



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

# โครงการ “การพัฒนาสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรแกรนูล ให้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์”

โดย รองศาสตราจารย์ ดร.วัชร คุณกิตติ และคณะ

สิงหาคม 2548

โครงการ “การพัฒนาสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเกรดสูง  
ให้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์”

| คณะผู้วิจัย    |               | สังกัด                            |
|----------------|---------------|-----------------------------------|
| รศ.ดร.วัชร     | คุณกิตติ      | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| รศ.ดร.ฉันทนา   | อารมย์ดี      | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| ผศ.ดร.ผดุงขวัญ | จิตโรภาส      | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| นางรติยา       | อุษะพัฑฒ์วงศ์ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## สารบัญ

|                                                                                            | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| สารบัญ                                                                                     | i    |
| สารบัญรูป                                                                                  | ii   |
| สารบัญตาราง                                                                                | iii  |
| กิตติกรรมประกาศ                                                                            | iv   |
| บทสรุปสำหรับผู้บริหาร                                                                      | v    |
| บทคัดย่อภาษาไทย                                                                            | vi   |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                                                                         | vii  |
| ความสำคัญและที่มาของประเด็นงานวิจัย                                                        | 1    |
| วัตถุประสงค์                                                                               | 5    |
| การดำเนินงานวิจัย                                                                          | 5    |
| I. การสกัดฟ้าทะลายโจร                                                                      | 5    |
| II. การศึกษาความเข้ากันทางกายภาพของสารสกัดและสื่อต่างๆ                                     | 5    |
| III. การศึกษาความเข้ากันทางเคมีของสารสกัดและสื่อต่างๆ                                      | 5    |
| IV. Formulation optimization using $3^2$ factorial design                                  | 6    |
| V. การศึกษาผลของตัวอย่างฟ้าทะลายโจรผงและแกรนูลต่อการดูดความชื้น                            | 7    |
| VI. การเตรียมตัวอย่างโดยเพิ่มขนาดการผลิตด้วยเครื่องมือหนัก                                 | 7    |
| VII. การควบคุมคุณภาพ                                                                       | 8    |
| ผลการวิจัยและอภิปรายผล                                                                     | 10   |
| I. การวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide และ Total lactones                                 | 10   |
| II. การสกัดฟ้าทะลายโจร                                                                     | 10   |
| III. การศึกษาความเข้ากันทางกายภาพของสารสกัดฟ้าทะลายโจรกับสื่อชนิดๆ ต่างโดยวิธี DSC         | 10   |
| IV. การศึกษาความเข้ากันทางเคมีของสารสกัดฟ้าทะลายโจรกับสื่อชนิดๆ ต่างโดยวิธี Binary mixture | 11   |
| V. Formulation optimization                                                                | 12   |
| VI. การขยายขนาดการผลิตฟ้าทะลายโจรผลและแกรนูล                                               | 13   |
| VII. ต้นทุนในการผลิต                                                                       | 14   |
| สรุปผล                                                                                     | 15   |
| เอกสารอ้างอิง                                                                              | 15   |
| ภาคผนวก                                                                                    | 36   |
| - ผลงานที่ได้จากการวิจัยและการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์                                  | 37   |
| - กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ                                           | 38   |

## สารบัญรูป

|           | หน้า                                                                                                                                                                          |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| รูปที่ 1  | สูตรโครงสร้างของ andrographolide, neoandrographolide, 14-deoxyandrographolide, 14-deoxy-11,12 didehydroandrographolide                                                        |
| รูปที่ 2  | HPLC chromatogram of 98% Andrographolide                                                                                                                                      |
| รูปที่ 3  | HPLC chromatogram of <i>Andrographis</i> Powder                                                                                                                               |
| รูปที่ 4  | HPLC chromatogram of <i>Andrographis</i> Granule                                                                                                                              |
| รูปที่ 5  | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งมันสำปะหลัง และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งมันสำปะหลัง (3:1)           |
| รูปที่ 6  | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งข้าวโพด และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งข้าวโพด (3:1)                   |
| รูปที่ 7  | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งข้าวเหนียว และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งข้าวเหนียว (3:1)             |
| รูปที่ 8  | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งข้าวเจ้า และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งข้าวเจ้า (3:1)                 |
| รูปที่ 9  | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งถั่วเขียว และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งถั่วเขียว (3:1)               |
| รูปที่ 10 | DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แลคโตส และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ แลคโตส (3:1)                            |
| รูปที่ 11 | DSC thermogram เปรียบเทียบสารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และสารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งข้าวเจ้า หรือ แป้งมันสำปะหลัง |
| รูปที่ 12 | DSC thermogram เปรียบเทียบสารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งที่ใช้เป็นสื่อ และสารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งที่ใช้เป็นสื่อ                          |
| รูปที่ 13 | Critical Relative Humidity of <i>Andrographis</i> Powder                                                                                                                      |
| รูปที่ 14 | Critical Relative Humidity of <i>Andrographis</i> Granule                                                                                                                     |
| รูปที่ 15 | Moisture sorption profiles of <i>Andrographis</i> powder                                                                                                                      |
| รูปที่ 16 | Moisture sorption profile of <i>Andrographis</i> granule                                                                                                                      |
| รูปที่ 17 | Cumulative % frequency vs particle size plot of <i>Andrographis</i> powder                                                                                                    |
| รูปที่ 18 | Cumulative % frequency vs log particle size plot of <i>Andrographis</i> powder                                                                                                |
| รูปที่ 19 | Cumulative % frequency vs particle size plot of <i>Andrographis</i> granule                                                                                                   |
| รูปที่ 20 | ความคงตัวของฟ้าทะลายโจรผงในสภาวะเร่ง                                                                                                                                          |
| รูปที่ 21 | ความคงตัวของฟ้าทะลายโจรแกรนูลในสภาวะเร่ง                                                                                                                                      |
| รูปที่ 22 | การกระจายตัวของขนาดอนุภาคฟ้าทะลายโจรแกรนูลขนาด 50 กิโลกรัม                                                                                                                    |

## สารบัญตาราง

|                                                                                       | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 1    ปริมาณ andrographolide ในฟ้าทะลายโจร                                    | 17   |
| ตารางที่ 2    Enthalpic onset ของ DSC thermograms สารเดี่ยวและสารผสม                  | 17   |
| ตารางที่ 3    ผลของสื่อชนิดต่าง ๆ ต่อความคงตัวของ andrographolide                     | 17   |
| ตารางที่ 4    การศึกษาคุณสมบัติของแกรนูลแห้ง                                          | 18   |
| ตารางที่ 5    ความคงตัวของ andrographolide และ total lactone ในตำรับฟ้าทะลายโจรแกรนูล | 18   |
| ตารางที่ 6    การประเมินคุณสมบัติของฟ้าทะลายโจรผงและแกรนูลเมื่อเพิ่มขนาดการผลิต (n=3) | 18   |
| ตารางที่ 7    ความคงตัวของฟ้าทะลายโจรผงและฟ้าทะลายโจรแกรนูล ในสภาวะเร่ง               | 19   |
| ตารางที่ 8    การประเมินคุณภาพของฟ้าทะลายโจรแกรนูลที่เตรียมในปริมาณ 50 กิโลกรัม       | 19   |
| ตารางที่ 9    การคำนวณต้นทุนในการผลิต*                                                | 19   |

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่าย 2 ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ ศ. ดร. นันทวัน บุญยประภัตร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำปรึกษา กำกับติดตามงานวิจัยอย่างต่อเนื่อง และ ผศ. ดร. นวลจันทร์ พารักษา คณะเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตร ที่ได้กรุณาชี้แนะให้ความรู้เกี่ยวกับการเตรียมอาหารสัตว์ ตลอดจนผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้กรุณาสละเวลาอ่านรายงานการวิจัยและให้คำแนะนำแก้ไข และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือทำการวิจัย รวมถึงเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นจุดเริ่มต้นในการนำประโยชน์จากสมุนไพรหายากมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์อย่างเป็นรูปธรรม เกษตรกรมีรายได้จากการปลูกสมุนไพรเพื่อจำหน่าย และส่งผลให้ประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์ไปยังต่างประเทศได้มากขึ้น และที่สำคัญผู้บริโภคสามารถบริโภคเนื้อสัตว์ได้อย่างปลอดภัย

คณะผู้วิจัย

## บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อพัฒนาสารสกัดฟ้าทะลายโจรให้เป็นสารเสริมอาหารสัตว์ จากการศึกษาพบว่า การเตรียมสารสกัดฟ้าทะลายโจรเพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์ให้มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีที่ดี มีอายุการเก็บนานประมาณ 2 ปี ต้องใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารเจือจางและต้องเตรียมให้อยู่ในรูปแกรนูลที่มีขนาด 425-850 ไมครอน หรืออยู่ระหว่างแรงเบอร์ 20 กับแรงเบอร์ 40 ซึ่งเตรียมโดยวิธี wet granulation เนื่องจากในตำรับมีส่วนผสมของอัลกอฮอล์ ดังนั้นในการอบแห้งต้องไม่ปิดตู้อบให้สนิทและอบที่อุณหภูมิ 55-60 °C เลือกภาชนะบรรจุที่สามารถควบคุมความชื้นให้ต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ 67.35 % หรือภายในภาชนะบรรจุอาจต้องใช้ Silica gel เพื่อควบคุมความชื้นและป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์ดูดความชื้นอย่างรวดเร็วและป้องกันการปนเปื้อนเชื้อราในสภาวะความชื้นสัมพัทธ์ที่สูง หรือใช้ภาชนะบรรจุแบบสุญญากาศ นอกจากนี้ภาชนะบรรจุควรใช้วัสดุทึบแสงเพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์ ในการนำเอาผลิตภัณฑ์ไปเตรียมเป็นอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด ซึ่งกระบวนการผลิตต้องผ่านความร้อนสูงถึง 80 °C นาน 3 นาที จากการศึกษาพบว่า การอบแกรนูลที่ 80 °C นาน 3 ชม. ความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ทั้งนี้ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงความเข้ากันได้ของฟ้าทะลายโจรแกรนูลและส่วนประกอบของอาหารเม็ดซึ่งจะเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ในตำรับ ดังนั้นในการผลิตโดยไม่คำนึงถึงปริมาณ andrographolide การสูญเสียระหว่างผลิต ค่าเสื่อมราคาและค่าไฟฟ้าจะอยู่ที่ 953.29 บาทต่อกิโลกรัม (คิดราคาเฉลี่ยจาก 2 โรงงาน) หากคิดต้นทุนแยกที่มาพบว่าราคาจะอยู่ระหว่าง 1225.89 - 680.69 บาทต่อกิโลกรัม หากต้องการลดต้นทุนในการผลิตจะต้องเลือกใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่มีปริมาณ andrographolide สูง โดยอาจเก็บเกี่ยวส่วนใบในช่วงก่อนที่ดอกจะบาน นอกจากนี้อาจลดต้นทุนโดยใช้สื่อที่มีราคาถูกและเข้ากันได้กับสารสกัดและทำการศึกษาจริงโดยนำไปเสริมอาหารเลี้ยงสัตว์ในฟาร์มต่อไป

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RDG 4720021

ชื่อโครงการ : การพัฒนาสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรแกรนูลให้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์

ชื่อนักวิจัย: วัชร คุณกิตติ ฉันทนา อารมย์ดี ผดุงขวัญ จิตโรภาส รติยา คุณเขตพิทักษ์วงศ์

หน่วยงาน: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Email address: [watkhu@kku.ac.th](mailto:watkhu@kku.ac.th)

ระยะเวลาโครงการ: เมษายน 2547 - กรกฎาคม 2548

ปัญหาเรื่องการตกค้างของยาปฏิชีวนะในสินค้าไก่ ส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและต่อการส่งออกเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ไก่ไปยังต่างประเทศ จึงมีความพยายามที่จะหาสมุนไพรเพื่อมาทดแทน จากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์พบว่า ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารไก่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้ากันได้ระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรกับสื่อนำมาผสม โดยศึกษาความเข้ากันทางกายภาพโดยวิธี differential scanning calorimetry และทางเคมีโดย high performance liquid chromatography สลื้อที่ใช้มี 7 ชนิด ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งถั่วเขียว และ แลคโตส เพื่อเลือกสื่อนำเข้ากันได้กับสารสกัดฟ้าทะลายโจรนำมาแปรรูปสารสกัดฟ้าทะลายโจรให้อยู่ในรูปผงหรือแกรนูลเพื่อใช้ผสมในอาหารไก่ ทำการควบคุมคุณภาพและศึกษาความคงตัวของฟ้าทะลายโจรในรูปแบบผงและแกรนูลในสภาวะเร่ง เพื่อประเมินอายุของผลิตภัณฑ์ชั่วคราว ตลอดจนการศึกษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ในการดูดความชื้นเพื่อหาจุดความชื้นวิกฤตของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด อันจะนำไปสู่การเลือกภาชนะบรรจุและวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม และกำหนดขั้นตอนและต้นทุนในการผลิตในปริมาณมาก เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นประกอบการพิจารณาในการที่จะนำไปผลิตใช้จริงและใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป จากการศึกษาพบว่าแป้งข้าวเจ้าที่เข้ากันได้ดีกับสารสกัดฟ้าทะลายโจร สัดส่วนระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรต่อปริมาณแป้งและการนำไปอบที่อุณหภูมิ 40, 60, 80 °C นาน 3 ชม. ไม่มีผลต่อความคงตัวของ andrographolide ในตำรับ เมื่อศึกษาความคงตัวในสภาวะเร่งพบว่า สารสกัด ฟ้าทะลายโจรแกรนูลมีความคงตัวมากกว่าสารสกัดฟ้าทะลายโจรผง และจากการทำนายอายุชั่วคราวพบว่า สารสกัดฟ้าทะลายโจรแกรนูลสามารถเก็บได้นานอย่างน้อย 2 ปี เมื่อนำมาขยายขนาดการผลิตเป็น 50 กิโลกรัม โดยใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่สั่งซื้อจากองค์การเภสัชกรรมและบริษัทชาวละออเภสัช พบว่าแกรนูลที่เตรียมได้มีขนาดเฉลี่ยเป็น 603.99 ไมครอน ความสามารถในการไหลดีมาก ค่าความชื้นต่ำถึง 3.96 % แต่ตรวจพบปริมาณ andrographolide ในผลิตภัณฑ์เพียง 1.48 % ต้นทุนในการผลิตโดยไม่คำนึงถึงปริมาณ andrographolide การสูญเสียระหว่างผลิต ค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือและค่าไฟฟ้าจะอยู่ที่ 953.29 บาทต่อกิโลกรัม (คิดราคาเฉลี่ยจาก 2 โรงงาน) หากคิดต้นทุนแยกแหล่งซื้อพบว่าราคาจะอยู่ระหว่าง 680.69 -1225.89 บาทต่อกิโลกรัม โดยสรุปการเตรียมสารสกัดฟ้าทะลายโจรให้มีความคงตัวทางเคมีดีต้องอยู่ในรูปแบบแกรนูลซึ่งเตรียมโดยวิธี wet granulation มีขนาดอนุภาคที่อยู่ระหว่างแรงเบอร์ 20/40 ในการบรรจุต้องเลือกภาชนะบรรจุที่สามารถควบคุมความชื้นให้ต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ 67.35 % หรือภายในภาชนะบรรจุอาจต้องใช้ silica gel เพื่อควบคุมความชื้นและป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์ดูดความชื้นอย่างรวดเร็วและป้องกันการปนเปื้อนเชื้อราหรือใช้ภาชนะบรรจุแบบสูญญากาศ นอกจากนี้ภาชนะบรรจุควรใช้วัสดุทึบแสงเพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์ ในการนำเอาผลิตภัณฑ์ไปเตรียมเป็นอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดซึ่งกระบวนการผลิตต้องผ่านความร้อนสูงถึง 80 °C นาน 3 นาที จากการศึกษาพบว่า การอบแกรนูลที่ 80 °C นาน 3 ชม. ไม่มีผลต่อความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ทั้งนี้ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงความเข้ากันได้ของฟ้าทะลายโจรแกรนูลและส่วนประกอบของอาหารเม็ด

คำหลัก: สารสกัดฟ้าทะลายโจร, andrographolide, สารเสริมอาหารสัตว์, ความคงตัว

## Abstract

**Project code:** RDG 4720021

**Project Title:** Development of andrographis premix granule

**Investigators:** Khunkitti, W. , Aromdee, C. , Chitropas, P. , Kukhetpitakwong, R.

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon kaen University.

