

การพัฒนาตำรับยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนียจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ

The Development of Effervescent Bioenzyme Tablets to Decrease Ammonia Gas from Organic Fermentation

จิตรดี ลูประสงค์¹, ลักษณะ เจริญใจ¹, กฤษณะ สถานทิพย์¹, นิพล มหาอุตย์¹, บำรุง โมกรณ์¹, เชาวลิต มณฑล¹, ศราวุธ เพิ่มพูนคุณารักษ์¹
Chitradee Luprasong¹, Laksana Charoenchai¹, Kridsana Sathantip¹, Nipon Maha-ut¹, Bamrung Mokkharat¹, Chaowalit Monton¹,
Sarawut Phemphoonkunaruk¹

¹กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

Received: 7 November 2007 Accepted: 22 February 2008

Abstract

Most bioenzymes compose of *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecalis* (or *Enterococcus faecalis*), *Pichia farinose*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Dekkera anomala*. Bioenzyme is extensively used in environmental conservation due to the catalyst property to decrease bad smell. Bioenzyme is commercially available in dry powder and liquid forms which have short shelf-life and inconvenience to use. This experimental research was to develop effervescent bioenzyme tablets from Biowish-P[®] bioenzyme dry powder. Bioenzyme effervescent tablets were formulated by varying types and quantities of diluents, binders and effervescent components. The physical properties of these formulations were studied by the methods as indicated in USP. Efficiency in decreasing ammonia gas of bioenzyme was determined in nitrogen quantity (mg-N/L) by phenol-hypochlorite method and gas chromatography. Absorbance was determined at the wavelength of 640 nm. The best formula of the bioenzyme effervescent tablet composes of 58.82% bioenzyme, 23.18% PVP K 90, 5% corn starch, 10% effervescent compound, 1% magnesium stearate and 2% talcum. Physical properties of the effervescent tablets were as followed; weight variation (853 ± 13 mg per tablet), hardness (4.5 ± 0.5 kg), friability and disintegration time (0.53% and 3.35 ± 0.11 minutes, respectively). Moisture content of the effervescent tablet slightly increased in similar quantity to bioenzyme dry powder. Bioenzyme effervescent tablets significantly decreased ammonia gas comparing to the negative control. Bioenzyme effervescent 500 mg tablet decreased ammonia gas in similar to 500 mg bioenzyme dry powder. Moreover, ammonia gas was decreased in 93.8, 93.8 and 97.8% after adding the bioenzyme effervescent tablets (500, 1000 and 1500 mg), respectively on the first day.

Keywords: Bioenzyme, Effervescent tablet, Organic Fermentation

บทคัดย่อ

เอนไซม์ชีวภาพส่วนใหญ่ประกอบด้วยแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecalis* (หรือ *Enterococcus faecalis*), *Pichia farinose*, *Bacillus amyloliquefaciens* และ *Dekkera anomala* ซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์ด้านการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในการย่อยสลายและกำจัดกลิ่นเหม็น มีจำหน่ายในรูปแบบน้ำและผงแห้งซึ่งมีอายุการเก็บสั้นและไม่สะดวกในการนำไปใช้ การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับยาเม็ดฟองฟูจากเอนไซม์ชีวภาพ เพื่อความสะดวกในการนำไปใช้และเพิ่มความคงตัว การพัฒนาตำรับยาเม็ดฟองฟูโดยเลือกชนิดและปริมาณของสารเพิ่มปริมาณและสารช่วยยึดเกาะรวมถึงสารก่อฟองฟู และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผงเอนไซม์และยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพตามมาตรฐานที่กำหนดในเภสัชตำรับของประเทศสหรัฐอเมริกา และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเอนไซม์ชีวภาพในการลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยวัดปริมาณก๊าซที่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่างๆ กัน การวัดปริมาณก๊าซแอมโมเนียใช้เทคนิคก๊าซโครมาโตกราฟีโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของก๊าซแอมโมเนีย และใช้วิธี phenol hypochlorite method ซึ่งเป็นการวัดปริมาณก๊าซแอมโมเนียในน้ำดูดซับ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ผลการศึกษพบว่า ตำรับยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพซึ่งประกอบด้วย เอนไซม์ชีวภาพ พีวีพี เค 90 แป้งข้าวโพด สารก่อฟองฟู แมกนีเซียมสเตียเรต และทาลคัม ในสัดส่วนร้อยละ 58.82, 23.18, 5, 10, 1 และ 2 ตามลำดับ มีค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเท่ากับ 853 ± 13 มิลลิกรัม ความแข็งเท่ากับ 4.5 ± 0.5 กก. ความกร่อนเท่ากับร้อยละ 0.53 และเวลาในการแตกตัว 3.35 ± 0.11 นาที ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพมีความชื้นเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับเอนไซม์ชีวภาพผงแห้งเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 มก.สามารถลดก๊าซแอมโมเนียได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีเอนไซม์ชีวภาพ และสามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ไม่แตกต่างกับเอนไซม์ชีวภาพผงแห้งในปริมาณ 500 มก.เท่ากัน นอกจากนี้ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500, 1000 และ 1500 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ (ร้อยละ 93.8, 93.8 และ 97.8) ตามลำดับ ในวันแรกหลังจากที่เติมเอนไซม์

คำสำคัญ: เอนไซม์ชีวภาพ ยาเม็ดฟองฟู การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ

บทนำ

เอนไซม์ชีวภาพ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบคทีเรียซึ่งมีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประโยชน์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecalis* (หรือ *Enterococcus faecalis*) *Pichia farinose*, *Bacillus amyloliquefaciens* และ *Dekkera anomala* ซึ่งผลิตสารประเภทต่างๆ ได้แก่ pediocins ได้จากแบคทีเรียกลุ่ม *Pediococcus* spp. มีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. และ มีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Clostridium*

botulinum, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ยังประกอบด้วย amylase protease หรือ peptidase killer toxins และ pectinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และเพกติน เอนไซม์ชีวภาพมีคุณสมบัติทนต่อความเป็นกรด-ด่างและมีประสิทธิภาพในการทำงานได้ดีในช่วง pH 4 - 10 ในขณะที่แบคทีเรียจะทำงานได้ดีในช่วง pH 1.5 - 9.6 อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของแบคทีเรียคือ 35 - 44 °C และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์คือ 4 - 55 °C เอนไซม์ที่เป็นผงแห้งควรเก็บในที่แห้งและเย็นซึ่งจะมี

