



คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์และการทำให้ดินสอพองปราศจากเชื้อ

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Marl Sterilization

วิชาญ จันทรวิธานุชิต^{1*} ปวีณา ว่องตระกูล¹ พรปวีร์ โพนสิม¹ สมหญิง งามอรุเลิศ²

สุวรรณา เสมศรี² และ อิสยา จันทรวิธานุชิต²

¹คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

²คณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

Wicharn Janwitayanuchit^{1*}, Paveena Wongtrakul¹, Pornphawee Ponsim¹,

Somying Ngamurulert², Suwanna Semsri² and Isaya Janwitayanuchit²

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn, 10540

²Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn, 10540

*Corresponding author: wicharnj@yahoo.com

Received: 1 May 2023/ Revised: 6 June 2023/ Accepted: 10 June 2023

บทคัดย่อ

ดินสอพองหรือดินมาร์ลเป็นผงละเอียดสีขาวพบมากที่จังหวัดลพบุรี มีคุณสมบัติเป็นต่าง pH 8.3 ± 0.01 มีความหนาแน่นรวม 1.000 ± 0.076 กรัมต่อมิลลิลิตร ความชื้น 0.81 ± 0.097 กรัมต่อมิลลิลิตร เวลาในการดูดซับน้ำมัน 0.24 ± 0.026 นาที และความสามารถในการดูดซับน้ำมัน 0.42 ± 0.02 กรัมต่อกรัม การศึกษาการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในดินสอพองด้วยตู้อบลมร้อนพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในดินสอพอง คืออบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นวิธีการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่สะดวกและมีประสิทธิภาพสูง การศึกษาความเป็นพิษของดินสอพอง โดยใช้เซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง HaCaT พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดินสอพองไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และเมื่อนำดินสอพองที่มีการลดขนาดอนุภาคไปศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าดินสอพองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 3-15 ไมโครเมตร ยังคงไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดินสอพองมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่ดี ราคาถูก จึงเหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์

คำสำคัญ: ดินสอพอง คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ ความเป็นพิษต่อเซลล์ การทำให้ปราศจากเชื้อ

Abstract

Marl, found mostly in Lopburi province, is white fine powder. It has alkaline property, pH 8.3 ± 0.01 , a bulk density 1.000 ± 0.076 g/mL, moisture content 0.81 ± 0.097 g/mL, oil absorption time 0.24 ± 0.026 min. and oil absorption capacity 0.42 ± 0.02 g/g. A study on the removal of microbial contamination in marl by hot air oven revealed that the optimum conditions for killing all microorganisms was drying at 130°C for 30 min., which was a convenient and efficient method. Cytotoxicity of marl was studied on HaCaT cells, it was found that marl had no cytotoxicity at a concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$. Cytotoxicity test using marl with a diameter in the range of 3-15 micrometers also showed no toxicity. Due to its good physicochemical properties and cheap, marl is suitable for further development for commercial use.

