหภูมิลงจนถึงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เติมสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาต (ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล) และน้ำหอม แล้วกวนผสมบน magnetic stirrer จนโลชั่นเซ็ทตัว (ภาพที่ 3.3 ข) แล้วนำโลชั่นทั้ง 3 สูตร คือ สูตร 1

ปราศจากสารสกัด สูตร 2 ผสมสารสกัดเปลือกกลางสาด และสูตร 3 ผสมสารสกัดเมล็ดกลางสาด ทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ต่อไป



ภาพที่ 3.3 การเตรียมโลชั่นสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาด

(ก) การเทส่วนผสม oil phase ลงในส่วนผสม water phase

(ข) สารกวนโลชั่นเพื่อให้โลชั่นเซ็ทตัว

4.1.3 การทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์โลชั่นทาผิวจากสารสกัดเปลือกและเมล็ดกลางสาด

การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ (เสาวนีย์และหทัยชนก, 2549) ประเมินจากลักษณะภายนอกของโลชั่น เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ และเปรียบเทียบกับโลชั่นที่ทดสอบความคงตัวไว้ 6-cycle โดยพิจารณาลักษณะดังต่อไปนี้

- 1) **ลักษณะเนื้อโลชั่น** สังเกตลักษณะเนื้อโลชั่นที่มองเห็นโดยใช้คำอธิบายลักษณะ ดังนี้ เนื้อละเอียด เนื้อหยาบ มันวาว มีผลึก แห้ง มี oil droplet
- 2) สี สังเกตสีของโลชั่นที่ปรากฏ
- 3) กลิ่น ตมกลิ่นของโลชั่น แล้วพบว่ามีกลิ่นของน้ำหอม ไม่มีกลิ่นอื่นๆ
- 4) **การไหลของโลชั่น** นำขวดโลชั่นมาเอียงทำมุม 45 องศากับแนวระดับ จับเวลา ตั้งแต่เริ่มเอียงจนโลชั่นไหลมาถึงปากภาชนะ โดยแบ่งเป็นระดับดังนี้

≤ 5	วินาที	ไหลได้ดีมาก	บันทึกผลเป็น	+++
5-10	วินาที	ไหลได้ดี	บันทึกผลเป็น	++
≥ 10	วินาที	ไหลได้ช้า	บันทึกผลเป็น	+

5) การเจริญของจุลินทรีย์และเชื้อรา สังเกตว่าโลชั่นมีจุดดำหรือเส้นใย ที่มีขนาดใหญ่หรือไม่

มีการเจริญของจุลินทรีย์หรือเชื้อรา บันทึกผลเป็น +

ไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์หรือเชื้อรา บันทึกผลเป็น -

6) การเกิด creaming เป็นลักษณะ phase ภายในแยกไปรวมตัวกันลอยอยู่ชั้นบนหรือนอนก้นภาชนะ ทำให้เห็นเป็นชั้นครีมแยกชั้นอิมัลชันที่เจือจาง เกิดขึ้นไม่ถาวร เมื่อเขย่าสามารถทำให้ชั้นที่แยกผสมนี้ผสมกันได้ดังเดิม

มีการเกิด creaming บันทึกผลเป็น +

ไม่มีการ creaming บันทึกผลเป็น -

7) การเกิด cracking เป็นลักษณะที่หยด phase ภายในเกิดหลอมรวมเข้ากันเป็นหยดที่โตขึ้น จนแยกออกเป็นชั้นน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน ซึ่งเป็นความคงตัวที่ เกิดขึ้นถาวร

มีการเกิด cracking บันทึกผลเป็น +

ไม่มีการ cracking บันทึกผลเป็น -

การประเมินคุณสมบัติทางเคมี ทดสอบความเป็นกรด-ด่างของโลชั่นโดยใช้ universal indicator pH 1-14 แล้วบันทึกผล