**Email address:** [watkhu@kku.ac.th](mailto:watkhu@kku.ac.th)

**Project duration:** April 2004 -July 2005

Antibiotic residue in poultry products causes consumer safety concerns and also effect on poultry exportation. Several attempts have been made to find the herbs for substitution of using antibiotics as a growth promoter. Scientific evidences showed that *Andrographis paniculata* was one of the potential herbs which may be supplemented to the poultry food. The aim of this study was to develop premix from andrographis ethanolic extract. In this study, seven carriers such as tapioca starch, corn starch, rice starch, sticky rice starch, mung bean starch and lactose were used for absorbing andrographis extract. The physical compatibility between the extract and carriers was carried out using differential scanning calorimetry. The chemical stability was determined by high performance liquid chromatography. The results showed that rice starch was a good choice for selected as a diluent for develop premix in form of powder and granule. The ratio between the extract and the starch after dried at 40, 60 and 80 °C for 3 hours was not affected the stability of andrographolide. After undergone the accelerated condition, andrographis granule was found to be more stable than the powder. Its shelf life was approximately 2 years. When the granule was scaled up to 50 kilograms using the extract bought from the government pharmaceutical organization and Kaolaor company, the granule's size was 603 µm. The flowability was excellent. Per cent loss on drying was as low as 3.96. The amount of andrographolide, however, was only 1.48 %. Cost per unit of granule excluded the quantity of andrographolide, the amount of granule on process losing, equipment depreciation and cost of electricity was 953.29 baths. If the cost of andrographis extract from each source was calculated separately, the cost per unit would be between 680.69 and 1225.89 baths. In conclusion, andrographis premix should be prepared in granule form using wet granulation technique. Due to the ethanol in the preparation, it is recommended to leave the oven ajar during drying granule at 55-60 °C. the granule size should be between sieve no.20/40. The packaging should be able to keep the relative humidity lower than 67.35% by either placing silica gel bag to control humidity or using vacuum bag and light protection. In case of using androgarphis granule for making food pellets undergo 80 °C 3 min. The stability of andrographolide and total lactones was not affected. However, the manufacturer has to be aware of the compatibility between the andrgraphis granule and other ingredients in the food pellets.

**Key words:** andrographis extract, andrographolide, premix, stability

## 1. ชื่อโครงการ

การพัฒนาสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรแกรนูลให้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับสัตว์

## 2. หัวหน้าโครงการ

รศ. ดร. วัชรวิ คุณกิตติ

Associate Professor Watcharee Khunkitti

ที่ทำงาน

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์และโทรสาร 0-4336-2092

E-mail [watkhu@kku.ac.th](mailto:watkhu@kku.ac.th)

ที่บ้าน

177 หมู่ที่ 17 ถนนมิตรภาพ

ต. เมืองเก่า อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์ 0-4322-1410

## 3. ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย

โดยทั่วไป อาหารสัตว์มักมีการเติมยาปฏิชีวนะเพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ ซึ่งก่อให้เกิดการดื้อยาของยาปฏิชีวนะในซากสัตว์ที่นำมาบริโภค อันจะส่งผลให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาและยังส่งผลต่อการส่งออกผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไปยังสหภาพยุโรปซึ่งมีมูลค่ามหาศาล ในปี พ.ศ. 2544 ประเทศไทย ส่งออกเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่มีมูลค่าถึง 35000 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2545 คณะกรรมการยุโรปตรวจพบยาปฏิชีวนะกลุ่มต้องห้ามตกค้างในสินค้าไก่ของไทย ส่งผลให้การส่งออกเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ไปยังกลุ่มประชาคมยุโรปมีปริมาณลดลงมาก และมีผลทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ประสบปัญหาขาดทุนเป็นอย่างมาก จึงมีความจำเป็นในการหาสมุนไพรเพื่อใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ (สุภาพร, 2545)

จากรายงานการเสริมฟ้าทะลายโจรลงในอาหารไก่สำเร็จรูปในระดับ 0.2-0.5% หรือเสริม andrographolide ในระดับ 1.8-3.6 ppm พบว่า ส่งผลต่อน้ำหนัก ปริมาณอาหารที่กิน ประสิทธิภาพในการใช้ อาหาร และ เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด หรือ เปอร์เซ็นต์ซากแต่ง ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมยาปฏิชีวนะ (กุศลและวรรณพร, 2536; รัชดาวรรณ, 2543) อย่างไรก็ตาม เนื้อไก่ในกลุ่มเสริมฟ้าทะลายโจรเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคสูงกว่ากลุ่มอื่น และ ไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่ได้รับฟ้าทะลายโจรในอาหารในระดับ 0.2% มีเปอร์เซ็นต์ซากแต่งและการยอมรับจากผู้บริโภคสูงสุด ส่วนในไก่ไข่พบว่า การเสริมฟ้าทะลายโจรในระดับ 0.1-0.5% สามารถเพิ่มอัตราการเลี้ยงรอดของแม่ไก่และความเข้มของไข่แดงเพิ่มสูงขึ้นตามระดับ ฟ้าทะลายโจรเสริมอาหารที่เพิ่มขึ้น และต้นทุนค่าอาหารของไข่ที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นตามระดับฟ้าทะลายโจรในอาหารที่เพิ่มขึ้น (รัชดาวรรณ, 2543) จากผลการศึกษาผลของการเติมฟ้าทะลายโจรลงในอาหารไก่พบว่าสมุนไพรชนิดนี้น่าจะมีศักยภาพในการใช้เพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะได้

ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* Wall. Ex Nees) เป็นพืชล้มลุก มีสารที่ออกฤทธิ์ 2 ชนิด คือ สารกลุ่ม lactones ได้แก่ andrographolide, deoxyandrographalide และ neoandrographolide และสารในกลุ่ม flavone การเก็บเกี่ยวควรเก็บในช่วงที่ออกดอก สารสำคัญพบมากที่สุดที่ใบและน้อยที่สุดที่ลำต้น

(สุภาพร, 2545) Komsri (1997) เติรียมสารสกัดจากตัวทำละลาย 4 ชนิดได้แก่ ethanol, benzene-ethanol, hexane-ethanol และ acetone พบว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดให้ % yield ที่ต่างกันดังนี้ 13.89, 5.71, 1.81 และ 10.92 ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีปริมาณ Andrographolide เป็น 6.57, 1.87-3.72, 0.12-4.67 และ 18.54 %w/v ตามลำดับ และ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *P. gingivalis* W50 พบว่าค่า minimum inhibitory concentration (mg/ml) เท่ากับ 95.01

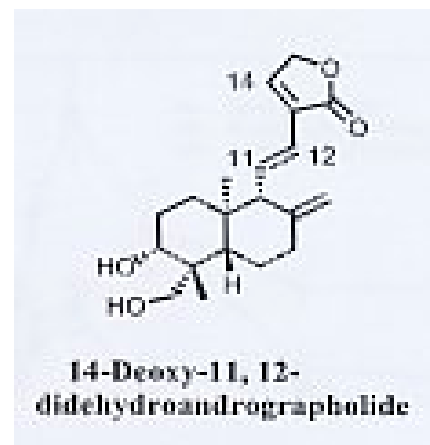
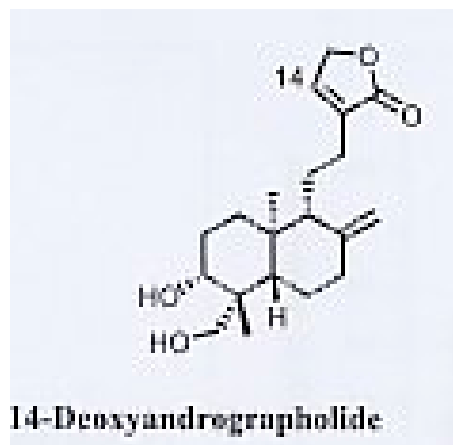
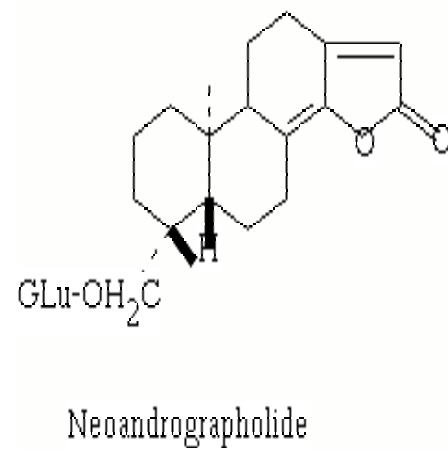
เนื่องจากสมุนไพรมะลายโอรมีศักยภาพต่อประสิทธิภาพในการผลิต การสกัดฟ้าทะลายโอรแล้วนำไปผสมอาหารโดยไม่ทราบว่ามีปริมาณสารสำคัญเท่าใด อาจทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดในอาหารไม่สม่ำเสมอ ได้ผลไม่แน่นอน หากนำมาศึกษาขั้นตอนและวิธีการที่เหมาะสม สามารถหาวิธีแปรรูปสารสกัดฟ้าทะลายโอรที่ทราบปริมาณ andrographolide ที่แน่นอน มีคุณภาพและความคงตัวดีเพื่อใช้ผสมกับอาหารเลี้ยงไก่ ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับที่ขยายการผลิตได้ จะทำให้อาหารเลี้ยงไก่มีคุณภาพดี โรงงานอุตสาหกรรมอาหารสัตว์สามารถนำไปใช้ผลิตก็จะเกิดประโยชน์ต่อผู้ผลิตและผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดการนำเข้าและการใช้ยาปฏิชีวนะในไก่ เกษตรกรยังมีรายได้จากการปลูกฟ้าทะลายโอรเพื่อจำหน่าย และยังอาจทำให้สหภาพยุโรปยอมรับผลิตภัณฑ์ไก่ที่จะส่งออกต่อไปในอนาคต

### บททวนวรรณกรรม

ฟ้าทะลายโอร (*Andrographis paniculata* Wall. Ex Nees) เป็นไม้ล้มลุกจัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae พบทั่วไปในทวีปเอเชียมีชื่อท้องถิ่นว่า น้ำลายพังพอน (กรุงเทพฯ) หญ้าก้านู (สงขลา) ฟ้ายาง (พาสนิคม) เขตตายยายคลุม (โพธาราม) สามสิบดี (ร้อนเอ็ด) เมฆทะลาย (ยะลา) ฟ้ายะตัน (พัทลุง) Kalmegh (อินเดีย) Chaun Xin Lian (จีน) Hempudu Bumi (มาเลเซีย) ในประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์ทางยาจากทั้งต้นหรือเฉพาะใบ ฟ้าทะลายโอรมีสารที่ออกฤทธิ์หลักคือ diterpene lactones ได้แก่ andrographolide, neoandrographolide, deoxy-didehydroandrographolide, deoxy-oxoandrographolide และ deoxyandrographolide สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 1 และสารในกลุ่ม flavones เช่น oroxylin และ wogonin ปริมาณ andrographolide ในฟ้าทะลายโอรขึ้นกับระยะเวลาการเก็บ ส่วนใบในช่วงก่อนที่ดอกจะบานพบมากกว่า 2% และจะพบน้อยกว่า 0.5% หลังดอกบานแล้ว ลำต้นพบ andrographolide 0.1-0.4% ดังนั้นการเก็บเกี่ยวควรเก็บในช่วงดอกตูม (พร้อมจิตและคณะ, 2543, วันดี กฤษณพันธ์ม 2537ม สุภาพร, 2545 และ อ้างถึงใน Herbal Research-Menoly: Chuan Xin Lian . [http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte\\_08.shtml](http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte_08.shtml)) มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์พบว่าสารสกัดฟ้าทะลายโอรด้วยอัลกอฮอล์ 70 และ 80% สามารถฆ่าเชื้อที่เป็นสาเหตุของการท้องเสีย ได้แก่ *E. coli* และ *Vibrio cholerae* สารสกัดด้วยอัลกอฮอล์ 50 และ 85% มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ สารสกัดด้วยอัลกอฮอล์ น้ำคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ลดการอักเสบและมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยการเพิ่มประสิทธิภาพของเม็ดเลือดขาวในการทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) (อ้างอิงถึงในข้อมูลจากสำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล <http://medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/andro.html>) ทิพวัลย์และสุมาลี (2531) ทดลองเปรียบเทียบการสกัดสารออกฤทธิ์จากฟ้าทะลายโอรด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า สารสกัดฟ้าทะลายโอรทั้งต้นด้วยคลอโรฟอร์ม ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus aureus*, *b - hemolytic Streptococcus* group A และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากใบและทั้งต้นของฟ้าทะลายโอรด้วยน้ำ ให้ผลดีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง Gupta และคณะ (1990) พบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโอรมีผลในการรักษาโรคท้องร่วงที่มีสาเหตุจากเชื้อ *E. coli* โดย andrographolide และ neoandrographolide มีประสิทธิภาพเหมือน loperamide (Imodium) ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้อโรคท้องร่วง กุศล และวรรณพร (2538) ทดลองเปรียบเทียบการใช้ฟ้าทะลายโอรและ สาร