ความคงตัวได้นาน 2 ปี เมื่อนำมาละลายน้ำเพื่อใช้ประโยชน์ จำนวนแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นมากสุดในวันที่ 4 และลดลงเรื่อยๆ และหยุดทำงานเมื่อครบ 4 สัปดาห์ จึงควรเติมสารละลายเอนไซม์ใหม่ทุก 7 วัน

ปัจจุบันเทคโนโลยีทางชีวภาพมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว มีการศึกษาและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในระดับอุตสาหกรรม มีเทคโนโลยีการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพ สามารถนำแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งทางการแพทย์ การเกษตร อุตสาหกรรมและสิ่งแวดล้อม (Koe and Ang, 1992; วีระพล, 2547) ในด้านการแพทย์ เช่น การผลิตอินซูลินจากแบคทีเรีย ด้านการเกษตร เช่น การผลิตปุ๋ยหมักชีวภาพ ด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การผลิตผลิตภัณฑ์บำบัดน้ำเสีย จากการศึกษาข้อมูลกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอนไซม์ชีวภาพที่ใช้ประโยชน์ด้านการรักษาสังแวดล้อมในท้องตลาด พบว่ากลุ่มผลิตภัณฑ์ของแต่ละบริษัทมีส่วนประกอบโดยรวมประกอบด้วยแบคทีเรียและเอนไซม์ที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อย อาจแตกต่างกันเพียง 1-2 ชนิด หรืออาจเป็นชนิดเดียวกันแต่ปริมาณแบคทีเรียต่อหน่วยไม่เท่ากัน หรือเป็นแบคทีเรียใน genus เดียวกัน รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเรียกว่า effective microorganism (EM[®]) มีทั้งรูปแบบผงแห้งสำหรับละลายน้ำหรือเป็นของเหลวเข้มข้นที่ต้องนำมาเจือจางก่อนใช้ บริษัทต่างๆ ผลิออกมาวางจำหน่ายมากมาย ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของเหลวนั้นจะไม่สะดวกในการแบ่งใช้ และการแบ่งใช้อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์รูปแบบผงแห้งดูดความชื้นได้ง่าย มีอายุการใช้งานสั้น เมื่อเปิดภาชนะบรรจุแบคทีเรียจะเริ่มทำงานในสภาวะที่มีอาหาร เมื่อใช้อาหารหมดแบคทีเรียเหล่านี้หยุดการเจริญเติบโต และสูญเสียศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ที่จะต้องนำไปใช้งาน การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติเกี่ยวข้องกับแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนซึ่งให้ผลผลิตเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรที่ ไนเตรท และสารประกอบซัลเฟต และกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน ผลที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายส่วนใหญ่คือ ก๊าซมีเทน ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

และคาร์บอนไดออกไซด์ (นันทนา, 2538) ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศ เอนไซม์ที่แบคทีเรียชนิดสร้างกรดหลังออกมาออกเซลล์จะย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน ให้กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ถูกย่อยสลายกลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กรดอะมิโนและกรดไขมัน เป็นต้น หลังจากนั้น สารอินทรีย์โมเลกุลเล็กจะถูกแบคทีเรียดังกล่าวดูดซึมเข้าสู่เซลล์และหลังเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในเซลล์ให้กลายเป็นกรดแลคติก กรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจน แล้วขับออกมาออกเซลล์ การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นเหม็นของยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพที่พัฒนาขึ้น เลือกใช้การย่อยสลายในสภาวะไร้อากาศ โดยใช้ปลาแก้วหมักเป็นตัวแทนการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ และใช้ก๊าซแอมโมเนียเป็นตัวแทนของก๊าซที่มีกลิ่นเหม็น สำหรับวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้ เพื่อพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพจากเอนไซม์ชีวภาพผงแห้ง ศึกษาความคงตัวของตำรับ และศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนียจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ เพื่อประเมินว่ารูปแบบใหม่ของตำรับยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดกลิ่นได้เช่นเดียวกับรูปแบบผงแห้งหรือไม่

วัสดุอุปกรณ์

ผงเอนไซม์ชีวภาพ (Biowish-P[®]) สารเพิ่มปริมาณ (Emcompress[®] [Dibasic calcium phosphate], PVP K90 [Povidone], Lactose, Starch1500 [Pregelatinized starch], corn starch, Avicel[®] PH 102 [Microcrystalline cellulose]); สารก่อฟองฟู (กรดซิตริก, กรดทาทาริก, โซเดียมโบคาร์บอเนต); สารหล่อลื่น (Magnesium stearate); สารกันติด (Talcum); ปลาแก้ว; Oxidizing reagent (Alkaline citrate และ Hypochlorite); phenol; sodium nitroprusside; สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH₄Cl); สารละลายแอมโมเนีย 30% v/v

เครื่องตอกยาเม็ด (Double punch tabletting machine [YEO HENG Co.,LTD]) เครื่องวัดความแข็ง

ของเม็ดยา (Stroke Monsanto hardness tester [YEO HENG Co.,LTD]) เครื่องทดสอบการแตกตัว (Disintegration tester [รุ่น ZT52,Erweka]) เครื่องทดสอบความกร่อน (Friabilator [รุ่น 45-1300, Vankel]) เครื่องวัดความชื้น (Moisture balance [รุ่น LJ16, Mettler]) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer [Shimadzu]) เครื่อง gas chromatography (Hewlett Packard HP6890)