การประเมินความคงตัว (เสวนีย์และหทัยชนก, 2549) ประเมินความคงตัวของโลชั่นด้วยวิธี Freeze and Thaw cycle โดยนำโลชั่นที่เตรียมไว้มาใส่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเช่นกัน ทำซ้ำไปเรื่อยๆ ให้ครบ 6 รอบ (6 cycle) แล้วบันทึกผลประเมินคุณภาพทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมี

4.1.4 การประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

ประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว โดยใช้ประชากรกลุ่มตัวอย่างเพศชาย-หญิงที่มีอายุตั้งแต่ 20-45 ปี กลุ่มตัวอย่างเป็นอาจารย์ เจ้าหน้าที่ และนักศึกษาในมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จำนวน 30 คน โดยพิจารณาในเรื่องต่อไปนี้

1) ลักษณะเนื้อโลชั่น สังเกตว่ามีลักษณะเนียน เป็นเนื้อเดียวกันหรือไม่

2) ลักษณะสี สังเกตสีของโลชั่นว่ามีความน่าใช้หรือไม่

3) ลักษณะกลิ่น สังเกตกลิ่นของโลชั่นว่ามีความน่าใช้หรือไม่

4) การซึมซาบเข้าสู่ผิวหนัง เมื่อนำโลชั่นมาทาบนผิวหนังแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง

สัมผัสบริเวณที่ทาจะรู้สึกเหมือนไม่ได้ทาโลชั่น

5) ความเหนอะหนะ ขณะทาโลชั่นบนผิวหนัง พบว่าโลชั่นเหนียวติด
ผิวหนัง ไม่สบายตัว

6) ความพึงพอใจโดยรวม พิจารณาโดยรวมของการซึมซาบเข้าผิวหนัง
ความเหนอะหนะ สี ลักษณะทางกายภาพ ทาง
เคมี และความคงตัวของโลชั่น

การประเมินความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว แบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 5	=	พึงพอใจมากที่สุด
ระดับ 4	=	พึงพอใจมาก
ระดับ 3	=	พึงพอใจปานกลาง
ระดับ 2	=	พึงพอใจน้อย
ระดับ 1	=	น้อยที่สุด

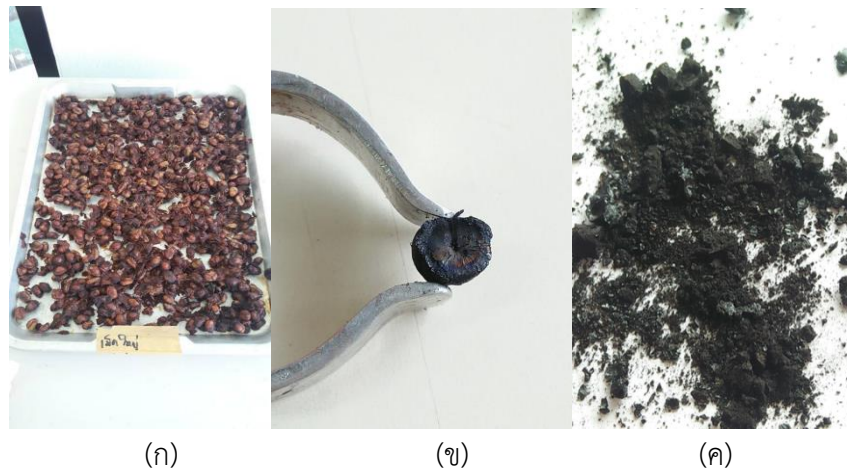
6. กิจกรรม การพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากเปลือกและเมล็ดกลางสาด กรณีศึกษา สปา ขัดผิว และสบู่

6.1 การศึกษาทดลองผลิตถ่านกลางสาด

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตถ่านกลางสาดได้ทดลองเผาเมล็ดกลางสาดในเตาเผาอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิและระยะเวลาแตกต่างกัน โดยสภาวะที่ทำการทดลองใช้อุณหภูมิในเผาเมล็ดกลางสาดเบื้องต้นที่ 200, 300 และ 400 องศาเซลเซียส สำหรับเวลาที่ใช้ในทดลองเผาเบื้องต้น คือ 60 นาที, 90 นาที และ 120 นาที ตามลำดับ