Keyword: Marl, physicochemical properties, cytotoxicity, sterilization

บทนำ

ดินสอพองหรือดินมาร์ลเกิดจากการผุพังของหินปูน แล้วถูกน้ำพามาสะสมอยู่ตามเชิงเขาหรือบริเวณแอ่งที่ลุ่ม ลักษณะทั่วไปของดินสอพองคล้ายดินขาวที่โครงสร้างเป็นชั้นบางๆ มีรูพรุนเนื้อร่วนซุย แหล่งผลิตดินสอพองที่ใหญ่ที่สุดในประเทศอยู่ที่ตำบลทะเลชุบศร อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี เมื่อปีบน้ำมะนาวซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดลงไปดินสอพองจะเกิดฟองฟูของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จนดูเหมือนว่าดินนั้นพองตัว จึงเรียกดินดังกล่าวนี้ว่า “ดินสอพอง” ดินสอพองถูกนำมาใช้ผสมเครื่องหอมหรือน้ำอบ ใช้เป็นแป้งทาตัวคล้ายร่อน ใช้ในการรักษาผด ผื่นคัน และอาจใช้เป็นส่วนผสมในยาสีฟันสูตรสมุนไพร สรรพคุณอื่นๆของดินสอพอง เช่น นำมาผสมกับสมุนไพรใช้ในการขัดผิว ขัดตัว ปอกหน้า ช่วยให้ผิวพรรณสดใส ลดความมันบนใบหน้า นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในการแก้ฟกช้ำ เขียว บวม โดยการเอาดินสอพองละลายกับน้ำมะกรูดให้ข้น ปอกตรงรอยที่เจ็บ [1] ปัจจุบันมีการนำดินสอพองมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรม สุขภาพ เครื่องสำอาง และใช้เป็นตัวดูดซับที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายอย่าง เช่นเดียวกับคาโอลิน (kaolin) ทาลคัม (talcum) เบนโทไนต์ (bentonite) ฯลฯ ซึ่งเป็นแร่ดินที่ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ [2-3] อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตดินสอพองส่วนใหญ่เป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนที่ยังไม่ถูกสุขลักษณะเพียงพอ อาจมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนโดยเฉพาะจุลินทรีย์ต่างๆ ในดินสอพอง ความเป็นพิษต่อเซลล์และคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพ โดยเฉพาะความสามารถในการดูดซับความมัน เพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่างๆ และลดการนำเข้าแร่ดินต่างๆ จากต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดินสอพอง

ผงดินสอพองที่ทำการศึกษาคือผงดินสอพองจากผู้จำหน่ายในจังหวัดลพบุรี มีลักษณะเป็นผงละเอียด ร่วน สีขาวนวล ไม่มีกลิ่น สังเกตไม่พบสิ่งเจือปน นำผงดินสอพองมาทำการลดขนาดด้วยเครื่องบด เพื่อศึกษาขนาดอนุภาค ความหนาแน่น ปริมาณน้ำในผงดินสอพองหรือความชื้น ความสามารถและเวลาในการดูดซับน้ำมัน



การลดขนาดของดินสอพอง

การลดขนาดอนุภาคของผงดินสอพองทำโดยใช้เครื่องบดผสมขนาดแบบลูกบอล (Mixer Mill MM 200, Retsch, Germany) ชั่งผงดินสอพอง จำนวน 5 กรัม บรรจุลงในโถสแตนเลส ใส่ลูกบอลสแตนเลสขนาด 10 มิลลิเมตร จำนวน 6 ลูก ตั้งความถี่ของการบดที่ 25 เฮิร์ตซ์ ใช้เวลาในการบด 40, 50, 60 และ 90 นาที

การวัดขนาดอนุภาค

ลักษณะและขนาดของผงดินสอพอง ประเมินโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (Nikon Eclipse E200, Japan) ทำการวัดขนาดอนุภาคของผงตัวอย่าง จำนวน 200 อนุภาค แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยจากซอฟต์แวร์

การทดสอบหาค่าความเป็นกรด-ด่าง

เตรียมสารละลายตัวอย่างดินสอพองร้อยละ 10 โดยปริมาตร วัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

การวัดความหนาแน่นรวม

การประเมินความหนาแน่นรวม (bulk density) ของผงตัวอย่าง (ดินสอพอง ทัลคัม คาโอไลน์ เบนโทไนต์) โดยปรับจากวิธีมาตรฐานตาม US pharmacopeia [4] โดยการนำผงตัวอย่าง จำนวน 5 กรัม บรรจุลงในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นยกกระบอกตวงสูงจากโต๊ะ 1 นิ้ว แล้วปล่อยลงในลักษณะตั้งตรง ทำจำนวน 3 ครั้ง อ่านปริมาตรจากกระบอกตวง แล้วนำไปคำนวณความหนาแน่น จากสูตร ความหนาแน่นเท่ากับน้ำหนักหารปริมาตรผงยา ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย

การวัดปริมาณน้ำ (ความชื้น)