วิธีการทดลอง

1. การพัฒนาสูตรตำรับยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพ

นำฟองเอนไซม์ชีวภาพ (Biowish-P®) มาบดและแรงด้วยแรงเบอร์ 60 ศึกษาคุณสมบัติการไหลด้วยวิธี funnel method และคำนวณค่า angle of repose ($\theta = \tan^{-1} (h/r)$) จากนั้น ชั่งและผสมกับสารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู สารหล่อลื่น และสารกันติด ในสัดส่วนร้อยละ 50, 17, 30, 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งเป็นสูตรพื้นฐาน สารเพิ่มปริมาณที่ใช้คือ Emcompress®, PVP K90, Lactose, Starch 1500, corn starch, Avicel® PH 102 และสารก่อฟองฟูที่ใช้ คือ citric acid, tartaric acid และ sodium bicarbonate (สุทิน และฤดี, 2525) ตอกเป็นเม็ดด้วยเครื่องตอกอัตโนมัติแบบปากคูล์ หน้าปากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4/8 นิ้ว ประเมินลักษณะทางกายภาพของแต่ละตำรับ และคัดเลือกสารเพิ่มปริมาณ และสารก่อฟองฟูที่เหมาะสม (Rowe et al., 2003)

2. การประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับ

ใช้วิธีการประเมินลักษณะทางกายภาพตามข้อกำหนดสำหรับยาเม็ดจากเภสัชตำรับของประเทศสหรัฐอเมริกา (US Pharmacopoeia, 2002) ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

2.1 ความแปรปรวนของน้ำหนัก (weight variation)

สุ่มตัวอย่างยาเม็ดมา 20 เม็ด ชั่งน้ำหนักยาทีละเม็ดจนครบ 20 เม็ด บันทึกน้ำหนักไว้แล้ว คำนวณหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเม็ดยาทั้ง 20 เม็ด ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพที่เตรียมในครั้งนี้น้ำหนักเม็ดยา 850-1,000 มก. ซึ่งมากกว่า 324 มก. ตามข้อกำหนดใช้ค่าความต่างเฉลี่ย (average difference) เท่ากับร้อยละ 5.0 ตำรับที่ผ่านการประเมินความแปรปรวนของน้ำหนักต้องมีจำนวนเม็ดยาไม่เกิน 2 เม็ดที่มีน้ำหนักเม็ดยาแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเม็ดยามากกว่าร้อยละ 5.0 และต้องไม่มีเม็ดใดเลยที่มีน้ำหนักแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเกินร้อยละ 10.0

2.2 การทดสอบการแตกตัว (disintegration test)

สุ่มตัวอย่างเม็ดยามา 6 เม็ด ทำการทดสอบการแตกตัวของเม็ดยาโดยใช้เครื่อง disintegration tester โดยใช้น้ำ 600 มล. เป็น medium ที่อุณหภูมิ $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ จับเวลาเป็นวินาทีจนกระทั่งเม็ดยาแตกตัวหมด ซึ่งพิจารณาเกณฑ์ผ่านจากยาเม็ดฟองฟูทุกเม็ดต้องแตกตัวหมดภายในเวลา 5 นาที

2.3 การทดสอบความกร่อน (friability test)

สุ่มตัวอย่างเม็ดยามา 20 เม็ด ชั่งน้ำหนักเม็ดยาทั้ง 20 เม็ด แล้วใส่เม็ดยาทั้งหมดในจานของเครื่องทดสอบความกร่อน ตั้งเวลาให้หมุนในอัตรา 20 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 นาที พอเครื่องหยุดนำเม็ดออกมาปัดฝุ่นแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้งเพื่อหาน้ำหนักที่หายไปคำนวณ %friability จากสูตร

$$\% \text{friability} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักที่เหลือ})}{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น})} \times 100$$

ยาเม็ดฟองฟูทุกตำรับต้องมีความกร่อนน้อยกว่า 1 %

2.4 การทดสอบความแข็ง (hardness test)

ลุ่มตัวอย่างยาเม็ดมา 10 เม็ด จับเม็ดยาวางในแนวตั้งให้อยู่ระหว่าง anvil กับ spindle ของเครื่อง Stroke Monsanto hardness tester หมุน thumbscrew ให้ spindle เลื่อนลงมาให้มีแรงดันเพียงแค่สามารถหนีบเม็ดให้อยู่กับที่ได้ จากนั้น เลื่อน scale ให้ pointer ชี้ที่ตำแหน่ง 0 ค่อยๆ หมุน thumbscrew ซ้ำๆและสม่ำเสมอ เพื่อเพิ่มแรงอัดให้กับเม็ด จนกระทั่งเม็ดแตก อ่านค่าความแข็งของเม็ดยาในหน่วยกิโลกรัม สำหรับการวิจัยนี้กำหนดให้ยาเม็ดฟองฟูที่เตรียมต้องมีความแข็งอย่างน้อย 4 กิโลกรัม

3. การศึกษาความคงตัวของตำรับ

วัดค่าความชื้นของตำรับที่ 15 และ 16 ทำการเปรียบเทียบการเก็บเอนไซม์ชีวภาพในภาชนะเปิดและภาชนะปิดที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่อง moisture balance โดยนำเม็ดยามาบดและชั่งมา 5 กรัม นำเข้าเครื่องวัดความชื้นที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง คำนวณค่า % loss on drying (%LOD) และวัดความแข็งของตำรับภายหลังเก็บที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 17-27 °C) นาน 1 เดือน

4. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนีย

4.1 วิธี phenol hypochlorite method (Strickland and Parsons, 1972; Harwood and Kühn, 1970)

เป็นการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซแอมโมเนียทางอ้อมจากน้ำปราศจากไอออนซึ่งเป็นตัวดูดซับก๊าซโดยแอมโมเนียในน้ำจะทำปฏิกิริยากับ hypochlorite ได้ monochloramine มี phenol และ nitroprusside เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สาร indophenol ซึ่งมีสีน้ำเงิน

กราฟมาตรฐานได้จากการนำแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) มาเตรียมเป็นสารละลายแอมโมเนีย ความเข้มข้น 200 mg-N/L และเจือจางเป็นความเข้มข้น 0.0 - 1.0 mg-N/L นำสารละลายแอมโมเนียแต่ละความเข้มข้นมา 10 มล. เติม phenol solution 0.5 มล., sodium nitroprusside solution 0.5 มล. และ oxidizing reagent 1 มล. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณก๊าซแอมโมเนียในหน่วย mg-N/L ปริมาณก๊าซแอมโมเนียจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นสีน้ำเงินที่เกิดขึ้น