6.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

(1) การเตรียมถ่านเมล็ดกลางสาด นำเมล็ดกลางสาดที่ผ่านการเลาะเนื้อออกแล้วมาล้างน้ำสะอาด ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้งสนิท นำไปเผาในเตาเผาในอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการศึกษาทดลองคือที่ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วบดให้ป่นและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 120 ไมครอน นำไปใช้เป็นส่วนประกอบในการทำสปาขัดผิว (ถ่านสปา) และสบู่กลางสาด ดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 เมล็ดกลางสาดอบแห้ง (ก) เผาจนเป็นถ่าน (ข) และบดเป็นผงถ่านเมล็ดกลางสาด (ค)

(2) การเตรียมเศษเนื้อกลางสาด นำเศษเนื้อกลางสาดที่เหลือทิ้งจากการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารมาล้างและทำการสะอาดน้ำออก อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้ง ได้เศษเนื้อกลางสาดอบแห้งที่สามารถเก็บไว้ใช้เป็นส่วนผสมในการทำน้ำเอนไซม์กลางสาด

(3) การเตรียมน้ำเอนไซม์กลางสาด นำเมล็ดกลางสาดอบแห้ง 100 กรัม มาเติมน้ำอุ่นปริมาณ 1000 ml ตั้งทิ้งไว้หนึ่งคืน คั้นแล้วกรองเอาเฉพาะส่วนใส ดังภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.5 การเตรียมน้ำเอนไซม์กลางสาด

6.3 การทำสบู์กลางสาด ละลายกลีเซอรินก้อนลงไป เคี่ยวจนละลายเข้ากัน เติมน้ำเอนไซม์ 100 ml และเติมน้ำหอมหากต้องการกลิ่นหอมเพิ่มเติม จากนั้นนำไปใส่ลงในพิมพ์สบู่ ดังภาพที่ 3.6



ภาพที่ 3.6 การทดลองผลิตสบู่จากกลางสาด

6.4 การทำสพาคัดผิว

วัสดุ/สารที่ใช้

1. ครีมสบู่AD25 500 ml
2. เกลือ 500 กรัม
3. น้ำสะอาด 1 ลิตร
4. น้ำเอนไซม์ 500 ml
5. เนื้อมะพร้าวปั่น 500 กรัม
6. น้ำผึ้ง

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมการทำสปาขัดผิว

สูตร	ครีมสบู	น้ำเอนไซม์	เนื้อ กลางสาด	ถ่าน กลางสาด	เกลือ
เกลือสปา		✓	✓		✓
ถ่านสปา		✓		✓	✓
ครีมอาบน้ำผสมเกลือสปา	✓	✓	✓		✓
ครีมอาบน้ำผสมถ่านสปา	✓	✓		✓	✓

วิธีทำ ทำการสตุเกลือและถ่านเมล็ดกลางสาด จากนั้นผสมน้ำเอนไซม์ เกลือ เนื้อและถ่านเมล็ดกลางสาดเข้าด้วยกันตามสัดส่วน และใส่กลิ่นหากต้องการความหอม

6.5 การทดสอบความชอบและการยอมรับของผลิตภัณฑ์

ทดสอบความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์โดยใช้แบบสอบถามความคิดเห็นด้านกายภาพ ได้แก่ สี เนื้อ กลิ่น รูปร่างและขนาดของผลิตภัณฑ์กับบุคคลทั่วไป นักเรียน นักศึกษา และนักวิชาการ

6.6 การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนโดยมีรายละเอียด ดังนี้

1. มาตรฐานสบู่ก้อนกลีเซอริน มาตรฐานเลขที่ มพช.665/2553

1) ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นก้อนใสหรือขุ่น ไม่มีสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

