**บทที่ 3**

**วิธีดำเนินการวิจัย**

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการพัฒนาพัฒนาผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่ โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

**วัตถุดิบ**

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ข้าวไรซ์เบอรี่ อัญชัน และทองพันชั่ง ได้จากตลาดในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม

**เครื่องมือและอุปกรณ์**

1. เครื่องระเหย (Rotary evaporator : R-200 model, BUCHI, Switzweland)

2. เครื่องปั่นแบบมือจับ (MR 430 HC model, 300 Watt, Spain)

3. เครื่องกวนสารที่ควบคุมอุณหภูมิ (Stirrer, ARE model, VELP Scientifica, Italy)

4. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Digital thermometer, DTM 305 model, TECPEL, Taiwan)

5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath : WB14 model, German)

6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)

7. เครื่องอบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer)

8. เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quet XT

9. pH meter

10. เครื่องสีข้าว

11. Brookfiled viscometer

12. Cutometer

**สารเคมี**

 1. เฮกเซน (Hexane : Commercial grade, Etalmar, Thailand)

 2. เฮกเซน (Hexane : HPLC grade 99.5%, LAB-SCAN, Ireland)

 3. เอทานอล (Ethanol : AR grade >95%, Merck, German)

 4. เมทานอล (Methanol : AR grade >99.9%, Merck, German)

 5. Plate Count agar (PCA)

 6. Thunder 56R

**วิธีการดำเนินการวิจัย**

1. การพัฒนาสูตรซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่

การศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการยอมรับและความชอบของผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่จาก 3 ปัจจัย คือ ปริมาณสารสกัดข้าวไรซ์เบอรี่ร้อยละ 30-50 ปริมาณสารสกัดทองพันชั่งร้อยละ 20–40 และปริมาณสารสกัดจากอัญชันร้อยละ 30-50 ตามลำดับ โดยมีวิธีการผลิตดังภาพที่ 3.1 จัดกรรมวิธีการทดลองแบบ Mixture design ดังตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นนำไปบรรจุขวดปริมาณ 15 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองแบบ Mixture design ของสัดส่วนที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Coded- variable levels |  | Natural-variable levels |
| Z1 | Z2 | Z3 |  | X1 (Riceberrey, %) | X2 (White crane flower, %) | X3 (Pea flower, %) |
| 0.00 | 0.50 | 0.50 |  | 30.00 | 30.00 | 40.00 |
| 1.00 | 0.00 | 0.00 |  | 50.00 | 20.00 | 30.00 |
| 0.00 | 0.00 | 1.00 |  | 30.00 | 20.00 | 50.00 |
| 0.67 | 0.17 | 0.17 |  | 43.40 | 23.40 | 33.40 |
| 0.50 | 0.00 | 0.50 |  | 40.00 | 20.00 | 40.00 |
| 0.17 | 0.17 | 0.67 |  | 33.40 | 23.40 | 43.40 |
| 0.33 | 0.33 | 0.33 |  | 36.60 | 26.60 | 33.60 |
| 1.00 | 0.00 | 0.00 |  | 50.00 | 20.00 | 30.00 |
| 0.00 | 0.00 | 1.00 |  | 30.00 | 20.00 | 50.00 |
| 0.50 | 0.50 | 0.00 |  | 40.00 | 30.00 | 30.00 |
| 0.00 | 1.00 | 0.00 |  | 30.00 | 40.00 | 30.00 |
| 0.00 | 0.50 | 0.50 |  | 30.00 | 30.00 | 40.00 |
| 0.17 | 0.67 | 0.17 |  | 33.40 | 33.40 | 33.40 |
| 0.00 | 1.00 | 0.00 |  | 30.00 | 40.00 | 30.00 |

สารสกัดจากอัญชัน

สารสกัดจากทองพันชัง

สารสกัดจากข้าวไรซ์เบอรี่

ผสมและทำการกวนที่อุณหภูมิ 60oC

เติมผงซีรัมอัตราส่วน

ร้อยละ 2

กวนจนส่วนผสมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

เติมน้ำนมข้าวร้อยละ 0.5

กวนจนสารผสมเย็นตัวลงทำการเติมกลิ่นข้าวหอมมะลิร้อยละ 0.1 และ Thunder 56R (preservative) ร้อยละ 0.03

บรรจุขวด

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่

การศึกษาการยอมรับและความชอบของผู้บริโภคโดยใช้วิธี “9-point hedonic scale” โดยศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่ ซึ่งใช้ผู้บริโภคทั่วไปที่มีผมขาว จำนวน 30 คน โดยใช้ 9-point Hedonic Scale วัดค่าคะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ กลิ่น สี ความหนืด และความชอบโดยรวม ค่าคะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ดังนี้