4.2 วิธี gas chromatography

ฉีดก๊าซที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ (ปลาแก้วหมักปริมาณ 5 และ 10 กรัม) ปริมาตร 1 ไมโครลิตรโดยใช้ gas type syringe เข้าเครื่อง gas chromatography (Hewlett Packard HP6890) สภาวะการวิเคราะห์คือ Carbowax[®] column, อุณหภูมิที่ส่วนฉีดสาร คอลัมน์และเครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิด flame ionization เป็น 110, 140 และ 200 °C ตามลำดับ ก๊าซพา คือ ก๊าซฮีเลียม อัตราการไหล 1 มล. ต่อ นาที นำค่าพื้นที่ใต้พีกมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายแอมโมเนียในช่วงความเข้มข้น 0.0-0.8 mg-N/L (n=3)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การพัฒนาสูตรตำรับและการประเมินลักษณะทางกายภาพของยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพ

ผลการศึกษาคุณสมบัติการไหลของผงเอนไซม์ชีวภาพมีค่า angle of repose ได้มุม ($\theta = \tan^{-1} 2/2.75 = 40.03$ ซึ่งมีค่าการไหลไม่ดี แต่ยังสามารถตอกเม็ดยาแบบตอกโดยตรงได้

จากสูตรตำรับพื้นฐาน (ตารางที่ 1) แสดงส่วนประกอบของยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพจำนวน 7 ตำรับ ซึ่งมีน้ำหนักเม็ดเท่ากับ 1,000 มก. และมีสัดส่วนของเอนไซม์ชีวภาพซึ่งเป็นสารสำคัญ ร้อยละ 50 ของตำรับ สารก่อฟองฟู ร้อยละ 30 ของตำรับ

ตารางที่ 1 สูตรพื้นฐานยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพ น้ำหนักต่อเม็ด 1000 มก.

ส่วนประกอบ	ร้อยละ	ในตำรับประโยชน์ในตำรับ
เอนไซม์ชีวภาพ	50	สารสำคัญ
Direct compression filler	17	สารเพิ่มปริมาณ
Effervescent component	30	สารก่อฟองฟู
Magnesium stearate	1	สารหล่อลื่น
Talcum	2	สารกันติด

สารกันติดใช้ talcum ร้อยละ 2 ของตำรับ สารหล่อลื่น คือ magnesium stearate ร้อยละ 1 ของตำรับ และปรับเปลี่ยนชนิดของสารเพิ่มปริมาณโดยคงสัดส่วนเป็นร้อยละ 17 ของตำรับ สารเพิ่มปริมาณที่ใช้ คือ Emcompress®, Avicel® PH 102, PVP K90, Starch 1500, lactose, corn starch และสารก่อฟองฟูที่ใช้ คือ citric acid, tartaric acid, sodium bicarbonate

ตำรับที่ 1-6 ซึ่งมี Emcompress®, Avicel® PH 102, PVP K90, Starch 1500, lactose และ corn starch เป็นสารเพิ่มปริมาณตามลำดับ และตำรับที่ 7 มี Avicel® PH 102 และ corn starch เป็นสารเพิ่มปริมาณในสัดส่วนร้อยละ 10 และร้อยละ 7 ของตำรับ พบว่ามีเพียง 4 ตำรับเท่านั้นที่สามารถดกอัดเป็นเม็ดได้ โดยวิธีตอกโดยตรงคือตำรับที่มี Emcompress®, Avicel® PH 102, PVP K90 และ corn starch เป็นสารเพิ่มปริมาณ พบว่าสูตรที่สามารถดกอัดเป็นเม็ดได้ ทั้ง 4 สูตร มีน้ำหนักต่อเม็ดต่ำกว่า 1000 มก. และตำรับที่ใช้ Emcompress® และ PVP K90 เป็นสารเพิ่มปริมาณมีน้ำหนักต่อเม็ดใกล้เคียงกับ 1000 มก. มากที่สุด ซึ่งน่าจะเกิดจากความหนาแน่นต่ำของสารเพิ่มปริมาณดังกล่าว จากคุณสมบัติของตำรับที่มี Emcompress® และ PVP K90 เป็นสารเพิ่มปริมาณสามารถดกอัดได้ และมีน้ำหนักต่อเม็ดใกล้เคียงกับ 1000 มก.มากที่สุด จึงใช้เป็นสูตรต้นแบบสำหรับพัฒนาตำรับ 8-13 ต่อไป

เหตุผลที่เลือกใช้วิธีตอกตรงเพื่อหลีกเลี่ยงการผสมกับของเหลวที่อาจทำให้เอนไซม์สลายตัวเช่นในวิธี wet granulation และจากข้อจำกัดของขนาดปากในท้องปฏิบัติการซึ่งขนาดใหญ่ที่สุดที่มีคือหน้าปากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4/8 นิ้ว จึงเลือกหน้าปากขนาดดัง

กล่าวและปรับเปลี่ยนปริมาณของส่วนประกอบในตำรับ การแก้ไขปัญหาน้ำหนักต่อเม็ดเพื่อให้เหมาะสมกับขนาดของหน้าปากที่มีในห้องปฏิบัติการทำโดยปรับลดน้ำหนักต่อเม็ด เป็น 850 มก. สำหรับตำรับที่ 8-13 แต่คงปริมาณเอนไซม์ชีวภาพเป็น 500 มก.ต่อเม็ดเท่าเดิม ปรับลดสารก่อฟองฟูจากร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 20, 18 และ 15 ตามลำดับ และปรับเพิ่มสัดส่วนสารเพิ่มปริมาณเป็น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 18.18, 20.18 และ 23.18 โดยสูตรตำรับแสดงตามตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าสามารถแก้ไขปัญหาน้ำหนักต่อเม็ดได้ แต่ความแข็งของตำรับอยู่ในช่วง 2.0 - 3.8 กก. และยังต่ำกว่าเกณฑ์เป้าหมายที่กำหนด คือ 4 กก. จึงพิจารณาพัฒนาตำรับต่อไปสำหรับตำรับที่มีความแข็งมากกว่า 3 กก. คือตำรับที่ 13, 12 และ 10 ซึ่งมีค่าความแข็งเท่ากับ 3.8 ± 0.2 กก. 3.7 ± 0.6 กก. และ 3.0 ± 0.0 กก. และมีสารเพิ่มปริมาณคือ PVP K90 ร้อยละ 23.18 และ 20.18 และ Emcompress® ร้อยละ 23.18 ตามลำดับ