ปฏิกิริยาคลอสเตตราไซคลินเพื่อเร่งอัตราการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ พบว่าสามารถใช้ฟ้าทะลายโจรทดแทนคลอสเตตราไซคลินได้ พัชร และคณะ (2544) พบว่าการใช้ andrographolide บริสุทธิ์ที่สกัดจากใบฟ้าทะลายโจรผสมในอาหารไก่ในขนาด 0.45-1.80 กรัมต่ออาหาร 100 กิโลกรัม ไม่มีผลในการป้องกันและรักษาโรคทางเดินหายใจอักเสบเรื้อรังในไก่กระตังที่ถูกทำให้เป็นโรคด้วย เชื้อ *Mycoplasma gallisepticum* ยุทธนา และคณะ (2545) ทดลองรักษาลูกหมูที่ท้องร่วงจำนวน 136 ตัว ด้วยสมุนไพร 5 ชนิด เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะโดยสมุนไพรพบว่าฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่ง เปลือกผลมังคุด ไพล และขมิ้นชัน ที่ทำให้ลูกหมูหายท้องร่วงได้ดีตามลำดับ สำหรับการรักษาหมูที่เป็นโรกระบบทางเดินหายใจ 153 ตัว พบว่า สมุนไพร 4 ชนิด ที่มีผลการรักษาใกล้เคียงยาปฏิชีวนะ เรียงลำดับคือ ไพล ฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่งและเปลือกผลมังคุด โดยที่ขมิ้นชันให้ผลในการรักษาอย่างมาก จากการทดสอบฤทธิ์สารสกัดฟ้าทะลายโจร 3 เปอร์เซ็นต์ต่อการฆ่าเชื้อ *Vibrio* spp. ซึ่งแยกได้จากกุ้งป่วย จำนวน 30 สายพันธุ์ พบว่าค่าความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อ *Vibrio* spp. ตายมีค่าประมาณ 16 ppm ส่วนค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกกุ้ง P20 ตายครึ่งหนึ่ง ภายในเวลา 96 ชั่วโมง โดยวิธีแช่มีค่าประมาณ 688 ppm ซึ่งมีความเป็นพิษต่อกุ้งต่ำมาก (เต็มดวง, 2545) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะเจาะจงและไม่เฉพาะเจาะจงของสารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยเอชธานอล ในหนูทดลอง (Puri et al., 1993) Ajaja Kumar et al. (2004) พบว่า andrographolide, 14-deoxyandrographolide และ 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide ที่แยกได้จาก dichloromethane extract ของ methanolic extract จากต้นสดฟ้าทะลายโจรสามารถยับยั้ง HT-29 (colon cancer) cells และ เพิ่ม human peripheral blood lymphocytes ในความเข้มข้นต่ำ และเพิ่ม interleukin-2 (IL-2) ที่เหนี่ยวนำใน human peripheral blood lymphocytes

การทดสอบระดับความเป็นพิษของฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอชธานอลจากต้นฟ้าทะลายโจรทั้งต้นที่ทำให้หนูตายครึ่งหนึ่ง โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง มีค่ามากกว่า 215 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Weiming และ Xiaotian, 1982) สารสกัด 50% เอชธานอลมีค่าเท่ากับ 14.98 กรัมต่อกิโลกรัม และไม่พบพิษเฉียบพลันเมื่อให้ สารสกัด 50% เอชธานอลขนาดมากกว่า 15 กรัมต่อกิโลกรัมทางปากและฉีดเข้าทางผิวหนัง ไม่พบพิษกึ่งเรื้อรังเมื่อป้อนด้วยผงใบ ส่วนหนูที่ได้รับในขนาด 150 กรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลงเล็กน้อย (อ้างอิงข้อมูลจากสำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล) อย่างไรก็ตาม มีรายงานการทดสอบระดับความเป็นพิษของสารสำคัญที่สกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ทำให้หนูตายครึ่งหนึ่งให้ทางปากดังนี้ total lactones 3.4 กรัมต่อกิโลกรัม, andrographolide > 40 กรัมต่อกิโลกรัม neoandrographolide >20 กรัมต่อกิโลกรัม deoxyandrographolide >20 กรัมต่อกิโลกรัม 14-Deoxy- 11, 12-didehydroandrographolide >20 กรัมต่อกิโลกรัม ในการทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลันพบว่าเมื่อป้อน andrographolide หรือ deoxyandrographolide 1 กรัมต่อกิโลกรัมต่อหนู rat และกระต่ายทุกวันติดต่อกัน 7 วันไม่พบว่ามีอาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก การทำงานของระบบเลือด ตับ ไต และเนื้อเยื่อในอวัยวะที่สำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อฉีด deoxyandrographolide เข้าช่องท้องในขนาด 84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ติดต่อกัน 10 วัน ไม่พบพิษในหนู rat (อ้างอิงใน Herbal Research-Menoly: Chuan Xin Lian . [http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte\\_08.shtml](http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte_08.shtml))



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของ andrographolide, neoandrographolide, 14-deoxyandrographolide และ 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide (Ajaja Kumar et al., 2004)

#### 4. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อแปรรูปสารสกัดฟ้าทะลายโจรให้อยู่ในรูปผงหรือแกรนูลเพื่อใช้ผสมในอาหารไก่โดยไม่เกิดการแยกผสม

#### 5. การดำเนินงานวิจัย

##### วัสดุและอุปกรณ์:

สารเคมีที่ใช้ในการผลิต ได้แก่ 95% Ethanol (กรมสรรพสามิต) สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ เป็น AR grade และ HPLC grade ได้แก่ Disodium hydrogen phosphate และ Potassium dihydrogen orthophosphate, จาก Ajax, Orthophosphoric acid, Acetonitrile จาก BDH, Methanol จาก Merck, Andrographolide จาก Sigma. น้ำผ่านเครื่อง Millipore มีแรงดันไฟฟ้า 18 โอห์ม แบ่งที่ใช้ในการศึกษา: แบ่งมันสำปะหลัง ตราปลาไทย 5 ดาว บริษัท อี ที ซี เอียบตงจัน จำกัด กรุงเทพฯ, แบ่งข้าวโพด Mc Garrett (แม็กกาเร็ต) บริษัท เบนแอนดโก กรุงเทพฯ, แบ่งข้าวเจ้า ตราดาว Thai Better Food Co. Ltd, Bangkok, แบ่งข้าวเหนียว (ชนิดไม่น้ำดีพิเศษ) ตราเหรียญทอง บริษัทอุตสาหกรรมแบ่งไทย จำกัด, แบ่งถั่วเขียว ตราต้นสน บริษัท สิทธิพันธ์ จำกัด กรุงเทพฯ, lactose, ฆมรดาสุต จำกัด กรุงเทพฯ

#### I. การสกัดฟ้าทะลายโจร

1. ซื้อผงฟ้าทะลายโจรจากโรงพยาบาลพล จังหวัดขอนแก่น 20 กิโลกรัม
2. ชั่งผงฟ้าทะลายโจร 1.5 กิโลกรัม เติมน้ำ 95% Ethanol 3 ลิตร ลงในขวดกลม
3. นำไปสกัดด้วย Soxhlet apparatus นาน 3 ชม
4. นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นโดย rotary evaporator
5. นำไปประเหยเอาอัลกอฮอล์ออกจนแห้งสนิทโดยใช้ lyophilizer
6. คำนวณหา % yields โดยคำนวณจากปริมาณร้อยละของสารสกัดที่แห้งสนิทต่อผงฟ้าทะลายโจร 1.5 กิโลกรัม

#### II. การศึกษาความเข้ากันทางกายภาพของสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรในสื่อชนิดต่าง ๆ แบบ Binary mixture โดย Differential Scanning Calorimetry (DSC)

##### 2.1 การผสม Binary mixture

แบ่งที่ใช้ศึกษา: แบ่งมันสำปะหลัง, แบ่งข้าวเหนียว, แบ่งข้าวเจ้า, แบ่งข้าวโพด, แบ่งถั่วเขียว และแลคโตส

การผสมตัวอย่าง:

1. ชั่งสารสกัดฟ้าทะลายโจรมา 3 กรัม ผสมกับแบ่ง 1 กรัมจนเป็นเนื้อเดียวกัน
2. ชั่งส่วนผสมอย่างแม่นยำบรรจุลงใน Aluminium pan ปิดให้สนิท
3. นำไปวัดหา Thermogram ของสารเดี่ยวและสารผสมเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของ Thermogram โดย Differential scanning calorimeter (DSC 822 Mettler Toledo, Switzerland) ในช่วง 30-250°C 10°C/min

#### III. การศึกษาความเข้ากันทางเคมีของสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรในสื่อชนิดต่าง ๆ แบบ Binary mixture

##### 3.1 การเตรียมตัวอย่างแบบ Binary mixture

1. ชั่งสารสกัดฟ้าทะลายโจรมา 2 กรัม ผสมกับแบ่ง 2 กรัม เติมน้ำ 0.2 มล ผสมให้เข้ากัน ปิดขวดให้สนิทพันทับด้วย parafilm
2. นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45°C แล้วเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide ที่เวลา 0, 2 และ 5 สัปดาห์

#### IV. Formulation optimization using 3<sup>2</sup> Factorial design

ตัวแปรที่ศึกษา: ปริมาณแป้งข้าวเจ้า, อุณหภูมิ

รหัส

| Variables                | High (+) | Medium (0) | Low (-) |
|--------------------------|----------|------------|---------|
| สารสกัดแป้งข้าวเจ้า (gm) | 1:4      | 1:3        | 1:2     |
| อุณหภูมิที่ใช้อบ (°C)    | 80       | 60         | 40      |

#### Formulations

| Formula No. | สัดส่วน | อุณหภูมิที่ใช้อบ (°C) |
|-------------|---------|-----------------------|
| 1           | -       | -                     |
| 2           | 0       | -                     |
| 3           | +       | -                     |
| 4           | -       | 0                     |
| 5           | 0       | 0                     |
| 6           | +       | 0                     |
| 7           | -       | +                     |
| 8           | 0       | +                     |
| 9           | +       | +                     |

#### ส่วนประกอบของตำรับที่ทดสอบ

| ส่วนประกอบ                     | ตำรับที่ 1 | ตำรับที่ 2 | ตำรับที่ 3 |
|--------------------------------|------------|------------|------------|
| สารสกัดฟ้าทะลายโจร (กรัม)      | 40         | 30         | 24         |
| แป้งข้าวเจ้า (กรัม)            | 80         | 90         | 96         |
| 10% tapioca starch paste(กรัม) | 32         | 32         | 32         |

#### วิธีเตรียม

1. ละลายสารสกัดฟ้าทะลายโจรใน 95% Ethanol เพียงพอที่ไม่ให้สารสกัดจับกันเป็นก้อน เติมน้ำผสมแบบ geometric dilution ผสมจนเข้ากัน
2. เติมน้ำ 10% starch paste ลงในตำรับผสมจนได้ wet mass
3. นำไปผ่าน Sieve No. 10
4. ชั่งแกรนูลเปียกแต่ละตำรับๆ ละ 40 กรัม จำนวน 3 กระชง นำแต่ละกระชงไปอบที่อุณหภูมิ 40, 60, 80 °C นาน 3 ชม
5. นำแกรนูลแห้งมาแรงผ่าน Sieve No. 10 แล้วบรรจุในขวดแก้วปิดให้สนิท ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำไปหาขนาดแกรนูลโดย sieve analysis และ หา % Loss on drying ด้วยเครื่อง Sartorius Thermal Control, Switzerland.
6. นำตัวอย่างทั้งหมดไปอบที่ 45 °C เก็บมาวิเคราะห์หาปริมาณที่เวลา 0, 2, 5 สัปดาห์

## V. การศึกษาผลของตัวอย่างฟ้าทะลายโจรผงและแกรนูลต่อการดูดความชื้น

1. เตรียม saturated salt solution ได้แก่ potassium sulfate , potassium chloride, sodium chloride และ ammonium nitrate นำไปใส่ในภาชนะที่ปิดสนิทพร้อมขวดบรรจุตัวอย่างเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ( $26.1 \pm 0.6$  °C) อย่างน้อย 48 ชั่วโมง เพื่อให้ภายในภาชนะมีความชื้นสัมพัทธ์ที่ 96%, 84%, 75% และ 59% ตามลำดับ
2. ชั่งตัวอย่างปริมาณ 2 กรัม อย่างแม่นยำ ลงในภาชนะบรรจุที่ปิดอย่างหลวม ๆ บรรจุตัวอย่าง ลงในภาชนะที่ปิดสนิทที่เตรียมในข้อ 1
3. บันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนไป ณ วันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ
4. คำนวณหาน้ำหนักตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นที่เวลาต่างๆ
5. พล็อตกราฟระหว่างเวลากับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเพื่อหา moisture sorption profiles
6. หาค่าอัตราการดูดความชื้นในระหว่างวันที่ 0 กับ วันที่ 7 (rate of moisture uptake) นำค่าไป พล็อตกราฟระหว่าง rate of moisture uptake ต่อ % relative humidity
7. หาค่าความชื้นวิกฤตโดยลากเส้นตรงตัดกับแกน x อ่านค่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ rate of moisture uptake เป็น 0

## VI. การเตรียมตัวอย่างโดยเพิ่มขนาดการผลิตด้วยเครื่องมือหนัก

### การเตรียมผงจากสารสกัดฟ้าทะลายโจร

1. ผสมแป้งข้าวเจ้า 1350 กรัม แป้งมัน 48 กรัม ใน Sigma blade mixer นาน 10 นาที
2. ละลายสารสกัดฟ้าทะลายโจรหนัก 270 กรัม ด้วย 95% ethanol 500 มล. กลั้วสารสกัดที่ติดภาชนะด้วย 95% ethanol เทลงผสมรวมกัน ค่อย ๆ เติมลงใน ข้อ 1 ให้ผสมกันใน Sigma blade mixer นาน 30 นาที นำไปอบที่ 60 °C นาน 3 ชั่วโมง
3. นำตัวอย่างฟ้าทะลายโจรผงที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า Loss on drying และ Moisture sorption profile และ % Andrographolide

### การเตรียมแกรนูลจากสารสกัดฟ้าทะลายโจร

1. ละลายสารสกัดฟ้าทะลายโจรหนัก 960 กรัม ด้วย 95% ethanol 500 มล.
1. เทแป้งข้าวเจ้า 2880 กรัม ลงใน Sigma blade mixer เปิดเครื่องผสมพร้อมกับเทสารละลายฟ้าทะลายโจรสกัด 1460 กรัม ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน นาน 30 นาที
2. เท 10% tapioca starch pasteหนัก 102 กรัม ลงผสมจนได้ wet mass แล้วนำไปเข้าเครื่อง oscillating granulator ผ่านแรงเบอร์ 30 แล้วนำไปอบที่ 60 °C จนแห้งสนิทโดยแง้มฝาตู้อบเล็กน้อย นานประมาณ 3-4 ชั่วโมง
3. นำแกรนูลที่อบแห้งแล้วไปผ่าน แรงเบอร์ 20 โดยใช้เครื่อง oscillating granulator
4. ส่งตัวอย่างฟ้าทะลายโจรแกรนูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า Loss on drying และ Moisture sorption profile และ % Andrographolide