การวัดหาปริมาณน้ำในผงตัวอย่างทำได้โดยใช้เครื่องวัดความชื้น (digital moisture analyzer Ohaus, USA) ซึ่งสารตัวอย่าง (ดินสอพอง ทัลคัม คาโอไลน์ เบนโทไนต์) จำนวน 1 กรัม บนถาดอะลูมิเนียมก่อนและหลังการเปิดหลอดไฟฟ้าไลเจน น้ำหนักสารที่หายไปเป็นน้ำหนักน้ำที่อยู่ในผงสารตัวอย่าง

การวัดความสามารถในการดูดซับน้ำมัน

การทดสอบความสามารถของผงสารตัวอย่างในการดูดซับน้ำมันทำได้โดยการปรับจากวิธีมาตรฐานที่ระบุไว้ใน ASTM D281-95 สำหรับการทดสอบการดูดซับน้ำมันของพิกเมนต์ (pigment) [5] โดยการเทผงสารตัวอย่าง (ดินสอพอง ทัลคัม คาโอไลน์ เบนโทไนต์) จำนวน 3 กรัม ลงในปิเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ หยดไอโซโพรพิลไมริสเตต (isopropyl myristate) ที่ละลายลงบนผงสารตัวอย่าง ใช้แท่งแก้วช่วยในการคนผสม หยดน้ำมันจนกว่าผงสารตัวอย่างมีลักษณะเป็นเพสต์ (paste) ที่กระจายอย่างสม่ำเสมอ ความสามารถในการดูดซับความมันของสารตัวอย่างคำนวณได้จากน้ำหนักของน้ำมันที่ใช้ หารด้วยน้ำหนักของสารตัวอย่างตั้งต้น (กรัมต่อกรัม) ทำการทดสอบ 3 ครั้งต่อหนึ่งตัวอย่าง

การวัดความเร็วในการดูดซับน้ำมัน

ชั่งผงสารตัวอย่าง (ดินสอพอง ทัลคัม คาโอไลน์ เบนโทไนต์) จำนวน 5 กรัม ใส่ในขวดทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 เซนติเมตร ทำผงยาให้แน่นโดยการเคาะผงยา 3 ครั้งให้ผิวหน้าเรียบ ชั่งไอโซโพรพิลไมริสเตต จำนวน 1.5 กรัม แล้วเทลงบนผงสารตัวอย่าง จับเวลาตั้งแต่เทน้ำมันลงบนสารตัวอย่างจนน้ำมันถูกดูดซับหมดจากผิวหน้าสารตัวอย่าง ทำการทดสอบ 3 ครั้งต่อหนึ่งตัวอย่าง

2. การศึกษาการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในดินสอพองด้วยตู้อบลมร้อน

นำดินสอพองไปตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี standard plate count ก่อนการอบฆ่าเชื้อและหลังการอบฆ่าเชื้อด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 200, 150, 130 และ 120 องศาเซลเซียส



2.1 การตรวจสอบจุลินทรีย์ในดินสอพอง [6-7]

1. การเตรียมตัวอย่าง ชั่งตัวอย่างดินสอพองชุดละ 10 กรัม ใช้สำหรับการทดสอบหาปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา นำดินสอพอง ไปอบฆ่าเชื้อด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 200, 150, 130 และ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
2. การเจือจางตัวอย่าง เติมน้ำดินสอพอง 10 กรัม ลงใน Tryptic soy broth (TSB) 90 มิลลิลิตร ที่ผสม 0.1% tween 80 จากนั้นนำไปเจือจางตัวอย่างตามลำดับ ๆ ละ 10 เท่า ด้วย TSB โดยปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ใน TSB 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 (initial suspension) ปิเปตตัวอย่างจากหลอดที่เจือจาง 1:10 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน TSB 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างเจือจาง $1:10^{-2}$ ทำเช่นนี้ต่อไปจนได้ตัวอย่างเจือจาง $1:10^{-5}$ สำหรับการทดสอบหาปริมาณยีสต์และรา เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อจาก TSB เป็น Sabouraud dextrose broth (SDB)