การพัฒนาตำรับที่ 14-16 เพื่อเพิ่มความแข็งของเม็ดยาโดยลดปริมาณสารก่อฟองฟูและเพิ่มปริมาณของ corn starch ซึ่งเป็นสารเพิ่มปริมาณในสัดส่วนร้อยละ 5 ของตำรับดังแสดงในตารางที่ 2 เหตุผลที่เพิ่ม corn starch ในตำรับเนื่องจากการพัฒนาช่วงแรก (ตำรับที่ 1-7) ยาเม็ดที่ได้มีความแข็งดี แต่มีความหนาแน่นต่ำ จึงไม่สามารถดกให้มือน้ำหนักใกล้เคียง 1,000 มก.ได้ ดังนั้นจึงเพิ่มสารเพิ่มปริมาณตัวที่ 2 อีกชนิดหนึ่งในตำรับที่ 14 -16 ในสัดส่วนที่ลดลงจากเดิมพบว่าสามารถเพิ่มความแข็งได้ คือในตำรับที่ 15 และ 16 มีค่าความแข็งเท่ากับ 3.9 ± 0.2 กก. และ 4.5 ± 0.5 กก. ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งตำรับที่ 15 และ 16 เป็นตำรับที่มีสารเพิ่มปริมาณคือ corn starch ร้อยละ 5

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบการแตกตัวพบว่าตำรับที่ 15 และ 16 มีค่าเวลาที่ใช้ในการแตกตัวคือ 3.25 และ 3.53 นาที ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่ยาเม็ดฟองฟูทุกเม็ดต้องแตกตัวหมดภายในเวลา 5 นาที

เมื่อเปรียบเทียบตำรับที่ 14 และตำรับที่ 10 ซึ่งใช้ Emcompress® เป็นสารเพิ่มปริมาณร่วมกับ corn starch และลดสัดส่วนของสารก่อฟองฟู พบว่าเม็ดยาที่ตอกได้มีค่าความแข็งเท่ากับ 2.8 ± 0.3 กก. ซึ่งความ

แข็งไม่ได้เพิ่มขึ้น (2.8 ± 0.3 และ 3.0 ± 0.0 กก. ตามลำดับ) ทั้งนี้เมื่อเพิ่มแรงตอกเพื่อเพิ่มความแข็งทำให้เกิดการกระเพาะแตกเป็นแผ่นของเม็ดยา (capping) สาเหตุน่าจะมาจาก Emcompress® ซึ่งเป็นสารเพิ่มปริมาณ เมื่อให้แรงตอกสูงจะมีโอกาสทำให้ยาเม็ดเกิดปัญหาการแตกร้าวและการแยกชั้น (lamination) ได้ (Rowe et al., 2003)

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบและร้อยละในตำรับยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพตำรับที่ 8-16

ส่วนประกอบในตำรับ (ร้อยละ)	ตำรับที่								
	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1. Bioenzyme	58.82	58.82	58.82	58.82	58.82	58.82	58.52	58.52	58.52
2. Emcompress	18.18	20.18	23.18	-	-	-	23.18	-	-
3. PVP K90	-	-	-	18.18	20.18	23.18	-	20.18	23.18
4. Corn starch	-	-	-	-	-	-	5.00	5.00	5.00
5. Citric acid	3.33	3.00	2.50	3.33	3.00	2.50	1.67	2.17	1.67
6. Tartaric acid	6.67	6.00	5.00	6.67	6.00	5.00	3.33	4.33	3.33
7. Sodium bicarbonate	10.00	9.00	7.50	10.00	9.00	7.50	5.00	6.50	5.00
8. Magnesium stearate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
9. Talcum	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00

ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพตามตารางที่ 3 พบว่าทุกตำรับสามารถตอกอัดเป็นเม็ดได้ โดยตำรับที่มีคุณสมบัติทางกายภาพดีที่สุดคือตำรับที่ 16 ซึ่งมีส่วนประกอบในตำรับเป็นเอนไซม์ชีวภาพร้อยละ

58.82 สารเพิ่มปริมาณ (PVP K90 ร้อยละ 23.18 และ corn starch ร้อยละ 5) สารก่อฟองฟู ร้อยละ 10 talcum ร้อยละ 2 และ magnesium stearate ร้อยละ 1 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพของตำรับที่ 8-16

ตำรับที่	น้ำหนักเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ± S.D.	ความแข็งเฉลี่ย (กก.) ± S.D.	ร้อยละของความกรอบ	เวลาแตกตัวเฉลี่ย (นาที)
8	856 ± 10	2.0 ± 0.0	—*	—*
9	865 ± 13	2.0 ± 0.0	—	—
10	855 ± 4	3.0 ± 0.0	—	—
11	847 ± 10	2.5 ± 0.5	—	—
12	900 ± 17	3.7 ± 0.6	—	—
13	855 ± 27	3.8 ± 0.2	—	—
14	852 ± 1	2.8 ± 0.3	—	—
15	861 ± 27	3.9 ± 0.2	0.73	3.25
16	853 ± 13	4.5 ± 0.5	0.53	3.53

*- = ไม่ได้ทำการประเมิน

และมี PVP K90 ในแต่ละตำรับร้อยละ 20.18 และ 23.18 ตามลำดับ ความแข็งที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติการเป็น dry binder ของ PVP K90 ทำให้การเกาะกันภายในยาเม็ดดีขึ้น จึงส่งผลให้ความแข็งของตำรับเพิ่มขึ้น และแม้ว่าความแข็งของตำรับเพิ่มขึ้นแต่