### การศึกษาความคงตัวของผงและแกรนูลที่สภาวะเร่ง

1. นำตัวอย่างที่เตรียมได้บรรจุในภาชนะแก้วใสปริมาณ 30 กรัม จำนวนอย่างละ 3 ขวด อบที่ 45 °C และอุณหภูมิห้องบริเวณที่มีแสงส่องถึง
2. สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณ andrographolide และ total lactones ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4 เดือน

### การเตรียมฟ้าทะลายโจรแกรนูล 50 กิโลกรัมจากสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่ซื้อมาในรูปผงแห้ง

1. นำสารสกัดชนิดผงแห้งที่ซื้อมาจากองค์การเภสัชกรรมจำนวน 21 กิโลกรัมและบริษัทชาวละออเภสัชจำนวน 4 กิโลกรัม มาทำการผลิตโดยปรับวิธีการผลิตแบบอิงวิธีเดิมโดยมีส่วนผสมดังนี้ สารสกัดฟ้าทะลายโจร 1752 กรัม แป้งข้าวเจ้า 3456 กรัม 95% อัลกอฮอล์ และ 10% w/w Tapioca starch paste 750 กรัม โดยแบ่งเตรียม 10 ครั้ง
2. ผสมแป้งข้าวเจ้ากับสารสกัดฟ้าทะลายโจรใน Sigma blade mixer นาน 15 นาที
3. เท 95% alcohol ลงผสมให้ทั่ว นาน 5 นาที แล้วเท 10% w/w tapioca starch paste ผสมต่อไป นาน 20 นาทีจนได้ wet mass
4. นำไปแรงผ่าน sieve no. 30 ด้วยเครื่อง oscillating granulator ลงถาด นำไปอบที่ 55-60 ° C นาน 12 ชั่วโมง
5. นำแกรนูลที่อบแห้งไปแรงผ่าน sieve no. 30 ด้วยเครื่อง oscillating granulator
6. นำแกรนูลแห้งที่เตรียมได้ในแต่ละครั้งมาผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง cubic mixer นาน 5 นาที
7. แบ่งบรรจุในถุงพลาสติกถุงละ 2 กิโลกรัม แล้วสุ่มมาถุงละ 200 กรัม จำนวน 3 ถุงเพื่อนำไปตรวจสอบคุณภาพทางเคมี ได้แก่ % andrographolide และ total lactones ควบคุมคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ การกระจายตัวของขนาดอนุภาค ขนาดอนุภาค flow ability, test compressibility, moisture content.

## **VII. การควบคุมคุณภาพ**

### **7.1 การควบคุมคุณภาพทางเคมี**

#### **7.1.1. การวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide**

##### ระบบ HPLC ที่ใช้วิเคราะห์

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide: HPLC (Agilent 110

0 series, Agilent Technologies, Germany).

ระบบที่ใช้ในการศึกษามีดังนี้

Column: Column Nova Pak<sup>®</sup> C-18 ขนาด 39 X 150 mm

Detector: 230 nm.

Flow rate: 1.5 ml/min

Volume of injection: 20 µl

##### การเตรียม Mobile phase

1. ละลาย Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 12 gm H<sub>2</sub>O 2.52 gm และ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.505 gm
2. เติมน้ำ 400 ml ปรับ pH ให้เท่ากับ 4.0 ด้วย phosphoric acid แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 ml
3. เติม Acetonitrile 215 ml ผสมให้เข้ากันนำไปกรองและ degas 45 นาที

##### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

##### **Standard Solution:**

1. เตรียม Stock Standard Solution of Andrographolide (12mg/ml) โดยชั่ง Andrographolide 12 mg เติมน้ำ methanol จนครบ 10.0 ml. sonicate 5 นาที จนละลายหมด
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานมา 50, 100, 200, 500, 700, และ 1000 µl เติมน้ำ methanol จนครบ 1000 µl ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน แล้วปิเปตมา 100 µl เติมน้ำ mobile phase จนครบ 1000 µl

### การวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide และ Total lactones

#### การปริมาณ Andrographolide

ปริมาณ andrographolide คำนวณโดยใช้ peak area เทียบกับ standard curve ของ andrographolide

#### การหาปริมาณ Total lactones

การคำนวณหา total lactones ทำโดยคิด peak area ของ peaks อื่นๆ ที่อยู่บน chromatogram มาเทียบเป็นสัดส่วนต่อ peak area ของ andrographolide แล้วเทียบเป็น % ในรูปของ andrographolide

### การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide

#### **สารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจร**

1. ชั่งสารสกัดหยาบมา 0.03 gm เติม methanol จนครบ 10 ml เขย่าให้เข้ากันนานประมาณ 1 ชม.
2. กรองเก็บ filtrate ด้วยกระดาษกรอง Wattman No. 1 บีบอัด filtrate มา 1.0 ml เจือจางใน mobile phase จนครบ 10.0 ml นำไปวิเคราะห์โดย HPLC

#### **Binary mixture**

1. ชั่งสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรที่ผสมกับแป้งชนิดต่างๆ มา 0.05 gm ให้มีปริมาณตัวยาประมาณ 3 mg
2. เติม methanol จนครบ 10 ml เขย่าให้เข้ากันนานประมาณ 1 ชม. กรองเก็บ filtrate ด้วยกระดาษกรอง Wattman No. 1 บีบอัด filtrate มา 1.0 ml เจือจางใน mobile phase จนครบ 10.0 ml นำไปวิเคราะห์โดย HPLC

#### **Formulation optimization**

1. ชั่งตัวอย่างให้มี สารสกัดฟ้าทะลายโจรประมาณ 0.05 กรัม ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 50.0 ml เขย่าให้ละลายประมาณ 1 ชม.
2. กรองเก็บ filtrate ด้วยกระดาษกรอง Wattman No. 1 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

### **7.2 การควบคุมคุณภาพทางกายภาพ**

#### **7.2.1 การหาขนาดแกรนูลด้วยวิธี Sieve analysis**

1. เตรียม Sieve (RETSCH, Germany) เรียงตามลำดับจากบนไปล่างดังนี้ Sieve No. 14, 16, 18, 20, 40, 60, 80, 100 ตามลำดับ
2. ชั่งแกรนูล 20 กรัม เกลี่ยให้สม่ำเสมอ ปิดฝานำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า (RETSCH VIBRO S/N 02359045, Germany) ความถี่ 50 Hz นาน 15 นาที
3. ชั่งน้ำหนักของแกรนูลที่ค้างอยู่ในแต่ละ Sieve นำไปวิเคราะห์หาขนาดของอนุภาคของแต่ละตัวรับ ทำการทดสอบ 3 ครั้ง
4. นำค่าที่ได้ไปพลอตกราฟระหว่างขนาดของอนุภาคต่อ % น้ำหนักของแกรนูลในแรงแต่ละเบอร์เพื่อดูการกระจายตัวของขนาดอนุภาค
5. หาขนาดของอนุภาคที่ 50% over size โดยการพลอตกราฟระหว่าง ขนาดของอนุภาค หรือ log (ขนาดของอนุภาค) ต่อค่า Cumulative frequency

#### **7.2.2 การหา % Loss on drying (%LOD)**

1. ชั่งแกรนูล 2 กรัม เปิดเครื่อง Moisture determining balance (Satorius, Thermo control YTC01L) ที่ 80 °C 30 นาที อ่านค่า % LOD

## 2. ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 1.2.3 การหาค่า Flow ability และ angle of repose

1. เติมตัวอย่างลงใน cone ของเครื่องวัด Flowability test (Pharma Test PTG S/N1-4611/B) ตั้งเวลาในการเปิด shutter นาน 5 วินาที
2. ทำการวัดหาอัตราการไหลของแกรนูล โดยตั้งโปรแกรมการหาอัตราการไหล บันทึกอัตราการไหลเป็นกรัมต่อวินาที
3. ทำการวัด angle of repose โดยตั้งโปรแกรมการหาองศาของกองตัวอย่าง บันทึกค่า angle of repose ของกองตัวอย่างที่วัดได้
4. ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

### 1.2.4 การหาค่า %Compressibility

1. หา Bulk density ของตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างหนัก 50 กรัมเทลง กระบอกตวงขนาด 100 มล. ที่ตะแคงทำมุม 45 องศา ค่อยๆ ตั้งกระบอกตวงขึ้น ปรับผิวหน้าตัวอย่างให้เรียบอ่านค่าปริมาตรที่ได้ คำนวณหาค่าความหนาแน่นเป็นกรัมต่อมิลลิลิตร
2. หา Tapped density โดยทำการเคาะกระบอกตวงที่บรรจุตัวอย่างในข้อ 1 สูงประมาณ 1 นิ้วอย่างต่อเนื่องจำนวน 100 ครั้งอ่านปริมาตรที่ได้คำนวณหาความหนาแน่นเป็นกรัมต่อมิลลิลิตร
3. คำนวณหา % Compressibility จากสูตร

$$\% \text{ Compressibility} = \frac{(\text{Tapped density} - \text{Bulk density}) \times 100}{\text{Tapped density}}$$

4. ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

## 6. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### I. การวิเคราะห์หาปริมาณ Andrographolide และ Total lactones

standard andrographolide มี retention time ที่  $2 \pm 0.04$  นาที (รูปที่ 2) ในขณะที่ ในตัวอย่างตรวจพบ peak andrographolide และ peak อื่น ๆ อยู่ที่ 2.38 , 2.7. 5.25 และ 9.02 นาที (รูปที่ 3 และ 4 ) ซึ่งต่อมาพบว่าสารที่ elute ออกมาที่ ประมาณ 9 นาทีคือ 14-deoxy, 11, 12-didehydroandrographolide ซึ่งเป็นสารหลักจากการสลายตัว

### II. การสกัดฟ้าทะลายโจร

จากการสกัดผงฟ้าทะลายโจรสดซึ่งเป็นวัตถุดิบจากโรงพยาบาลพล จังหวัดขอนแก่น (ตารางที่ 1) พบว่า ผงฟ้าทะลายโจรสดเมื่อสกัดด้วย 95% ethanol จะให้สารสกัดหายบ  $4.3 \pm 1.0$  % ดูดความชื้นได้ไว เหนียวข้น เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นสารสกัดที่ได้จึงเก็บไว้ในตู้เย็นช่องแช่แข็งก่อนนำมาใช้ เมื่อนำมาหาปริมาณ andrographolide พบว่าในผงฟ้าทะลายโจรสดมี andrographolide เฉลี่ย  $2.37$  %w/w ส่วนสารสกัดมี andrographolide เฉลี่ย  $18.63$  %w/w

### III. การศึกษาความเข้ากันทางกายภาพของสารสกัดฟ้าทะลายโจรกับสื่อชนิดๆ ต่างโดยวิธี DSC

การทดสอบความเข้ากันของตัวยาสำคัญกับส่วนประกอบในตำรับทางกายภาพด้วยวิธี Differential Scanning Calorimetry (DSC) โดยควบคุมอัตราเร็วในการให้ความร้อนที่  $10^{\circ}\text{C}$  ต่อนาที เมื่อนำ andrographolide ผง ฟ้าทะลายโจรสด สารสกัด และแป้งชนิดต่างๆ มาศึกษา DSC thermograms แบบเดี่ยว ๆ และแบบผสมใน สัดส่วนของสารสกัดต่อแป้ง 3 : 1 (รูปที่ 5-12; ตารางที่ 2) พบว่าการดูดกลืนพลังงานเป็นชนิด endothermic

peak โดย andrographolide แสดง endothermic peak ในช่วง  $233.82-238.20^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $236.61^{\circ}\text{C}$  ผงฟ้าทะลายโจรแสดง endothermic peak ในช่วง  $145.89-168.17^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $148.98^{\circ}\text{C}$  ส่วนสารสกัดฟ้าทะลายโจร แสดง endothermic peaks จำนวน 6 peaks คือในช่วง  $131.30-134.91^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $132.52^{\circ}\text{C}$  ช่วง  $175.11-179.58^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $177.70^{\circ}\text{C}$  ช่วง  $180.74-184.76^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $181.79^{\circ}\text{C}$  ช่วง  $195.07-199.93^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $196.23^{\circ}\text{C}$  ช่วง  $209.21-219.40^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $212.78^{\circ}\text{C}$  และ ช่วง  $230.48-233.52^{\circ}\text{C}$  ให้ peak ที่  $231.49^{\circ}\text{C}$  เมื่อนำสารสกัดมาผสมกับแป้งมันสำปะหลังพบว่า enthalpic peak ของทั้งสารสกัดและแป้งมันสำปะหลังมีการเปลี่ยนแปลงโดย onset ของ andrographolide ในสารสกัดฟ้าทะลายโจรเพิ่มขึ้น  $6.12^{\circ}\text{C}$  DSC thermogram มี endothermic peaks เพิ่มขึ้นและแสดง peak ใกล้กับตำแหน่งของ peak andrographolide (รูปที่ 4) ส่วนสารสกัดเมื่อผสมกับแป้งข้าวโพดพบว่าการเปลี่ยนแปลงโดย onset ของ andrographolide ในสารสกัดฟ้าทะลายโจรเพิ่มขึ้น  $4.41^{\circ}\text{C}$  (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบ DSC thermogram ของสารผสมเทียบกับสารเดี่ยว พบว่าตำแหน่ง peak ของแป้งข้าวโพดและสารสกัดมีการรวมกัน ส่วนตำแหน่งที่ใกล้กับ andrographolide มีลักษณะ broad (รูปที่ 6) เมื่อผสมสารสกัดกับแป้งข้าวเหนียวพบว่าการเปลี่ยนแปลงโดย onset ของ andrographolide ในสารสกัดฟ้าทะลายโจรเพิ่มขึ้น  $8.59^{\circ}\text{C}$  ส่วน DSC thermogram มีลักษณะทำนองเดียวกันกับการผสมกับแป้งข้าวโพด (รูปที่ 7) เมื่อผสมสารสกัดกับแป้งข้าวเจ้าพบว่าการเปลี่ยนแปลงโดย onset ของ andrographolide ในสารสกัดฟ้าทะลายโจรน้อยมากเพียง  $-0.28^{\circ}\text{C}$  แต่ต่ำกว่า andrographolide (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบ DSC thermogram พบว่าเมื่อผสมสารสกัดเข้ากับแป้งข้าวเจ้าตำแหน่ง endothermic peak ของแป้งมีการดูดกลืนพลังงานเพิ่มขึ้นพร้อมกับตำแหน่งในการดูดกลืนพลังงานสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีจำนวน endothermic peaks เพิ่มขึ้น (รูปที่ 8) เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อผสมสารสกัดกับแป้งถั่วเขียว thermogram ของสารผสมไม่แสดง endothermic peak ของสารสกัด (รูปที่ 9) นอกจากนี้ onset ของสารผสมยังมีแนวโน้มว่าจะลดลงอีกด้วย และเมื่อผสมสารสกัดกับแลคโตสพบว่าการซ้อนทับของ endothermic peak ระหว่าง andrographolide กับ แลคโตส และ peak ของสารสกัดบางส่วนหายไป (รูปที่ 10) เมื่อเปรียบเทียบ DSC thermogram ระหว่างแป้งมันสำปะหลังและแป้งข้าวเจ้าพบว่ามี enthalpic peak ใกล้เคียงกับตำแหน่งของ 98% andrographolide peak เมื่อผสมกับสารสกัด อย่างไรก็ตามตำแหน่ง endothermic peak ของ andrographolide ในแป้งมันสำปะหลังจะต่ำกว่าของ 98% andrographolide peak และมีขนาดที่ใหญ่มากเมื่อเทียบกับสารสกัดเพียงอย่างเดียวซึ่งแสดง peak ของ andrographolide ที่เล็กมากและคนละตำแหน่งกับ 98% andrographolide peak ซึ่งอาจเป็นข้อบ่งชี้ถึงความไม่เข้ากันของสารสกัดกับแป้งมันสำปะหลัง ขณะที่ andrographolide ของสารสกัดในแป้งข้าวเจ้าจะอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้กับ onset ของ 98% andrographolide peak (รูปที่ 11) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบ DSC thermogram ของแป้งทุกชนิดเมื่อผสมกับสารสกัด (รูปที่ 12) พบว่ามีเพียงแป้งข้าวเจ้าที่แสดง peak ขนาดใหญ่ในตำแหน่งใกล้เคียงกับ andrographolide ในสารสกัด อย่างไรก็ตาม ยังต้องตรวจสอบความคงตัวทางเคมีเพื่อยืนยันผลความเข้ากันทางเคมีต่อไป