9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

8 หมายถึง ชอบมาก

7 หมายถึง ชอบปานกลาง

6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย

5 หมายถึง เฉยๆ

4 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย

3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง

2 หมายถึง ไม่ชอบมาก

 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

3. ทำการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่ในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนี้

3.1 ค่าสี โดยใช้ Miniscan EZ (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) ตามระบบสีแบบ CIE system โดยแสดงค่าเป็น L\* a\* และ b\*

L\* แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) จนถึง 100 (ขาว)

a\* แสดงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว

ค่า a เป็นบวกจะแสดงค่าสีแดง

ค่า a เป็นลบจะแสดงค่าสีเขียว

b\* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน

ค่า b เป็นบวกจะแสดงค่าสีเหลือง

ค่า b เป็นลบจะแสดงค่าสีน้ำเงิน

3.2 ความหนืด โดยใช้ brookfiled viscometer เป็นมาตรความหนืด (viscometer) ประเภท rotational viscometer ที่ใช้วัดความหนืด (viscosity) ของของเหลวมีหน่วยเป็นเซ็นติพอยส์ (centipoise)

3.3 ความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter เป็นเครื่องมือทางอิเล็กทรอนิกใช้วัดค่าพีเอชหรือค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย โดยมีส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน ได้แก่ probe หรือ อิเล็กโทรด และเครื่องวัดศักย์ไฟฟ้า (meter) อิเล็คโทรดที่ใช้จะเป็นชนิด glass electrode ที่เชื่อมต่อกับเครื่องวัดศักย์ไฟฟ้าแล้วเปลี่ยนการแสดงผลเป็นค่า pH

3.4 ความคงตัว (consistency) โดยทำการทดสอบสภาพความคงตัวและเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิ 4OC, 25OC และ 40OC เป็นระยะเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นนำไปประเมินความพึงพอใจโดยการทดสอบกับผู้บริโภคโดยใช้วิธี “9-point hedonic scale” โดยศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่ ซึ่งใช้ผู้บริโภคทั่วไปที่มีผมขาว จำนวน 30 คน โดยใช้ 9-point Hedonic Scale วัดค่าคะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ กลิ่น สี ความหนืด และความชอบโดยรวม ค่าคะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ดังนี้

9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

8 หมายถึง ชอบมาก

7 หมายถึง ชอบปานกลาง

6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย

5 หมายถึง เฉยๆ

4 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย

3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง

2 หมายถึง ไม่ชอบมาก

 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

3.5 คุณภาพทางจุลินทรีย์ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ตามวิธีของ AOAC (2002) ดังนี้

 3.5.1 การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ตามวิธีของ AOAC International (2002) โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 10 กรัม ใส่ถุงและเติม MRD (Maximum Recovery Diluent) 90 มิลลิลิตร

 3.5.2 ทำการเจือจาง (dilution) ตัวอย่าง โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หยดในหลอดทดลองที่มีน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอดทดลองที่ระดับ 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6 ตามลำดับ

5.3.3 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หยดลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Plate Count agar (PCA) โดยใช้วิธี pour plate อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Plate Count agar (PCA) โดยใช้วิธี pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

5.3.4 นับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยเลือกนับในเพลทที่มีโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็น cfu/g

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพทางชีวภาพของผิวหนังก่อน (biological efficiency skin test) และหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ซีรั่ม

การทดสอบประสิทธิภาพทางชีวภาพของผิวหนังก่อนและหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ซีรัมปิดผมขาวจากข้าวไรซ์เบอรี่ใช้ผ้ทดสอบเพศชายและเพศหญิงที่มีผมขาวกลุ่มละ 3 คน โดยเป็นผู้ที่มีสุขภาพหนังศีรษะดีไม่มีประวัติการแพ้ระยะเวลาในการทดสอบนาน 2 เดือน โดยวัดค่าในเดือนที่ 0, 1 และ 2 ในการทดสอบจะให้ผู้ทดสอบทำความสะอาดบริเวณหนังศีรษะที่ทดสอบด้วยยาสระผมและน้ำสะอาดแล้วเช็ดให้แห้ง ก่อนการทดสอบให้ผู้ทดสอบอยู่ในห้องเพื่อปรับอุณหภูมิ โดยควบคมอุณหภูมิที่ 20±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อากาศที่ร้อยละ 40-60 กำหนดบริเวณที่จะทดสอบตัวอย่างให้เป็นพื้นที่สี่เหลี่ยมขนาด 2×2 ตารางเซนติเมตร วัดค่าคุณภาพของผิวหนังด้วยเครื่อง Cutometer