2.2. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ โดยวิธี spread plate

ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้า Trypticase soy agar (TSA) สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud dextrose agar (SDA) สำหรับยีสต์และรา แต่ละระดับความเจือจางละ 2 งานเพาะเชื้อ (duplicate) ใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ เกลี่ยให้ทั่วจนกระทั่งผิวหน้าของวุ้นแห้ง สำหรับ TSA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง โดยคว่ำงานเพาะเชื้อ สำหรับ SDA บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส 5 วันโดยไม่ต้องคว่ำงานเพาะเชื้อ เมื่อครบ 5 วัน ถ้าไม่มีการเจริญของเชื้อให้บ่มต่ออีก 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในงานเพาะเชื้อที่มีเชื้อเจริญ 30-300 โคโลนี สำหรับเชื้อที่เจริญบน TSA และ 10-150 โคโลนีสำหรับเชื้อที่เจริญบน SDA

2.3. การคำนวณ

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด = (จำนวนโคโลนี/ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้) $\times$ dilution factor

(dilution factor = ส่วนกลับความเจือจางของงานเพาะเชื้อที่สามารถนับโคโลนี) หน่วยเป็น โคโลนีต่อกรัม

3. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ [8]

3.1 การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อใช้ในการทดสอบ

1. การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อใช้ในการทดสอบแบบ supernatant โดยการชั่งสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 0.5 กรัม เติมน้ำ dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 มิลลิลิตร ผสมสารด้วย vortex mixer นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เมื่อครบเวลาดูดเก็บส่วนใส เรียกสารทดสอบนี้ว่า supernatant

2. การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อใช้ในการทดสอบแบบ whole solution โดยการชั่งสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 0.5 กรัม เติมน้ำ DMSO 1 มิลลิลิตร ผสมสารด้วย vortex mixer นาน 1 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง เรียกสารทดสอบนี้ว่า whole solution

3.2 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง (Human Keratinocyte Cell Line, HaCaT cells) ด้วยวิธี MTT assay

นำเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงชนิด HaCaT ปั่นล้างด้วย phosphate buffer saline (PBS) จำนวน 3 รอบ คำนวณเซลล์ให้มีปริมาณ 1.0×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) ที่มีร้อยละ 10 ของ fetal bovine serum (FBS) โดยเติมลงในจานอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุมๆ ละ 100 ไมโครลิตร เพาะเลี้ยงในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา เติมน้ำ



ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (โดยชุดการทดสอบมีความเข้มข้นของ DMSO ร้อยละ 1 และมีความเข้มข้นของสารทดสอบ 31.25, 62.5, 125, 250, 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) นำไปบ่มในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำละลาย MTT dye และบ่มในตู้ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเซลล์ แล้วขับอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมดด้วยกระดาษทิชชู ให้เหลือเฉพาะผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ที่ก้นหลุม เติมน้ำ DMSO เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซาน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 นาโนเมตร และคำนวณร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตรอด (% cell viability) จากสูตรดังนี้

$$\% \text{ Cell viability} = (\text{Absorbance ของหลุมทดสอบ} \times 100) / \text{Absorbance ของหลุม vehicle control}$$

และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้เซลล์มีชีวิตรอดร้อยละ 50 (IC₅₀)