2. การศึกษาความคงตัวของตำรับ

เนื่องจากส่วนประกอบของเอนไซม์ชีวภาพคือ เอนไซม์และแบคทีเรียซึ่งไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิตั้งแต่ 45 °C ขึ้นไป และสารก่อฟองฟูซึ่งเป็นส่วนประกอบในตำรับสามารถดูความชื้นอาจทำให้คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความแข็งเปลี่ยนไป การศึกษาความคงตัว

จึงใช้วิธีวัดค่าความชื้นด้วยเครื่องชั่ง moisture balance ผลการศึกษาในตารางที่ 4 พบว่า ตำรับที่เก็บในภาชนะเปิด ณ อุณหภูมิห้อง (17-27 °C) ปริมาณความชื้นในวันที่ 1, 15 และ 30 ของตำรับที่ 15 และ 16 เพิ่มขึ้น โดยตำรับที่ 16 มีความชื้นสูงกว่าเล็กน้อยอาจเนื่องจากปริมาณของสารเพิ่มปริมาณที่เพิ่มขึ้น และความแข็งของยาเม็ดฟองฟูตำรับที่ 16 ซึ่งเก็บในภาชนะปิดสนิทนาน 1 เดือน ยังอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด โดยความแข็งของตำรับมีค่าไม่แตกต่างจากตอนเริ่มต้น (4.8 ± 0.5 และ 4.5 ± 0.5 กก.) แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าตำรับที่ 16 มีความคงตัวดี เนื่องจากการศึกษาความคงตัวทำในระยะเวลาเพียง 1 เดือน

ตารางที่ 4 ค่าความชื้นของตำรับที่ 15, 16 และเอนไซม์ชีวภาพผงแห้งซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 1 เดือน ในวันที่ 1, 15 และ 30

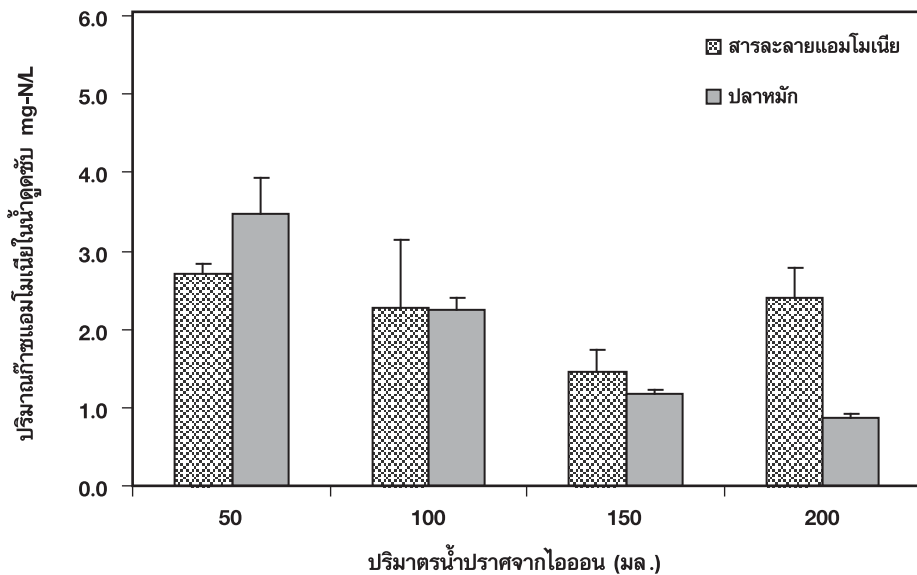
น้ำหนัก/วันที่	ตำรับที่ 15			ตำรับที่ 16			เอนไซม์ชีวภาพผงแห้ง		
	1	15	30	1	15	30	1	15	30
นน.เริ่มต้น (กรัม)	5.007	5.000	5.005	5.004	5.005	5.008	5.000	5.002	5.001
นน.ที่เหลือ (กรัม)	4.638	4.595	4.588	4.611	4.545	4.507	4.654	4.641	4.643
นน.ที่หายไป (กรัม)	0.369	0.405	0.417	0.393	0.460	0.501	0.346	0.361	0.358
%LOD	7.37	8.10	8.33	7.85	9.19	10.00	6.92	7.22	7.16

หมายเหตุ วันที่ 1 อุณหภูมิห้อง = 26.5 °C วันที่ 15 อุณหภูมิห้อง = 20.0 °C วันที่ 30 อุณหภูมิห้อง = 17.8 °C

3. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนีย

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนียโดยวิธี phenol hypochlorite method ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ปลาหมักปริมาณ 10 กรัม ทั้งให้เกิดการย่อยสลายในสภาวะไร้อากาศ และเก็บตัวอย่างก๊าซโดยใช้น้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 50 มล. ซึ่งพบว่าสามารถดูดซับก๊าซได้มากที่สุดในช่วงเวลา

30 นาที เปรียบเทียบกับน้ำปริมาตร 100, 150 และ 200 มล. และผลการทดลองสอดคล้องกันสำหรับการดูดซับก๊าซจากสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้นร้อยละ 30 และก๊าซที่เกิดจากปลาหมักปริมาณ 10 กรัม (รูปที่ 1) น้ำดูดซับก๊าซแอมโมเนียจากปลาหมักนำมาคำนวณหาปริมาณก๊าซแอมโมเนียที่เกิดขึ้นโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0 - 0.8 mg-N/L ($n = 3$) กราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง $y = 1.0809x - 0.0083$ ($r^2 = 0.9971$)



รูปที่ 1 ปริมาณก๊าซแอมโมเนียในน้ำปราศจากไอออนที่ดูดซับก๊าซ จากสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 30% v/v และจากปลาหมัก 10 กรัม ($n = 3$), error bar = standard error of mean

การศึกษาเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมเอนไซม์ชีวภาพเพื่อกำจัดกลิ่นเหม็นโดยใช้ปลาหมักปริมาณ 40 กรัมพบว่า เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำปราศจากไอออนที่ดูดซับก๊าซทุกวันมาวัดปริมาณก๊าซแอมโมเนียในวันที่ 3 มีปริมาณก๊าซแอมโมเนียมากที่สุด แสดงว่าการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในครั้งนี้ใช้เวลาประมาณ 3 วัน ทำให้เกิดก๊าซปริมาณสูงสุด ในการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นก๊าซแอมโมเนีย นำยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพตำรับที่ 16 เปรียบเทียบกับผงเอนไซม์ชีวภาพ และสารช่วยในตำรับ โดยเติมลงในปลา

หมักวันที่ 3 และวัดปริมาณก๊าซแอมโมเนียเป็นระยะเวลา 3 วันหลังจากนั้น พบว่ายาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพกับผงเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 มก. สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้อย่างมากในวันแรกหลังจากเติมเอนไซม์ (วันที่ 4) สำหรับสารช่วยในตำรับสามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้เช่นกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีเอนไซม์ชีวภาพ แต่ปริมาณก๊าซแอมโมเนียยังสูงกว่าในชุดที่มีเอนไซม์ ปริมาณก๊าซแอมโมเนียที่วัดได้แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณก๊าซแอมโมเนีย (mg-N/L) เมื่อเติมยาเม็ดเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 - 1500 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

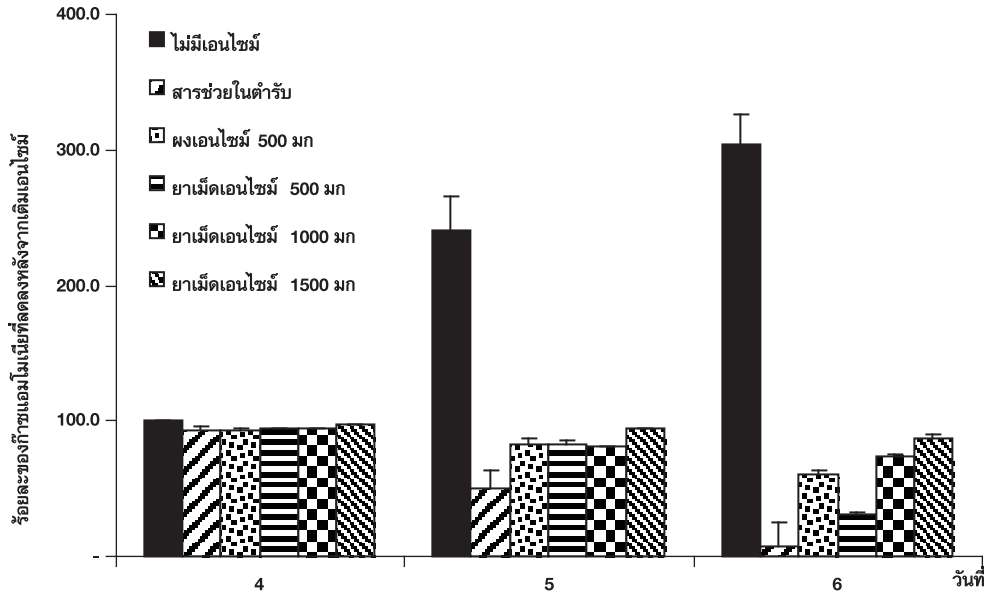
วันที่	4		5		6	
	mg-N/L	(%)	mg-N/L	(%)	mg-N/L	(%)
ชุดควบคุม	91.96 ± 0.6	(100.0)	313.78 ± 41.2	(341.2)	372.03 ± 36.7	(404.6)
สารช่วยในตำรับ	6.94 ± 5.3	(7.5)	45.33 ± 22.1	(49.3)	98.59 ± 31.7	(107.2)
ผงเอนไซม์ 500 มก.	6.32 ± 1.7	(6.9)	15.57 ± 7.7	(16.9)	35.77 ± 4.6	(38.9)
ยาเม็ดเอนไซม์ 500 มก.	5.70 ± 1.0	(6.2)	15.76 ± 5.9	(17.1)	64.08 ± 4.0	(69.7)
ยาเม็ดเอนไซม์ 1000 มก.	5.74 ± 1.0	(6.2)	17.27 ± 1.1	(18.8)	24.51 ± 2.2	(26.7)
ยาเม็ดเอนไซม์ 1500 มก.	2.04 ± 0.2	(2.2)	5.58 ± 1.2	(6.1)	11.68 ± 4.3	(12.7)

เมื่อเปรียบเทียบยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500, 1,000 และ 1,500 มก. พบว่าในวันแรกที่เติมเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างในการลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียเมื่อเพิ่มขนาดของยาเม็ดฟองฟู ในวันที่สองหลังจากการเติมเอนไซม์ชีวภาพพบว่า ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพตำรับที่ 16 กับผงเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 มก. สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ไม่แตกต่างกัน (15.76 และ 15.57 mg-N/L, ตามลำดับ) นอกจากนี้ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 1,000 มก. สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ใกล้เคียงกับขนาด 500 มก. (17.27 และ 15.76 mg-N/L, ตามลำดับ) ในขณะที่ยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 1,500 มก. สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้มากกว่าและลดได้ใกล้เคียงกับวันแรก (5.58 และ 2.04 mg-N/L) สำหรับสารช่วยในตำรับลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้น้อยที่สุดและลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้น้อยลงกว่าวันแรก แสดงว่าผลการลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียเนื่องจากส่วนประกอบที่เป็นเอนไซม์ชีวภาพมากกว่าส่วนประกอบอื่นในตำรับ

ในวันที่สามหลังจากการเติมเอนไซม์ชีวภาพพบว่า ผงเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 มก.สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้มากกว่ายาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพตำรับที่ 16 ในขนาดที่เท่ากันประมาณ 2 เท่า (35.77 และ 64.08 mg-N/L ตามลำดับ) อาจเนื่องจากผงเอนไซม์มีพื้นที่ผิวและกระจายตัวได้มากกว่ายาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพหลังจากแตกตัว และการเพิ่ม

ขนาดของยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพสามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้มากกว่าและนานกว่า โดยพบปริมาณก๊าซแอมโมเนีย 64.08, 24.51 และ 11.68 mg-N/L ในชุดทดลองที่เติมยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500, 1,000 และ 1,500 มก. ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียระหว่างชุดทดลองและชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเอนไซม์ โดยให้ปริมาณก๊าซแอมโมเนียของชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเอนไซม์ในวันที่ 4 คิดเป็นร้อยละ 100 พบว่าปริมาณก๊าซของชุดทดลองที่เติมสารช่วยในตำรับ ผงเอนไซม์ 500 มก. และยาเม็ดเอนไซม์ 500, 1,000 และ 1,500 มก. มีปริมาณก๊าซแอมโมเนียในวันแรกที่เติม (วันที่ 4) คิดเป็นร้อยละ 7.5, 6.9, 6.2, 6.2 และ 2.2 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 ในวันที่ห้าและหกปริมาณก๊าซแอมโมเนียของชุดควบคุมที่ไม่มีเอนไซม์เพิ่มสูงมาก คิดเป็นร้อยละ 341.2 และ 404.6 ดังนั้นการเติมยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500, 1,000 และ 1,500 มก. ช่วยลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ร้อยละ 93.8, 93.8 และ 97.8 ตามลำดับในวันแรกหลังจากเติมเอนไซม์ โดยยาเม็ดเอนไซม์ชีวภาพและผงเอนไซม์ชีวภาพขนาด 500 มก. ลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้ไม่แตกต่างกันในวันแรกและวันที่สองหลังจากเติมเอนไซม์ แต่การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ชีวภาพเป็น 1,500 มก. (ใช้ 3 เม็ด) สามารถลดปริมาณก๊าซแอมโมเนียได้นานโดยลดลงได้ถึงร้อยละ 87.3 ในวันที่สามหลังจากเติมเอนไซม์ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ร้อยละของก๊าซแอมโมเนียที่ลดลงหลังจากเดมเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีเอนไซม์ (ปริมาณก๊าซแอมโมเนียคิดเป็น 100 %), error bar = standard error of mean

ในการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดกลิ่นเหม็นโดยวิธี gas chromatography ได้ทำการวัดปริมาณแอมโมเนียโดยฉีดก๊าซที่เกิดจากการย่อยสลายปลาหมักปริมาณ 5 และ 10 กรัม และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของแอมโมเนีย พบว่าการเดมเอนไซม์ชีวภาพแบบที่เดมตั้งแต่เริ่มต้นพร้อมกับการย่อยสลาย และการเดมเมื่อเกิดก๊าซในปริมาณสูงแล้ว ทำให้ปริมาณก๊าซเพิ่มขึ้นซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากแบคทีเรียหรือเอนไซม์ที่เป็นส่วนประกอบในเอนไซม์ชีวภาพช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย วิธีนี้จึงยังไม่ได้ใช้ทดสอบกับตำรับยาเม็ดฟองฟู

สรุปผล

การวิจัยครั้งนี้ได้ตำรับยาเม็ดฟองฟูเอนไซม์ชีวภาพที่มีคุณสมบัติทางกายภาพดีที่สุด คือ ตำรับที่ 16 ซึ่งมีส่วนประกอบตำรับดังนี้ เอนไซม์ชีวภาพร้อยละ 58.82 PVP K90 ร้อยละ 23.18 corn starch ร้อยละ 5 citric acid ร้อยละ 1.67 tartaric acid ร้อยละ 3.33

sodium bicarbonate ร้อยละ 5 magnesium stearate ร้อยละ 1 และ talcum ร้อยละ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อเม็ด 851 ± 13 มก. ความแข็ง 4.5 ± 0.53 กิโลกรัม ความกร่อนร้อยละ 0.53 และแตกตัวภายในเวลา 3 นาที 35 วินาที แม้ว่าตำรับที่ 16 ยังมีความคงตัวใกล้เคียงกับเอนไซม์ชีวภาพผงแห้ง แต่ควรมีการศึกษาความคงตัวในระยะเวลานานขึ้นและเก็บในภาชนะบรรจุที่เหมาะสมหากต้องการพัฒนาเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม การปรับปรุงสูตรตำรับโดยเปลี่ยนชนิดหรืออาจเพิ่มสัดส่วนของสารเพิ่มปริมาณเพื่อให้เม็ดมีความแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดกลิ่นเหม็นอาจต้องศึกษาเปรียบเทียบในรูปแบบอื่นเพิ่มเติมและใช้ระยะเวลาการศึกษาที่นานขึ้น เพื่อประเมินประสิทธิภาพของตำรับรูปแบบใหม่ว่ายังกำจัดกลิ่นเหม็นได้เช่นเดียวกับรูปแบบผงแห้ง นอกจากนี้ควรศึกษาด้านต้นทุนการผลิตด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายแพทย์สมนึก ศิริพานทอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเอนไซม์ชีวภาพ (Biowish-P®) และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และสถานที่สำหรับทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

วีระพล วงษ์ประพันธ์. 2547. ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงครัวโรงพยาบาลด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ EM วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อมบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2538. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบัสที่พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สุทิน ศิริโพวัน และฤดี เสาวคนธ์. 2525. บรรณานุกรมเภสัชอุตสาหกรรม 1. คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ หจก.ก.การพิมพ์.

Anon. Physical tests and Determinations 2002. *The United States Pharmacopoeia*. 24th ed., pp.1832

Harwood, J.E. and Kühn, A.L. 1970. A colorimetric method for ammonia in natural waters. *Water Research*. 4(12): 805-811.

Koe, L.C.C. and Ang, F.G. 1992. Bioaugmentation of anaerobic digestion with a biocatalytic addition: The bacterial nature of the biocatalytic addition. *Water Research*. 26: 389-392.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Weller, P.J. 2003. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients* (4th Ed.): pp 73

Strickland, J.D.H and Parsons, T.R. 1972. *A Practical Handbook of Seawaters Analysis*. Fishery Research Board. Canada. 310.