#### IV. การศึกษาความเข้ากันทางเคมีของสารสกัดฟ้าทะลายโจรกับสื่อชนิดๆ ต่างโดยวิธี Binary mixture

เมื่อนำส่วนผสมระหว่างสารสกัดต่อแป้งในอัตราส่วน 1:1 เก็บไว้ที่  $45^{\circ}\text{C}$  มาวิเคราะห์ที่เวลา 0, 2 และ 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณ andrographolide ในสารสกัดเมื่อผสมกับแป้งทุกชนิดมีแนวโน้มว่าจะคงตัวดีที่อุณหภูมิ  $45^{\circ}\text{C}$  (ตารางที่ 3)

## V. Formulation optimization

### ลักษณะทางกายภาพของแกรนูลในแต่ละตำรับ

จากผลการศึกษาความเข้ากันได้ทางกายภาพและทางเคมีของแป้งชนิดต่างๆ พบว่าสารสกัดเมื่อผสมกับแป้ง มีผลให้ DSC thermogram ของสารสกัดเปลี่ยนไปโดยทำให้ onset ของ andrographolide มากขึ้นหรือ melting point ของ andrographolide ในสารสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาถึงความคงตัวของแป้ง พบว่า แป้งทุกชนิดไม่มีผลต่อความคงตัวของ andrographolide เมื่อเก็บที่ 45 °C นาน 5 สัปดาห์ และเมื่อนำ DSC thermograms ของสารผสมมาพิจารณา พบว่าแป้งที่น่าจะมีศักยภาพในการนำมาศึกษาต่อคือแป้ง ข้าวเจ้า เนื่องจากแป้งข้าวเจ้าแสดง endothermic peak ของ andrographolide ใกล้เคียงกับ 98% andrographolide มากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ andrographolide (ตารางที่ 3) พบว่า แป้งข้าวเจ้ามีความคงตัวดี จึงทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของตำรับฟ้าทะลายโจรแกรนูล โดยปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ สัดส่วนของแป้ง และอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง เมื่อเตรียมแกรนูลและทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40, 60, 80 °C (ตารางที่ 4) พบว่าอุณหภูมิที่ใช้อบมีผลต่อขนาดของแกรนูลดังนี้ ที่สัดส่วนของสารสกัด 1 ส่วนต่อแป้งข้าวเจ้า 2 ส่วน พบว่าที่ 60 °C จะให้แกรนูลที่มีขนาดเล็กที่สุด (1.98 มม.) และ จะให้แกรนูลที่มีค่าความชื้นและขนาดน้อยกว่าอบที่ 40 และ 80 °C ตามลำดับ และผลเป็นไปในทำนองเดียวกัน กับสัดส่วนของสารสกัดต่อแป้งข้าวเจ้า 1 ต่อ 3 และ 1 ต่อ 4 เมื่อสังเกตแนวโน้มของขนาดแกรนูลพบว่าขนาด จะเล็กลงที่อุณหภูมิ 60 °C แต่กลับโตขึ้นเมื่ออบที่ 80 °C เนื่องจากขนาดของแกรนูลที่ได้หลังอบที่อุณหภูมิ ต่างกันไม่มีความสัมพันธ์กันเชิงเส้น จึงเป็นการยากที่จะอธิบายว่าเกิดอะไรขึ้น หากพิจารณาจาก พฤติกรรม ของของแข็งในระหว่างการอบแห้ง (Lachman et al., 1986) อาจเป็นไปได้ว่า ที่อุณหภูมิ 40 °C drying rate ในช่วง initial adjustment ใกล้เคียงกับ constant rate period ทำให้ปริมาณความชื้นค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ ทำให้ไม่ส่งผลต่อขนาดของแกรนูลมากนัก และเมื่อถึงจุดที่เริ่มมี dry spot เกิดขึ้น drying rate จะลดต่ำลง จำนวน dry spots เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จน drying rate ลดต่ำลงอย่างสม่ำเสมอ หรืออยู่ในช่วง first falling rate period เมื่อน้ำที่ผิวระเหยออกไปหมด drying rate จะขึ้นกับอัตราการแพร่ของความชื้นไปที่ผิวของแกรนูล ระยะนี้ dry rate จะเร็วกว่าระยะแรกหรือเรียกว่า second falling rate period ในขณะที่เมื่ออบที่อุณหภูมิ 60 °C drying rate ในช่วง initial adjustment จะมากกว่าที่อุณหภูมิ 40 °C ทำให้ความชื้นระเหยออกไป อย่างรวดเร็วเมื่อถึงช่วง first falling rate period และ second falling rate period น้ำจะระเหยออกได้เร็วกว่า ทำให้แกรนูลหดตัว ขนาดที่ได้จึงเล็กลง แต่เมื่ออบที่อุณหภูมิ 80 °C drying rate ในช่วง initial adjustment, first falling rate period และ second falling rate period จะมากกว่าที่อุณหภูมิ 60 °C มาก ซึ่งอาจทำให้น้ำ ที่ระเหยดันช่องว่างในแกรนูลให้กว้างออกมากขึ้น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าแกรนูลมีความพูนมากขึ้น ทำให้ ขนาดที่ได้ใหญ่กว่าเมื่ออบที่อุณหภูมิ 60 °C อย่างไรก็ตามเมื่อส่งตัวอย่างให้ สกว ตรวจสอบพบว่าแกรนูล ที่เตรียมได้มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะนำไปผสมให้เข้ากับอาหารเพื่อนำไปอัดเม็ด ต้องนำไปบดก่อนที่จะนำไป ใช้ จึงได้ทำการเตรียมเป็น 2 รูปแบบคือในรูปแบบผง และแกรนูล โดยลดขนาดแกรนูลลงมาพบว่าแกรนูล ขนาดที่อยู่ระหว่าง Sieve No. 20/40 เป็นขนาดที่เหมาะสม

### ความคงตัวของเคมีของ andrographolide ในแต่ละตำรับ

จากตารางที่ 5 พบว่าสัดส่วนของสารสกัดต่อแป้งข้าวเจ้าและอุณหภูมิในการอบมีผลต่อปริมาณ andrographolide น้อยมาก และปริมาณ total lactones ซึ่งคำนวณเทียบกับ andrographolide ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lomlim et al. (2003) ที่พบว่า andrographolide ในรูปผลึกคงตัวได้น้อย 3 เดือนที่อุณหภูมิ 70 °C 75% RH และลำดับการสลายตัวเป็นชนิดลำดับที่สอง โดยมีค่าคงที่ของการสลายตัว

ที่ 25 °C เท่ากับ  $3.8 \times 10^{-6}$  (ความเข้มข้น)<sup>-1</sup> (ชั่วโมง)<sup>-1</sup> โดยสารหลักที่ได้จากการสลายตัวคือ 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide

#### VI. การขยายขนาดการผลิตฟ้าทะลายโจรผงและแกรนูล

จากการขยายขนาดการผลิตโดยใช้เครื่องมือหนัก โดยเตรียมฟ้าทะลายโจรผงประมาณ 2 กิโลกรัม และ ฟ้าทะลายโจรแกรนูลประมาณ 4 กิโลกรัม เมื่อนำมาประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ (ตารางที่ 6) พบว่าทั้งในรูปแบบผงและแกรนูลมีปริมาณความชื้นค่อนข้างสูง อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อเอาตัวอย่างออกจากตูบ ตัวอย่างอาจจะดูดความชื้นในบรรยากาศได้อย่างรวดเร็ว เมื่อนำมาศึกษาเพื่อหาความสามารถของตัวอย่างเพื่อหาจุดความชื้นวิกฤต (critical relative humidity) หรือความชื้นสัมพัทธ์ที่ทำให้ตัวอย่างมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Kuu *et al.*, 1998) พบว่าฟ้าทะลายโจรผงมีจุดความชื้นวิกฤตเป็น 66.96 %RH (รูปที่ 13) ส่วนแกรนูลมีค่าเป็น 67.35 %RH (รูปที่ 14) ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 96%RH พบว่าทั้ง 2 รูปแบบมีแนวโน้มเห็นได้ชัด ณ วันที่ 30 นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักความชื้นของตัวอย่างทั้ง 2 รูปแบบลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 15 และ 16) ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายได้ว่าเกิดจากสาเหตุใด ทั้งนี้อาจเกิดจากตัวอย่างดูดความชื้นไว้ค่อนข้างมากเมื่อนำออกมาจากภาชนะที่ควบคุมความชื้นเพื่อนำมาซึ่งที่อุณหภูมิห้องซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่า ทำให้ความชื้นในตัวอย่งบางส่วนหายไป และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 75 และ 84% RH พบว่าทั้ง 2 ตัวอย่างเข้าสู่ความชื้นสมดุล ณ วันที่ 14 ส่วนที่ความชื้นสัมพัทธ์ 59 % RH ความชื้นในตำรับทั้ง 2 มีแนวโน้มว่าจะลดลงเนื่องจากตัวอย่างอยู่ในสภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ แสดงว่าหากต้องการเก็บฟ้าทะลายโจรผงให้มีความชื้นน้อยที่สุดต้องเก็บตัวอย่างไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 66.96 %RH และต้องเก็บฟ้าทะลายโจรแกรนูลที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 67.35 %RH และหากเก็บในที่ที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูง อาจเกิดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราสายได้ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นควรออกแบบภาชนะบรรจุให้มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่าจุดความชื้นวิกฤต เมื่อนำมาหาขนาดโดยเฉลี่ยของอนุภาคพบว่าฟ้าทะลายโจรผงมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคเป็น 190.57  $\mu\text{m}$  โดยคิดจากการหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง cumulative % frequency ต่อ Log particle size (รูปที่ 17 และ 18) ส่วนฟ้าทะลายโจรแกรนูลมีขนาด 648.86  $\mu\text{m}$  โดยคิดจากการหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง cumulative % frequency ต่อ particle size (รูปที่ 19) ข้อเสียของการเตรียมในรูปแบบผงพบว่าเมื่อเก็บไว้ผงยาจับกันเป็นก้อนต้องเขย่าแรงๆ เพื่อให้ผงยากระจายตัว ในขณะที่ในรูปแบบแกรนูลจะไม่จับกันเป็นก้อนเขย่าเบาๆ ก็กระจายตัวได้ดี ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอนุภาคของผงยามีขนาดเล็กโอกาสที่ผงยาจะเกิดไฟฟ้าสถิตย์ทำให้การผสมกันยากขึ้น ขณะเดียวกันผงที่กดทับกันประกอบกับความชื้นในบรรยากาศอาจทำให้ผงยาจับกันเป็นก้อน ในขณะที่แกรนูลมีขนาดใหญ่มีการไหลแบบอิสระ จึงไม่พบปัญหาเรื่องการจับกันเป็นก้อน นอกจากนี้การเก็บผงยาในภาชนะใส เมื่อถูกแสงอาจทำให้สีเขียวของคลอโรฟิลล์ถูกออกซิไดซ์มีผลทำให้ผงยามีสีจางลง ถึงแม้ว่าปริมาณ andrographolide และ total lactones ไม่เปลี่ยนแปลงก็ตาม แต่อาจทำให้ผู้ใช้เข้าใจผิดว่าปริมาณสารสำคัญลดลงจากสีที่เปลี่ยนไป เมื่อนำมาขยายระดับการผลิตเป็น 52 กิโลกรัม โดยเตรียมเพื่อการสูญเสียในระหว่างการผลิตและจากการศึกษาคุณสมบัติของแกรนูล (ตารางที่ 8) พบว่าปริมาณแกรนูลที่เตรียมได้เป็น 48 กิโลกรัมโดยมีการสูญเสียในระหว่างการผลิตและการวิเคราะห์คุณภาพเป็นปริมาณ 4 กิโลกรัม หรือ 7.7 % แกรนูลที่เตรียมได้มีค่า repose angle  $32.43 \pm 0.15$  องศา ซึ่งมากกว่า 30 องศา แสดงว่าแกรนูลที่เตรียมได้มีการไหลค่อนข้างดี (Lachman *et al.*, 1986) ค่า flowability ( $7.44 \pm 0.03$ ) ซึ่งสัมพันธ์กับค่า % compressibility ( $14.84 \pm 0.01$ ) บ่งชี้ถึงการไหลของแกรนูลว่าอยู่ในระดับดีเยี่ยม โดยมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นของแกรนูลที่เตรียมได้เท่ากับ  $3.96 \pm 0.03$  ขนาดของแกรนูลเฉลี่ยเท่ากับ  $603.99 \pm 0.50$  ไมครอน