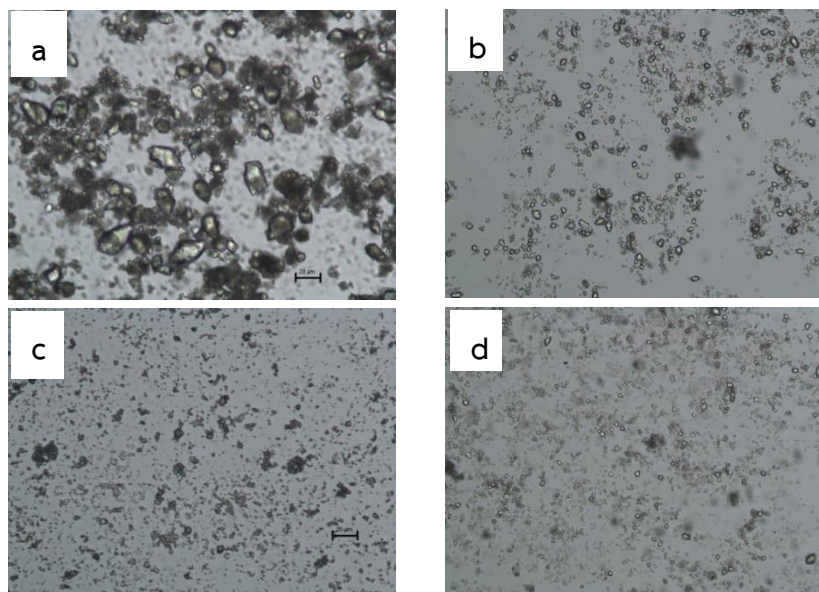
4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) วัดค่าคุณสมบัติต่างๆ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนและทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยการทดสอบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS®

ผลการวิจัย

1. คุณสมบัติทางกายภาพของดินสอพอง

การลดขนาดดินสอพองด้วยเครื่องบดผสมแบบลูกบอล ด้วยเวลาต่างๆ และวัดขนาดอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังภาพที่ 1 การลดขนาดโดยใช้แรงกระแทกและแรงเสียดสีของลูกเหล็กจากการสั่นตามแนวราบของเครื่องบดผสม สามารถลดขนาดอนุภาคดินสอพองให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำสุดประมาณ 3 ไมโครเมตร ที่เวลา 90 นาที โดยที่ดินสอพองยังคงมีลักษณะเป็นผงละเอียดและมีขนาดอนุภาคค่อนข้างสม่ำเสมอ ถ้าใช้เวลาบดผสมนานกว่า 90 นาที จะทำให้ผงดินสอพองบางส่วนหลอมรวมติดกันเป็นก้อนและเกาะติดกับผนังของโถสแตนเลส



ภาพที่ 1 ภาพดินสอพองจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า : a) ระยะเวลาบด 40 นาที b) ระยะเวลาบด 50 นาที c) ระยะเวลาบด 60 นาที d) ระยะเวลาบด 90 นาที



การศึกษาความหนาแน่นรวม ความชื้น เวลาและความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ผลการศึกษาความหนาแน่นรวม ความชื้น เวลาและความสามารถในการดูดซับน้ำมันเปรียบเทียบกับแร่ดินบางชนิด แสดงดังตารางที่ 1 จากตารางพบว่าคุณสมบัติทางกายภาพได้แก่ ความหนาแน่นรวม ความชื้น ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของสารทดสอบทั้ง 4 ชนิดจะแตกต่างกัน ดินสอพองมีความหนาแน่นรวมสูงกว่าแต่มีความชื้นและความสามารถในการดูดซับน้ำมันต่ำกว่าคาโอลินและเบนโทไนต์ ในขณะที่ผงคาโอลินมีความหนาแน่นรวมต่ำที่สุดแต่จะดูดซับน้ำมันได้ดีที่สุด ทลค์มเป็นสารที่มีความชื้นต่ำที่สุดและมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันใกล้เคียงกับเบนโทไนต์ อย่างไรก็ตามความสามารถในการดูดซับน้ำมันของดินสอพองจะเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดอนุภาคเล็กลง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ความหนาแน่นรวม ความชื้น เวลาและความสามารถในการดูดซับน้ำมันของสารทดสอบ