2) กลีเซอริน ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ASTM D 460 หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

3) ไขมันทั้งหมด (กรณีผสมเกลือสบู่) ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 685 หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

4) สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (กรณีผสมสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์) ต้องพบสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ การทดสอบให้ปฏิบัติตามตาม BS 1715 Part 1 หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

5) ไฮดรอกไซด์อิสระ (คำนวณเป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์) ต้องไม่เกินร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 465 หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

6) คลอไรด์ (คำนวณเป็นโซเดียมคลอไรด์) ต้องไม่เกินร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO 4323 หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

7) จุลินทรีย์

- 7.1) จำนวนแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมดที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ ต้องไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อ ตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 7.2) ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา ต้องไม่พบ
- 7.3) สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบ
- 7.4) แคนดิดา อัลบิแคนส ต้องไม่พบ
- 7.6) คลอสทริเดียม ต้องไม่พบ การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO หรือ BAM (U.S.FDA) หรือ USP หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

2. มาตรฐานผลิตภัณฑ์สดผิว มาตรฐานเลขที่ มพช.1350/2560

1) ลักษณะทั่วไป

1.1 ชนิดของแข็ง : ต้องแห้ง เนื้อละเอียด ไม่หยาบจนเกินไป มีการกระจายตัวของส่วนผสมอย่างสม่ำเสมอ มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ กรณีเป็นผงต้องไม่จับตัวเป็นก้อน กรณีเป็นเกล็ดต้องไม่คม

1.2 ชนิดของแข็งแช่ในของเหลว : ต้องมีเนื้อละเอียด มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์

1.3 ชนิดของเหลวชั้น : ต้องมีเนื้อละเอียด ไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์

1.4 ชนิดของกึ่งแข็ง : ต้องเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้นหรือจับตัวเป็นก้อน มีสีสม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งแปลกปลอมและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์

2) สารปนเปื้อน

2.1 ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.2 สารหนู (คำนวณเป็น As_2O_3) ต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.3 พรอท ต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.4 แคดเมียม ต้องไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ใช้อะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

3) ความเป็นกรด-ด่าง ต้องอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 8.0 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

4) จุลินทรีย์

4.1 จำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และราทั้งหมดที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ ต้องไม่เกิน 1×10^3 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 1 กรัม

4.2 ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา ต้องไม่พบ

4.3 สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส ต้องไม่พบ

4.4 แคนดิดา อัลบิแคนส์ ต้องไม่พบ

4.5 คลอสทริเดียม ต้องไม่พบ

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม ISO หรือ BAM (U.S.FDA) หรือ USP หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

5) การใช้งาน เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ขัดผิวแล้ว ต้องไม่พบการบาดเจ็บจากสารขัดถูและต้องไม่ทำให้เกิดอาการคัน ผื่นแดงหรืออาการข้างเคียงอื่นทางผิวหนัง

6) ความคงสภาพ (เฉพาะชนิดของเหลวชั้นและชนิดของกึ่งแข็ง) ลักษณะทั่วไปต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่แปรสภาพหรือเสื่อมคุณภาพ โดยค่าความเป็นกรด-ด่างต้องแตกต่างจากเดิมไม่เกิน ± 1.0 และต้องอยู่ระหว่าง 3.5 ถึง 8.0

7) การทดสอบการใช้งาน

7.1 ใช้อาสาสมัคร 6 คน ที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคผิวหนังและต้องไม่มีบาดแผลบริเวณท้องแขน ทำความสะอาดบริเวณท้องแขนข้างใดข้างหนึ่งของอาสาสมัครทุกคนให้สะอาดด้วยน้ำสะอาดและซับให้แห้งสนิท