### การศึกษาความคงตัวของฟัทะลายโจรผงและแกรนูล

จากรูปที่ 20 และตารางที่ 7 เมื่อเก็บตัวอย่างฟัทะลายโจรผงในภาชนะปิดสนิทไว้ที่ 45 °C พบว่าปริมาณ andrographolide ลดลงเหลือ  $89.55 \pm 4.45\%$  ณ เดือนที่ 3 และเหลือ  $82.92 \pm 5.31\%$  ณ เดือนที่ 4 โดยมี % total lactones มากกว่า % andrographolide ณ เดือนที่ 4 โดยมี ปริมาณ total lactones เหลืออยู่  $91.69 \pm 4.27\%$  เมื่อพิจารณาความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ในตัวอย่างฟัทะลายโจรแกรนูล (รูปที่ 21) พบว่าปริมาณ andrographolide และ total lactones ไม่ลดลง ณ เดือนที่ 4 คือมี andrographolide เป็น  $102.79 \pm 2.23\%$  และ total lactones เป็น  $100.54 \pm 3.85\%$  ปริมาณของสารสำคัญทั้ง andrographolide และ total lactones ลดลงแบบไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับระยะเวลาหรือไม่ได้เป็นแบบปฏิกิริยาลำดับที่ศูนย์ (Powder;  $r^2_{andro} = .8154$ ;  $r^2_{lactone} = .4300$ ; Granule  $r^2_{andro} = .0153$ ;  $r^2_{lactone} = .0141$ ) และ ปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 ชนิดไม่ได้ลดลงแบบ exponential ต่อเวลาที่เพิ่มขึ้น หรือไม่ก็เป็นแบบปฏิกิริยาลำดับที่หนึ่ง (Powder;  $r^2_{andro} = .8218$ ;  $r^2_{lactone} = .4324$ ; Granule  $r^2_{andro} = .0131$ ;  $r^2_{lactone} = .0140$ ) เมื่อหาลำดับการสลายตัวชนิดที่สองในผงโดยหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างส่วนกลับของค่าความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของ andrographolide ที่เริ่มต้นกับความเข้มข้นที่เหลือต่อเวลา พบว่าค่า linearity ( $r^2$ ) เป็น 0.6977 และเมื่อหาลำดับการสลายตัวชนิดที่สามโดยหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างส่วนกลับของค่าความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของ andrographolide ที่เริ่มต้นกับความเข้มข้นที่เหลือยกกำลังสองต่อเวลา พบว่าค่า linearity ( $r^2$ ) เป็น 0.7121 แสดงว่าลำดับการสลายตัวของ andrographolide ในตำรับฟัทะลายโจรผงมีแนวโน้มว่าจะเป็นการสลายตัวชนิดที่สาม โดยมีค่าคงที่ของการสลายตัวเท่ากับ  $8 \times 10^{-5}$  ต่อเปอร์เซ็นต์<sup>2</sup> ต่อวัน ในขณะที่ลำดับของการสลายตัวของตำรับฟัทะลายโจรแกรนูลพบว่า ลำดับการสลายตัวชนิดสองและสาม มีค่า linearity เป็น 0.8629, 0.5251 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีแนวโน้มก่อนไปทางลำดับชนิดที่สอง มีค่าคงที่ของการสลายตัวเท่ากับ  $1.37 \times 10^{-2}$  ต่อเปอร์เซ็นต์ต่อวัน ส่วนตัวอย่างที่เก็บไว้ ที่ อุณหภูมิห้อง ณ เดือนที่ 4 พบว่าฟัทะลายโจรผงมี andrographolide เหลืออยู่  $99.85 \pm 3.38\%$  total lactones เหลืออยู่  $99.23 \pm 3.13\%$  ส่วนฟัทะลายโจรแกรนูลมี andrographolide เหลืออยู่  $101.95 \pm 3.46\%$  total lactones เหลืออยู่  $101.37 \pm 3.50\%$  จะเห็นได้ว่าเมื่อเก็บตัวอย่างในสภาวะเร่ง ฟัทะลายโจรผงมีความคงตัวน้อยกว่าฟัทะลายโจรแกรนูล ทั้งอาจเป็นไปได้ว่าในรูปแบบผงจะมีพื้นที่ผิวมากที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อม ได้แก่ แสง ความร้อน ความชื้นสัมพัทธ์ อากาศ ส่งผลให้เกิดการสลายตัวได้มากกว่ารูปแบบแกรนูล จากแนวทางการทดสอบความคงสภาพของยาของกองวิเคราะหยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (2535) เรื่องการศึกษาความคงสภาพแบบเร่งที่สภาวะ การเก็บที่ 45 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% โดยมีข้อกำหนดว่า หากปรากฏว่ายา ยังคงคุณภาพมาตรฐานในเดือนที่ 4 สามารถกำหนดอายุใช้ชั่วคราวได้ถึง 2 ปี จากการศึกษาพบว่า ณ เดือนที่ 4 ฟัทะลายโจรผงมีปริมาณ andrographolide ลดลงต่ำกว่า 10 % (ปริมาณ andrographolide คงเหลือเท่ากับ  $82.92 \pm 5.31\%$ ) แสดงว่าฟัทะลายโจรผงน่าจะมียาอายุต่ำกว่า 2 ปี ส่วนฟัทะลายโจรแกรนูล พบว่ายังคงมีปริมาณ andrographolide คงเหลือเป็น  $102.79 \pm 2.23\%$  และ total lactones เป็น  $100.54 \pm 3.85\%$  แสดงว่าอายุของฟัทะลายโจรแกรนูลชั่วคราวน่าจะมียาอายุได้ถึง 2 ปี อย่างไรก็ตาม ยังต้องศึกษาถึงความคงตัวในสภาวะจริงเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปี นอกจากนี้ยังต้องศึกษาผลของภาชนะบรรจุที่บรรจุฟัทะลายโจรในสภาวะจริงต่อความคงตัว เพื่อประกอบการกำหนดอายุของผลิตภัณฑ์ต่อไป

### VII. ต้นทุนในการผลิต

จากการเตรียมฟ้าทะลายโจรแกรนูลในระดับ 52 กิโลกรัม โดยใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรทั้งหมด 26 กิโลกรัม พบว่า มีการสูญเสียฟ้าทะลายโจรแกรนูลในระหว่างกระบวนการผลิตและควบคุมคุณภาพไป 4 กิโลกรัม ได้ผลผลิตทั้งหมด 48 กิโลกรัม ดังนั้นต้นทุนในการผลิตโดยไม่คำนึงถึงปริมาณ andrographolide การสูญเสียระหว่างผลิต ค่าเสื่อมราคาและค่าไฟฟ้าจะอยู่ที่ 953.29 บาทต่อกิโลกรัม (คิดราคาเฉลี่ยจาก 2 โรงงาน) อย่างไรก็ตามต้นทุนการผลิตหลักจะขึ้นกับราคาค่าต้นทุนของสารสกัดซึ่งค่อนข้างจะแปรปรวน เช่น สารสกัดฟ้าทะลายโจรขององค์การเภสัชกรรม จะอยู่ที่ 2500 บาทต่อกิโลกรัม ขณะที่บริษัทชาวละอองเภสัชราคาจะเป็น 856 บาทต่อกิโลกรัม ดังนั้นต้นทุนต่อกิโลกรัมจะอยู่ระหว่าง 1225.89 - 680.69 บาท โดยฟ้าทะลายโจรแกรนูล Lot นี้มีปริมาณ andrographolide เพียง 1.48 % total lactones 1.74% (ตารางที่ 9) อย่างไรก็ตาม หากปริมาณ andrographolide ในตำรับมีมาก ปริมาณการนำไปผสมอาหารสัตว์ก็จะต่ำลงอาจทำให้ต้นทุนต่ออาหารสัตว์ถูกลง หากต้องการลดต้นทุนอาจใช้สื่ออื่นๆ ที่มีราคาถูกลง เช่น แกลบฝักข้าวโพด ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงความเข้ากันได้ของสารสำคัญและสื่อที่เลือกใช้และความคงตัวของสารสำคัญ

## 7. สรุปผล

โดยสรุปการเตรียมสารสกัดฟ้าทะลายโจรในรูปแบบแกรนูลเพื่อให้มีคุณภาพดี เพื่อใช้เป็นสารเสริมอาหารสำหรับไก่ โดยมีอายุของผลิตภัณฑ์อย่างน้อย 2 ปี ควรเตรียมแกรนูล โดยวิธี wet granulation เนื่องจากในตำรับมีส่วนผสมของอัลกอฮอล์ ดังนั้นเพื่อป้องกันอันตรายจากการระเบิด ในการอบแห้งต้องไม่ปิดตู้อบให้สนิท และอบที่อุณหภูมิ 60 °C แล้วนำมาแรงแห้งให้มีขนาดอนุภาคที่อยู่ระหว่าง แรงเบอร์ 20/40 โดยใช้แบ่งข้าวเจ้าเป็นสารเจือจาง ในการบรรจุต้องเลือกภาชนะบรรจุที่สามารถควบคุมความชื้นให้ต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ 67.35 % หรือภายในภาชนะบรรจุอาจต้องใช้ Silica gel เพื่อควบคุมความชื้นและป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์ดูดความชื้นอย่างรวดเร็วและป้องกันการปนเปื้อนเชื้อราในสภาวะความชื้นสัมพัทธ์ที่สูง หรือใช้ภาชนะบรรจุแบบสูญญากาศ นอกจากนี้ภาชนะบรรจุควรใช้วัสดุทึบแสงเพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์ ในการนำเอาผลิตภัณฑ์ไปเตรียมเป็นอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด ซึ่งกระบวนการผลิตต้องผ่านความร้อนสูงถึง 80 °C นาน 3 นาที จากการศึกษาพบว่ากรอบแกรนูลที่ 80 °C นาน 3 ชม. ไม่มีผลต่อความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ทั้งนี้ ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงความเข้ากันได้ของฟ้าทะลายโจรแกรนูลและส่วนประกอบของอาหารเม็ดซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความคงตัวของ andrographolide และ total lactones ในตำรับหรืออายุของอาหารเม็ด จากการคำนวณต้นทุนการผลิตพบว่าฟ้าทะลายโจรแกรนูลมีต้นทุนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับ premix ที่ผสมยาปฏิชีวนะที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน ทั้งนี้ หากต้องการลดต้นทุนในการผลิตจะต้องเลือกใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่มีปริมาณ andrographolide สูง โดยอาจกำหนดระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม พันธุ์ที่เหมาะสม ส่วนที่จะนำมาสกัด นอกจากนี้อาจลดต้นทุนโดยการเลือกใช้สื่อที่มีราคาถูกเข้ากันได้กับสารสกัดและทำการศึกษาริเริ่มโดยนำไปเสริมอาหารเลี้ยงสัตว์ในฟาร์มต่อไป

## 8. เอกสารอ้างอิง

- กองวิเคราะห์ยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ แนวทางการทดสอบความคงสภาพของยา, หมวดที่ 1 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 1, พ.ศ. 2535 หน้า 19.
- กุศล คำเพราะและวรรณพร คำเพราะ (2536) สมุนไพรฟ้าทะลายโจรเพื่อการเลี้ยงไก่เนื้อ (ป้องกันโรคหลอดลมอักเสบ) สัตว์เศรษฐกิจ 11:38-44.
- ทิพวัลย์ เลี้ยงบุญเลิศชัย และ สุมาลี เหลืองสกุล (2531)ฤทธิ์ของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว, 4(3) : 128-135.

- พร้อมจิต ศรีลัมพ์ วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล และสมภาพ ประธานธรรักษ์. (2543) สมุนไพรสวนสิริรุกขชาติ. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 219 หน้า
- วันดี กฤษณพันธ์ (2537) สมุนไพรน้ำ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 257 หน้า
- เต็มดวง สมศิริ (2545) ฟาทะลายโจร วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ 12(1):1-3.
- ยุทธนา ศิริวัธนกุล และคณะ (2545) การวิจัยการใช้สมุนไพรทดแทนยาปฏิชีวนะในการผลิตเนื้อหมูที่ปลอดภัย วิชาการวิจัย 55:9-11.
- รัชดาวรรณ พูนพิพัฒน์ (2543) ผลของการเสริมสมุนไพรฟาทะลายโจรในอาหารไก่กระตังและไก่ไข่ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวบาล บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล <http://medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/andro.html>
- สุภาพร อธิโยดม (2545) ฟาทะลายโจรในไก่ : ประสิทธิภาพในการผลิต ใน นันทวัน บุญประภัสร์ และสุวรรณ ชีระวรรณ สมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แสงเทียนการพิมพ์ หน้า 66-77.
- พัชรี ทองคำคุณ วันทนี นรมิตมานสุข สุภาพร อธิโยดม บุญส่ง คงคาทิพย์. (2544) ผลการใช้ andrographolide จากใบฟาทะลายโจร. สัตวแพทยสาร 52(3): 43-52.
- Ajaja Kumar, R., Sridevi, K., Vijaya Kumar, S., Nanduri, S. and Rajagopal, S. (2004) Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*, *Journal of Ethnopharmacology* 92:291-295.
- Herbal Research-Menoly:Chuan Xin Lian . [http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte\\_08.shtml](http://www.diagnostiki.gr/herbal/menolyte_08.shtml)
- Komsri, R. (1997) Development of *Andrographis paniculata* extract gel Master of Science in Pharmacy Thesis, faculty of Graduate Studies , Mahidol University.
- Kuu, W., Chilamkurti, R., and Chen C. (1998) Effect of relative humidity and temperature on moisture sorption and stability of sodium bicarbonate powder. *International Journal of Pharmaceutics*, 166(2) : 167-175.
- Lachman, L., Lieberman, H.A. and Kanig, J.L. (1986) Theory and Practice of Industrial Pharmacy 3<sup>rd</sup> Philadelphia: Lea & Febiger.
- Lomlim, L., jirayupong, N. and Plubrukarn, A. (2003) Heat-accelerated degradation of solid-state andrographolide, *Chem. Pharm. Bull Tokyo*. 51 (1): 24-26.
- Puri, A., Saxena, R., Saxena, R.P., Saxena, K.C., Srivastava, V., Tandon, J.S. (1993) Immunostimulant agents from *Andrographis paniculata*. *Journal of Natural Products* 56:995-999..
- The United State Pharmacopeia / The National Formulary, USP 26 / NF 21 (2003). Asian edition. United State Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, USA.
- Weiming, C. and Xizotion, L. 1982. Deoxyandrographolide 19 b-D-glucoside from the leaves of *A. paniculata*. *Planta Medica* 15: 245-246.