ตัวอย่าง	ความหนาแน่นรวม (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ความชื้น (กรัมต่อมิลลิลิตร)	การดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัม)	เวลาในการดูดซับ น้ำมัน (นาท)
ดินสอพอง	1.000 ± 0.076^a	0.81 ± 0.097^a	0.24 ± 0.026^a	0.42 ± 0.029^a
ทลค์ม*	0.554 ± 0.011^b	0.33 ± 0.055^b	0.36 ± 0.047^b	0.28 ± 0.063^b
คาโอลิน*	0.361 ± 0.011^c	1.10 ± 0.268^c	0.53 ± 0.047^c	0.20 ± 0.093^c
เบนโทไนต์*	0.709 ± 0.013^d	1.74 ± 0.200^d	0.38 ± 0.025^d	0.79 ± 0.299^d

หมายเหตุ *เกรดเครื่องสำอาง, อักษรที่กำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของดินสอพองขนาดอนุภาคต่างๆ

ตัวอย่าง	เวลาที่ใช้บด (นาท)	ขนาดอนุภาค (ไมโครเมตร)	การดูดซับน้ำมัน (กรัมต่อกรัม)
1	0	54.96 ± 26.68^a	0.19 ± 0.023^a
2	40	15.21 ± 10.35^b	0.23 ± 0.036^b
3	50	8.15 ± 6.35^c	0.24 ± 0.020^c
4	60	4.64 ± 3.20^d	0.24 ± 0.026^c
5	90	3.32 ± 1.66^e	0.26 ± 0.198^d

หมายเหตุ อักษรที่กำกับแตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

2. ศึกษาการจัดเชื้อจุลินทรีย์ของดินสอพองด้วยตู้อบลมร้อน

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเวลา 30 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนและหลังการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3

ผลการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ระหว่างดินสอพองก่อนการอบฆ่าเชื้อและดินสอพองหลังการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วง 120 ถึง 200 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิ 200, 150, 130 และ 120 องศาเซลเซียส) ด้วยตู้อบลมร้อนใช้เวลา 30 นาที พบว่าสามารถตรวจพบจุลินทรีย์ในดินสอพองที่ไม่ผ่านการอบและอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แต่ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์เมื่ออบที่อุณหภูมิตั้งแต่ 130 ถึง 200 องศาเซลเซียส



ตารางที่ 3 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อนและหลังการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ

อาหารที่ใช้ทดสอบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ใช้อบดินสอพองเป็นเวลา 30 นาที	ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ (โคโลนีต่อกรัม)				
		เจือจาง 10^{-1}	เจือจาง 10^{-2}	เจือจาง 10^{-3}	เจือจาง 10^{-4}	เจือจาง 10^{-5}
TSA	200	NG	NG	NG	NG	NG
	150	NG	NG	NG	NG	NG
	130	NG	NG	NG	NG	NG
	120	3.1×10^3	1.1×10^4	0	0	0
	ไม่ผ่านการอบ	1.4×10^4	2.5×10^4	6.0×10^4	0	0
SDA	200	NG	NG	NG	NG	NG
	150	NG	NG	NG	NG	NG
	130	NG	NG	NG	NG	NG
	120	5.0×10^2	0	0	0	0
	ไม่ผ่านการอบ	1.2×10^3	0	0	0	0

* NG = No growth

3. การศึกษาความเป็นพิษของดินสอพองขนาดอนุภาคต่างๆ และแร่ดิน ต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงชนิด HaCaT

จากการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงชนิด HaCaT ของดินสอพองที่มีขนาดอนุภาค 3.32, 4.64, 8.15, 15.21 และ 54.96 ไมโครเมตร เปรียบเทียบกับ คาโอลิน ทัลคัมและเบนโทไนด์ พบว่าสารทดสอบที่ใช้ในรูปแบบ supernatant และสารละลาย whole solution จะเกิดสีม่วงขึ้นทุกระดับความเข้มข้นและเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตรอด พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารทดสอบที่ใช้เซลล์ HaCaT ยังคงมีชีวิตรอดมากกว่าร้อยละ 50 ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของสารชนิดต่างๆ ต่อการมีชีวิตรอดกับเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยงชนิด HaCaT