7.2 กำหนดพื้นที่ทดสอบขนาด (3 × 3) เซนติเมตร บริเวณผิวหนังท้องแขนทดสอบของอาสาสมัคร ทาตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขัดผิวที่มีปริมาตรประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือน้ำหนักประมาณ ๑ กรัม ให้ทั่วบริเวณผิวหนังทดสอบ กรณีตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขัดผิวชนิดของแข็งและชนิดของแข็งแฉะในของเหลวให้ใช้น้ำโคลมให้ผิวชุ่มชื้นก่อนทาตัวอย่าง แล้วขจัดวนเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที สังเกตบริเวณผิวหนังทดสอบต้องไม่พบการบาดเจ็บจากสารขัดถูและอาสาสมัครทั้ง 6 คน ต้องไม่เกิดอาการคัน ผื่นแดงหรืออาการข้างเคียงอื่นทางผิวหนัง จึงจะถือว่าผ่านการทดสอบการใช้งาน

7.3 การทดสอบความคงสภาพ (เฉพาะชนิดของเหลวชั้นและชนิดของกึ่งแข็ง) เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ขัดผิวที่ไม่เคยเปิดฝาภาชนะบรรจุมาก่อนที่อุณหภูมิ (4 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ (45 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้สลับกันจนครบ 4 ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไปเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์และวัดความเป็นกรด-ด่าง

7. ระยะถ่ายทอดเทคโนโลยี และเผยแพร่ผลงานวิจัย

7.1 กิจกรรมแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกันของผู้ประกอบการที่มาจากบริษัท ฟากนครดอทคอม จำกัด ด้านพื้นฐานความรู้ การจัดการ การตลาด รวมถึงศักยภาพในการแข่งขันอันเป็นปัจจัยสำคัญของการประกอบธุรกิจให้ประสบความสำเร็จ

7.2 นำผลการวิจัยและองค์ความรู้ที่ได้เผยแพร่แก่กลุ่มนักเรียน นักศึกษา ชาวบ้าน เกษตรกรและผู้สนใจ ในการพัฒนาต่อยอดองค์ความรู้ ในรูปแบบของแผ่นพับ หรือใบความรู้เผยแพร่แก่ชุมชน

7.3 นำเสนอหรือตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับชาติหรือนานาชาติ

8. ระบุสรุปและประเมินโครงการ

8.1 ตรวจสอบติดตามความพึงพอใจของเกษตรกรผู้เข้าร่วมวิจัย และเกษตรกรที่เข้ารับการอบรม ต่อองค์ความรู้ที่ได้รับ และความพึงพอใจต่อความสามารถในการพัฒนาต่อยอดองค์ความรู้ ไปยัง กลุ่มเกษตรกรอื่นๆ ที่สนใจ

8.2 การตรวจสอบติดตามผลการดำเนินโครงการวิจัย การรายงานผลความก้าวหน้าเป็นระยะไตรมาส และการจัดทำเล่มรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ รวมทั้งการตีพิมพ์เผยแพร่

แผนการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการวิจัย

กิจกรรมที่ปฏิบัติ	เดือนที่												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1) ประชุมชี้แจงวัตถุประสงค์การวิจัยร่วมกับเกษตรกรในท้องถิ่น และรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นโดยใช้แบบบันทึกการประชุม แบบสนทนากลุ่ม แบบสำรวจ													
2) ดำเนินการวิจัย พัฒนา โดยใช้การปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วมและการวิจัยทั้งแบบทดลองและกึ่งทดลอง ชุดข้อมูลสารสกัดจากกลางสาด (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) รวมถึงพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาดในพื้นที่													
2) ประเมินผลความพึงพอใจของประชาชนต่อผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาด													
3) จัดกิจกรรมแลกเปลี่ยนเรียนรู้ คืบข้อมูลผลการวิจัยให้เครือข่ายในพื้นที่ โดยใช้แบบบันทึก การสังเกต แบบมีส่วนร่วม													
4) ส่งเสริมการสร้างเครือข่ายธุรกิจ โดยบริษัท ฟากนครดอทคอม จำกัด													
5) สัเคราะห์องค์ความรู้และนวัตกรรม บทเรียนจากการดำเนินงาน													
6) รายงานผลและเผยแพร่งานวิจัย													