ตารางที่ 1 ปริมาณ andrographolide ในฟ้าทะลายโจร

| ตัวอย่าง           | % Andrographolide (%w/w) | ลักษณะ                |
|--------------------|--------------------------|-----------------------|
| ผงฟ้าทะลายโจรบด    | 2.37 $\pm$ 0.32          | ผงละเอียดขนาด 60 mesh |
| สารสกัดฟ้าทะลายโจร | 18.63 $\pm$ 0.28         | ผงเหนียวสีเขียวเข้ม   |

% Yield ของสารสกัดจากผงฟ้าทะลายโจรบด 4.3  $\pm$  1.0 %w/w

ตารางที่ 2 enthalpic onset ของ Thermograms สารเดี่ยวและสารผสม

| ตัวอย่าง                | Onset (°C) | Onset (°C) | Onset (°C) | Onset (°C) | Onset (°C) | Onset (°C) |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Andrographolide         |            |            |            |            |            | 233.82     |
| ฟ้าทะลายโจรบด           | 145.89     |            |            |            |            |            |
| สารสกัดฟ้าทะลายโจร      | 131.30     | 175.11     | 180.74     | 195.07     | 209.21     | 230.48     |
| แป้งมันสำปะหลัง         | 147.47     |            |            |            |            |            |
| แป้งข้าวโพด             | 152.17     |            |            |            |            |            |
| แป้งข้าวงเหนียว         |            | 161.03     |            |            |            |            |
| แป้งข้าวเจ้า            |            | 162.57     |            |            |            |            |
| แป้งถั่วเขียว           | 158.42     |            |            |            |            |            |
| แอลกอฮอล์               | 147.99     | 160        |            |            | 215.07     | 223.63     |
| สารสกัด+แป้งมันสำปะหลัง |            | 171.43     | 181.89     | 197.07     | 222.40     | 236.60     |
| สารสกัด+แป้งข้าวโพด     | 130.19     | 184.04     | 189.58     | 203.99     | 225.25     | 234.89     |
| สารสกัด+แป้งข้าวงเหนียว |            | 178.55     | 201.85     | 210.64     | 229.50     | 239.07     |
| สารสกัด+แป้งข้าวเจ้า    |            | 177.34     | 187.96     | 195.64     | 224.55     | 230.20     |
| สารสกัด+แป้งถั่วเขียว   | 129.76     | 151.86     |            |            |            |            |
| สารสกัด+แอลกอฮอล์       | 92.21      | 165.35     |            |            | 237.93     | 245.00     |

ตารางที่ 3 ผลของสื่อชนิดต่าง ๆ ต่อความคงตัวของ andrographolide

| ตัวอย่าง                | % Andrographolide content, 45°C |              |              |
|-------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|
|                         | สัปดาห์ที่ 0                    | สัปดาห์ที่ 2 | สัปดาห์ที่ 5 |
| สารสกัด+แป้งมันสำปะหลัง | 100.00                          | 94.59        | 94.22        |
| สารสกัด+แป้งข้าวโพด     | 100.00                          | 103.86       | 102.23       |
| สารสกัด+แป้งข้าวงเหนียว | 100.00                          | 101.43       | 106.91       |
| สารสกัด+แป้งข้าวเจ้า    | 100.00                          | 125.34       | 125.34       |
| สารสกัด+แป้งถั่วเขียว   | 100.00                          | 120.48       | 126.55       |

ตารางที่ 4 การศึกษาคุณสมบัติของแกรนูลแห้ง

| ตำรับที่ | สัดส่วน<br>สารสกัด: แป้งข้าวเจ้า | อุณหภูมิที่อบ (°C) | %LOD | mean particle size (mm) |
|----------|----------------------------------|--------------------|------|-------------------------|
| 1        | 1:2                              | 40                 | 4.33 | 2.51                    |
| 2        | 1:3                              | 40                 | 3.69 | 2.46                    |
| 3        | 1:4                              | 40                 | 4.61 | 2.13                    |
| 4        | 1:2                              | 60                 | 1.89 | 1.98                    |
| 5        | 1:3                              | 60                 | 2.57 | 1.72                    |
| 6        | 1:4                              | 60                 | 2.55 | 2.03                    |
| 7        | 1:2                              | 80                 | 3.56 | 2.60                    |
| 8        | 1:3                              | 80                 | 5.17 | 1.89                    |
| 9        | 1:4                              | 80                 | 5.24 | 2.15                    |

หมายเหตุ: ขนาด แกรนูลคำนวณจากสมการความสัมพันธ์ระหว่าง cumulative % frequency และ particle size ที่ตำแหน่ง 50% oversize

ตารางที่ 5 ความคงตัวของ andrographolide และ total lactone ในตำรับฟ้าทะลายโจรแกรนูล

| ตำรับที่ | % Andrographolide content |              |              | % Total lactone |              |              |
|----------|---------------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|
|          | สัปดาห์ที่ 0              | สัปดาห์ที่ 2 | สัปดาห์ที่ 5 | สัปดาห์ที่ 0    | สัปดาห์ที่ 2 | สัปดาห์ที่ 5 |
| 1        | 100.00                    | 97.53        | 98.40        | 111.71          | 110.36       | 116.15       |
| 2        | 100.00                    | 94.06        | 94.69        | 110.00          | 105.16       | 106.72       |
| 3        | 100.00                    | 97.36        | 104.47       | 112.80          | 109.96       | 122.56       |
| 4        | 100.00                    | 96.34        | 101.89       | 112.74          | 107.67       | 116.63       |
| 5        | 100.00                    | 92.46        | 105.97       | 113.19          | 104.87       | 120.72       |
| 6        | 100.00                    | 99.18        | 100.21       | 111.29          | 111.91       | 114.17       |
| 7        | 100.00                    | 99.29        | 97.76        | 110.86          | 112.87       | 113.22       |
| 8        | 100.00                    | 96.12        | 92.39        | 110.71          | 108.70       | 107.92       |
| 9        | 100.00                    | 95.87        | 100.00       | 110.74          | 107.64       | 117.56       |

ตารางที่ 6 การประเมินคุณสมบัติของฟ้าทะลายโจรผงและแกรนูลเมื่อเพิ่มขนาดการผลิต (n=3)

| ตัวอย่าง          | % LOD<br>(80°C 30 min) | Critical relative humidity | ขนาดอนุภาคที่<br>50% oversize (µm) |
|-------------------|------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| ฟ้าทะลายโจรผง     | 8.33±0.06              | 66.96                      | 190.57                             |
| ฟ้าทะลายโจรแกรนูล | 8.13±0.13              | 67.35                      | 648.86                             |

ตารางที่ 7 ความคงตัวของฟ้าทะลายโจรผงและฟ้าทะลายโจรแกรนูล ในสภาวะเร่ง

| เวลา (วัน) | ฟ้าทะลายโจรผง     |                  | ฟ้าทะลายโจรแกรนูล |                  |
|------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
|            | % Andrographolide | % Total lactones | % Andrographolide | % Total lactones |
| 0          | 100.00±7.00       | 100.10±5.86      | 100.00±5.08       | 100.05±5.16      |
| 30         | 90.20±3.92        | 96.54±3.28       | 99.03±0.68        | 101.14±0.90      |
| 60         | 90.55±3.98        | 99.12±2.68       | 94.80±0.45        | 98.19±0.40       |
| 120        | 89.55±4.45        | 99.11±2.03       | 95.96±1.78        | 99.18±1.43       |
| 180        | 82.92±5.31        | 91.69±4.27       | 102.79±2.23       | 100.54±3.85      |

ตารางที่ 8 การประเมินคุณภาพของฟ้าทะลายโจรแกรนูลที่เตรียมในปริมาณ 50 กิโลกรัม

| การประเมิน                              | ผล (n = 3)    |
|-----------------------------------------|---------------|
| % Andrographolide                       | 1.48 ± 0.03   |
| % Total lactones cal as andrographolide | 1.74 ± 0.03   |
| Angle of repose (degree)                | 32.43 ± 0.15  |
| Flow ability (gm/sec)                   | 7.44 ± 0.03   |
| % Compressibility                       | 14.84 ± 0.01  |
| % LOD                                   | 3.96 ± 0.03   |
| Mean Particle size (µm)                 | 603.99 ± 0.50 |

หมายเหตุ สารสกัดฟ้าทะลายโจรจากองค์การเภสัชกรรมมี andrographolide 5% และของบริษัทฯ ว่างออกเภสัชมี 3%

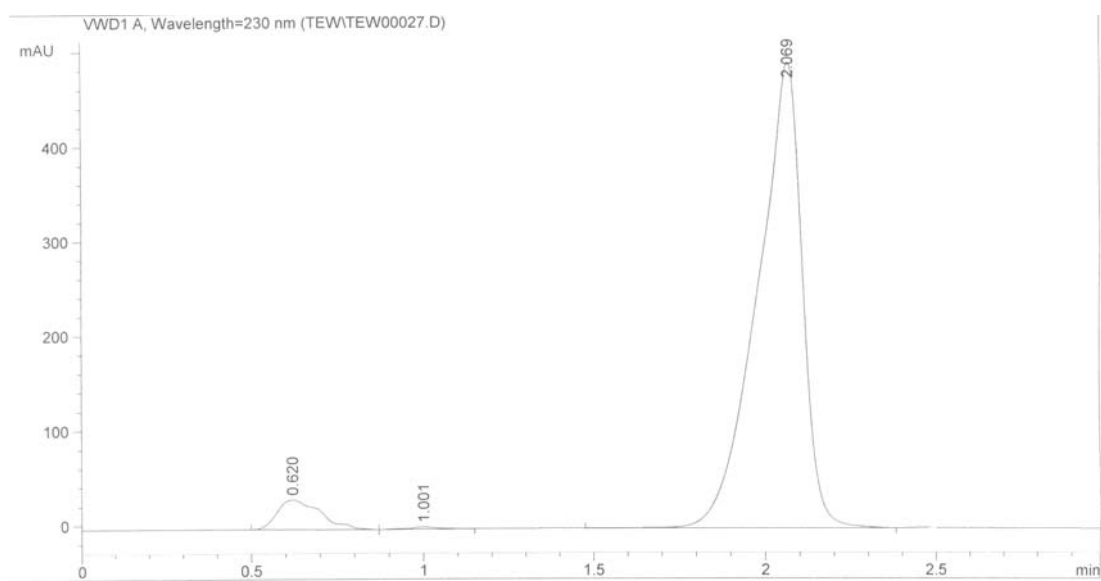
ตารางที่ 9 การคำนวณต้นทุนในการผลิต\*

| รายการ                     | ต้นทุน                 | ปริมาณ (กรัม) | ราคารวม (บาท) |
|----------------------------|------------------------|---------------|---------------|
| สารสกัดฟ้าทะลายโจร**       | 1678.00 บาทต่อกิโลกรัม | 1752          | 2939.86       |
| แป้งข้าวเจ้า ตราสิงห์ดาว   | 16.50 บาทต่อกิโลกรัม   | 3456          | 57.02         |
| แป้งมันสำปะหลัง            | 8.00 บาทต่อกิโลกรัม    | 75            | 0.60          |
| 95% Ethanol (กรมสรรพสามิต) | 100.00 บาทต่อลิตร      | 700           | 70.00         |
| Deionized water            | 0.25 บาทต่อลิตร        | 675           | 168.75        |
| ค่าจ้างเหมา                | 200.00 บาทต่อ lot      | -             | 200.00        |
| สารสกัดฟ้าทะลายโจรแกรนูล   | 953.29 บาทต่อกิโลกรัม  | 5283***       | 5036.23       |

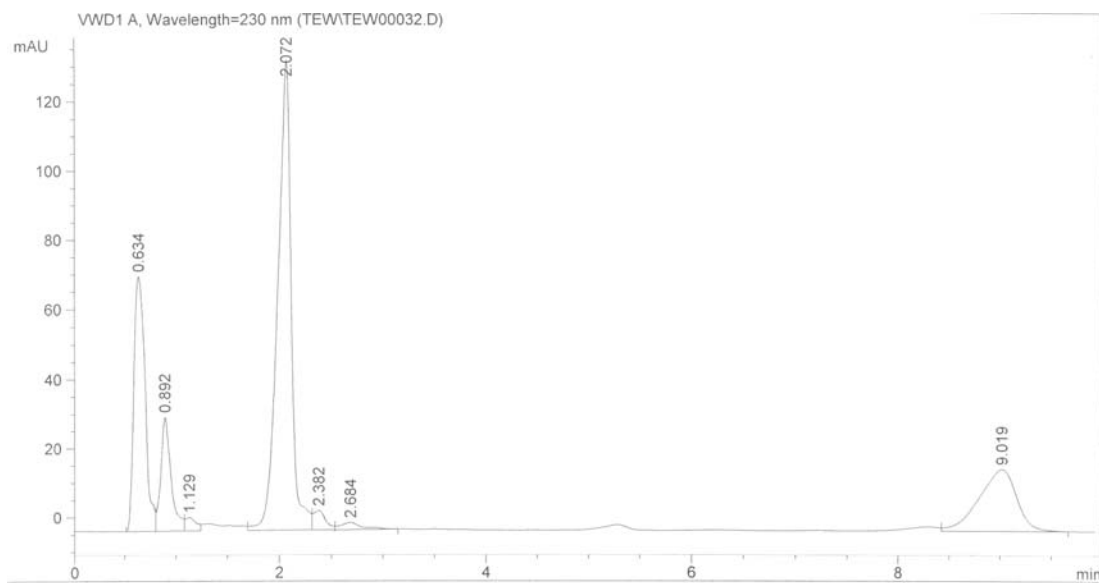
\* ไม่รวมค่าไฟฟ้าและค่าเสื่อมราคาและไม่คำนึงถึงปริมาณ andrographolide

\*\* เป็นราคาเฉลี่ยจาก 2 บริษัท สารสกัดฟ้าทะลายโจร (GPO) ราคา 2500 บาทต่อกิโลกรัม จากชาวละออเภสัชราคา 856 บาทต่อกิโลกรัม

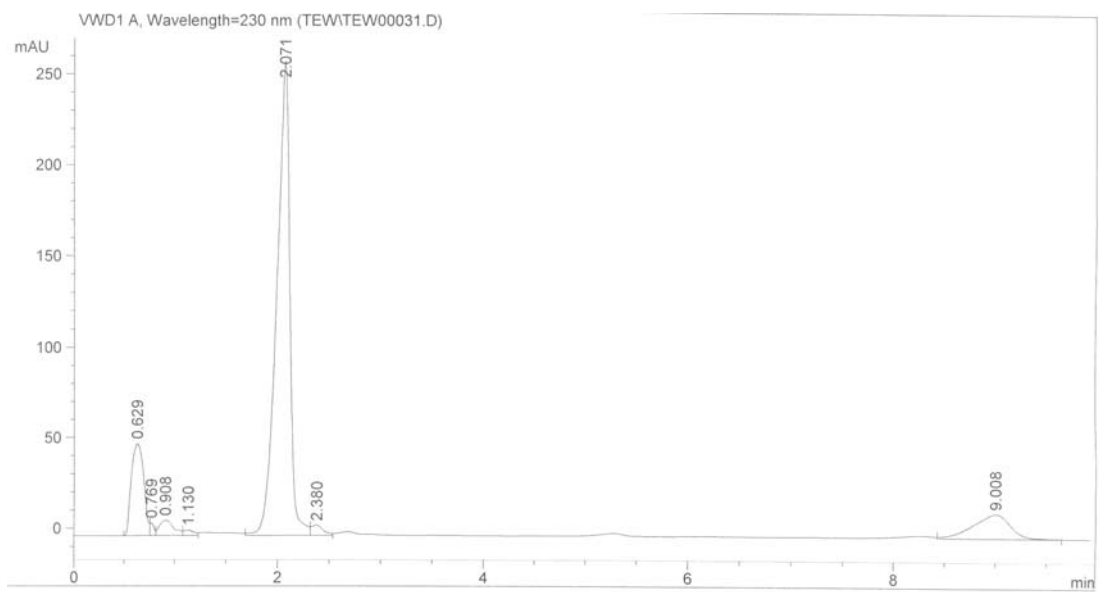
\*\*\* ไม่คือน้ำหนักสารที่สามารถระเหยได้และปริมาณการสูญเสียในระหว่างการผลิต