เป้าประสงค์	กิจกรรมหลัก/รอง	ตัวชี้วัด
การปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม	ประชุมและออกแบบการวิจัยร่วมกับเกษตรกรในท้องถิ่น	-เกิดภาคีเครือข่ายความร่วมมืออย่างน้อย 2 เครือข่าย -เกษตรกรเกิดการตระหนักรู้และเห็นคุณค่าของผลไม้พื้นเมืองที่เป็นอัตลักษณ์ของจังหวัดอุตรดิตถ์
ข้อมูลสารสกัดจากกลางสาด (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) และพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาดอุตรดิตถ์	ศึกษาข้อมูลสารสกัดจากกลางสาด (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) รวมถึงพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาดในพื้นที่ <u>กิจกรรม</u> การพัฒนาโลชั่นทาผิวจากสกัดเปลือกกลางสาดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ <u>กิจกรรม</u> การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรัมบำรุงผิวหน้าจากผลกลางสาดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ <u>กิจกรรม</u> การพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากเปลือกและเมล็ดกลางสาด กรณีศึกษา ถ่านสปาและสบู่	-ชุดข้อมูลสารสกัดจากกลางสาด (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) -ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมจากสารสกัดของกลางสาด อย่างน้อย 3 ผลิตภัณฑ์
ส่งเสริมการสร้างเครือข่ายธุรกิจ	กิจกรรมแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกันของผู้ประกอบการที่มาจากบริษัท ฟากนครดอทคอม จำกัด ด้านพื้นฐานความรู้ การจัดการ การตลาด รวมถึงศักยภาพในการแข่งขันอันเป็นปัจจัยสำคัญของการประกอบธุรกิจให้ประสบความสำเร็จ	- เกษตรกรที่สนใจเป็นผู้ประกอบการรายใหม่จากผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาด - แนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาดเชิงพาณิชย์

องค์ความรู้และนวัตกรรม บทเรียนจากการดำเนินงาน	สังเคราะห์และถอดบทเรียนองค์ ความรู้และนวัตกรรม จากการ ดำเนินงาน	-รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ -คู่มือการพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุง ผิวจากกลางสาต 1 เล่ม -ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ใน ฐานข้อมูล TCI อย่างน้อย 2 เรื่อง
--	---	--

เป้าหมายของผลผลิต (Output) และตัวชี้วัด

ระยะเวลา	ผลผลิต	ตัวชี้วัด
เดือนที่ 1-3	ภาคีเครือข่ายความร่วมมือ	ภาคีเครือข่ายความร่วมมือ อย่าง น้อย 2 เครือข่าย
เดือนที่ 4-6	-ชุดข้อมูลสารสกัดจากกลางสาต (ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) -ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสม จากสารสกัดของกลางสาต	-ชุดข้อมูลสารสกัดจากกลางสาต จำนวน 1 ชุด -ผลิตภัณฑ์โลชั่นจากสารสกัด กลางสาต จำนวน 1 สูตร -ผลิตภัณฑ์เซรัมจากสารสกัด กลางสาต จำนวน 1 สูตร -ผลิตภัณฑ์สบู่ออก และเมลิคกลางสาต จำนวน 1 สูตร
เดือนที่ 7-8	- ส่งเสริมการสร้างเครือข่ายธุรกิจ -รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ -คู่มือการพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุง ผิวจากกลางสาต -ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่	- เกษตรกรที่สนใจเป็น ผู้ประกอบการรายใหม่จาก ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากกลางสาต - แนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ บำรุงผิวจากกลางสาตเชิงพาณิชย์ -รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ -คู่มือการพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุง ผิวจากกลางสาต จำนวน 1 เล่ม -ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ใน ฐานข้อมูล TCI อย่างน้อย 2 เรื่อง