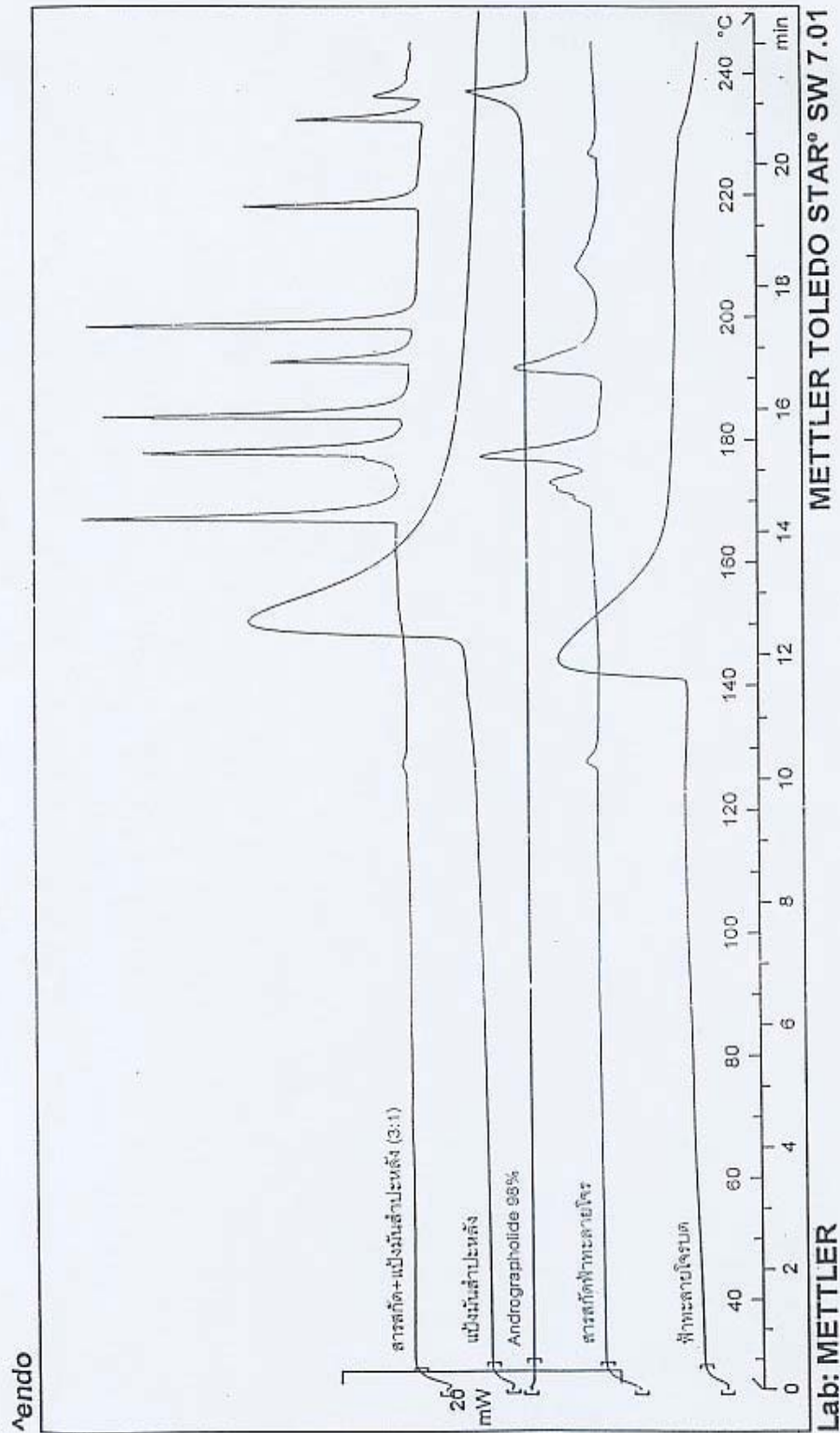
รูปที่ 2 HPLC chromatogram of 98% Andrographolide



รูปที่ 3 HPLC chromatogram of *Andrographis* Powder

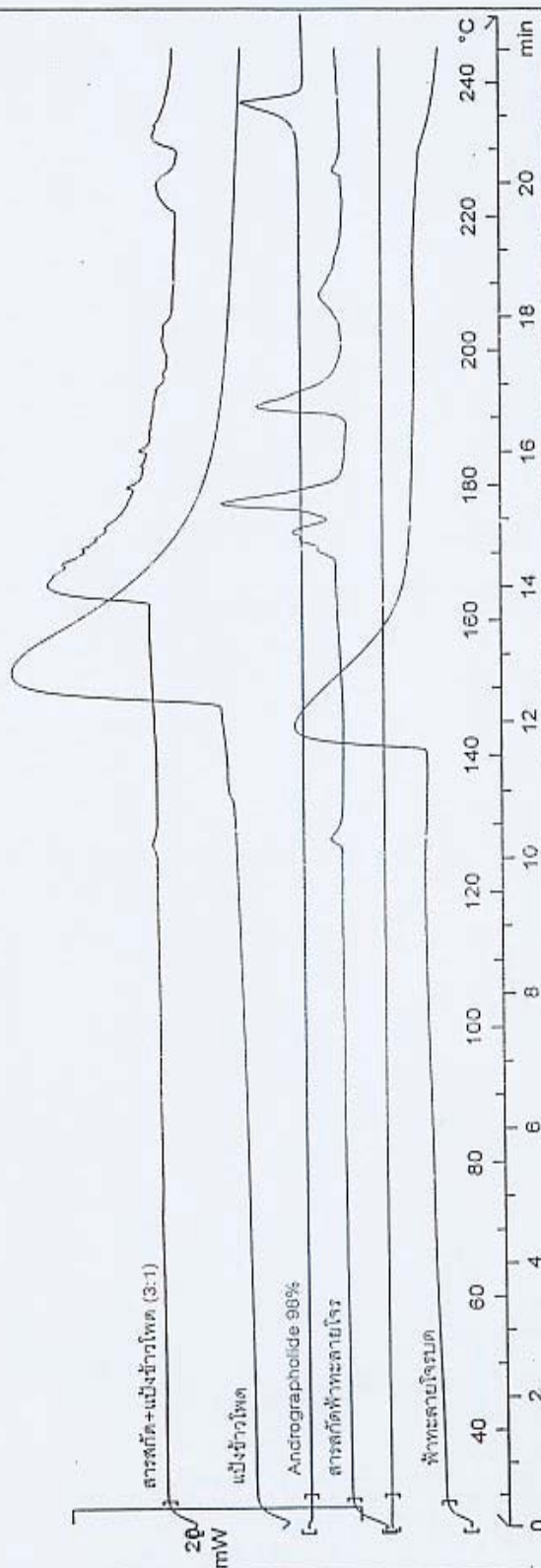


รูปที่ 4 HPLC chromatogram of *Andrographis* Granule



รูปที่ 5 DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรสด สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งมันสำปะหลัง และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจรและแป้งมันสำปะหลัง (3:1)

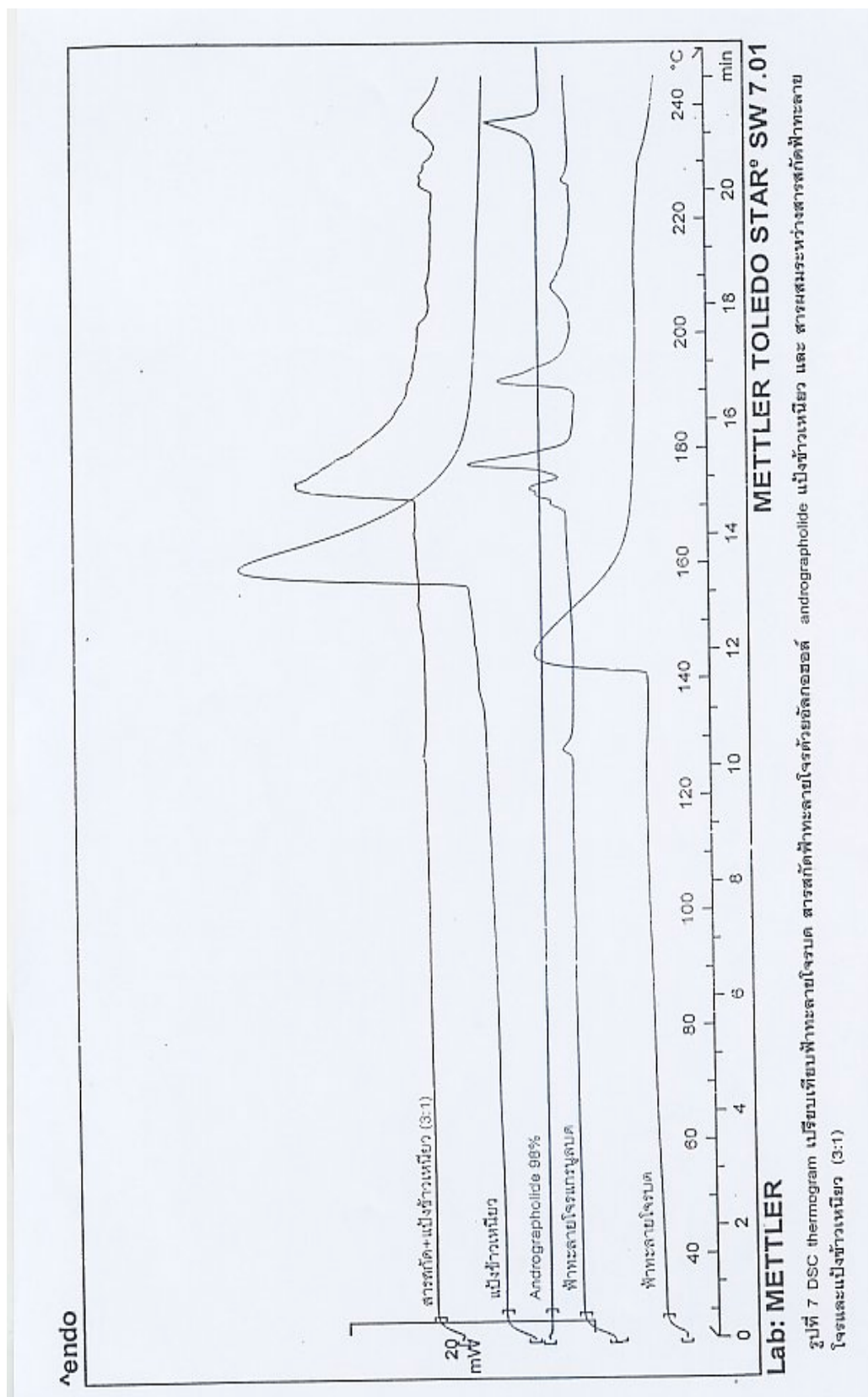
endo

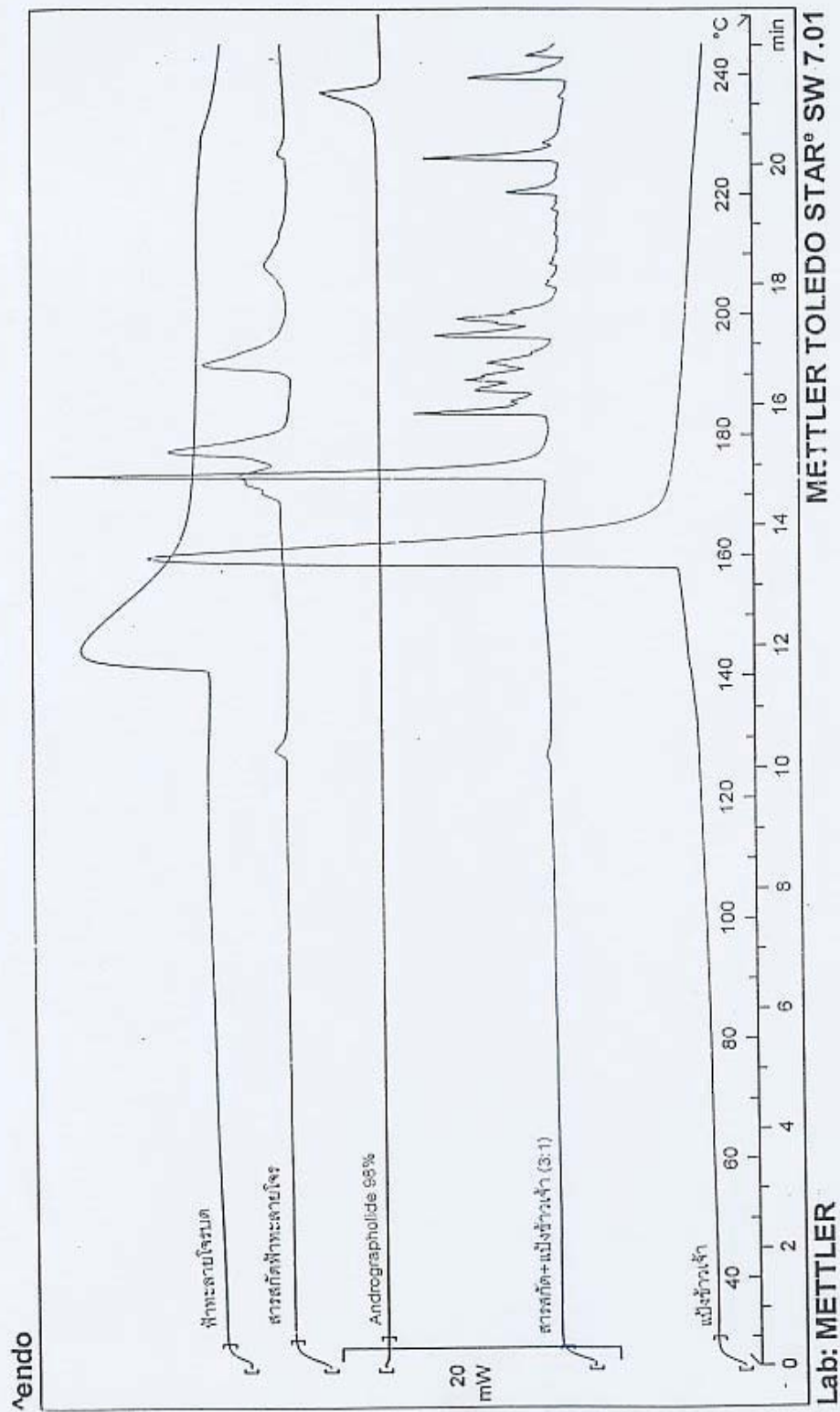


Lab: METTLER

METTLER TOLEDO STAR<sup>e</sup> SW 7.01

รูปที่ 6 DSC thermogram เปรียบเทียบฟ้าทะลายโจรบริสุทธิ์ สารสกัดฟ้าทะลายโจรด้วยอัลกอฮอล์ andrographolide แป้งข้าวโพด และ สารผสมระหว่างสารสกัดฟ้าทะลายโจร และแป้งข้าวโพด (3:1)





รูปที่ 8 DSC thermogram เปรียบเทียบฟักทะลายระบบ สารสกัดฟักทะลาย (3:1) และแป้งข้าวเจ้า (3:1) และสารสกัดฟักทะลายระบบ สารสกัดฟักทะลาย (3:1) และแป้งข้าวเจ้า (3:1)