สาร	ความเป็นพิษ (IC_{50}) ต่อเซลล์ HaCaT ($\mu g/mL$)	
	Supernatant	Whole solution
ดินสอพอง*	$> 500 \pm 0.00$	$> 500 \pm 0.00$
คาโอลิน	$> 500 \pm 0.00$	$> 500 \pm 0.00$
ทัลคัม	$> 500 \pm 0.00$	$> 500 \pm 0.00$
เบนโทไนด์	$> 500 \pm 0.00$	$> 500 \pm 0.00$

หมายเหตุ: *ขนาดอนุภาค 3.32-54.96 ไมโครเมตร

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ดินสอพอง มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวที่มีส่วนประกอบหลักเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนตประมาณร้อยละ 96 และมีส่วนประกอบอื่นๆ เช่น ซิลิกอนออกไซด์ อะลูมิเนียมออกไซด์ เหล็กออกไซด์ และแมกนีเซียมออกไซด์ มีการนำดินสอพองมาใช้ประโยชน์มากมายในทางเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง เช่น มีรายงานวิจัยการนำดินสอพองไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สมุนไพรพอกหน้า พบว่าอาสาสมัครจำนวน 100 คน พอใจกับผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น [9] นอกจากนี้มีรายงานวิจัยการนำดินสอพองไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไขเค็มใบเตยดินสอพองของกลุ่มอาชีพผู้ผลิตไขเค็มจังหวัดลพบุรี เพื่อใช้ดินสอพองดูดซับความเค็มของไขเค็มและสร้างเอกลักษณ์ให้กับสินค้า [10] การประยุกต์ใช้ดินสอพองในงานหัตถศิลป์ไทย โดยการนำดินสอพองไปปั้นและแกะเป็นลวดลายไทยทดแทนการใช้รักหรือชัน และนำองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปถ่ายทอดเทคโนโลยีกระบวนการผลิตสู่ชุมชนและผู้สนใจ [11] การนำดินสอพองไปใช้เร่งปฏิกิริยาในการผลิตไบโอดีเซลโดยการเผาดินสอพองที่อุณหภูมิ 900 องศาเซลเซียส นาน 5.50 ชั่วโมง เพื่อเปลี่ยนแคลเซียมคาร์บอเนตที่มีปริมาณสูงในดินสอพองให้เป็นแคลเซียมออกไซด์ซึ่งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังกล่าว [12] มีรายงานวิจัยศึกษาคุณสมบัติการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของดินสอพอง พบว่าดินสอพองสามารถสะท้อนรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ โดยดินสอพองจะสะท้อนรังสี UVA (320-400 nm) ได้ดีกว่ารังสี UVB (290-320 nm) และผงดินสอพองที่มีอนุภาคขนาดเล็กจะสะท้อนรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ดีกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ [13] ผลการศึกษาวิจัยในที่นี้พบว่าดินสอพองมีคุณสมบัติเป็นต่าง pH 8.3 ± 0.01 เมื่อนำดินสอพองมาเปรียบเทียบกับความหนาแน่นรวม ความชื้น การดูดซับ และเวลาในการดูดซับน้ำมันกับแร่ดินชนิดอื่นๆ ที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง ได้แก่ คาโอไลน์ เบนโทไนด์ และทัลคัม พบว่าคาโอไลน์และเบนโทไนด์มีคุณสมบัติคล้ายกัน มีความชื้นสูง และดูดซับน้ำมันได้ดีกว่าดินสอพอง โดยที่คาโอไลน์มีความชื้นน้อยกว่าและดูดซับน้ำมันได้ดีกว่าเบนโทไนด์ เนื่องจากทั้งคาโอไลน์และเบนโทไนด์มีองค์ประกอบหลักเป็นอลูมิเนียมซิลิเกตเช่นเดียวกัน แต่เบนโทไนด์มีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างซับซ้อนมากกว่า ส่วนทัลคัมหรือทัลคัมมีองค์ประกอบหลัก คือแมกนีเซียมซิลิเกต สูตรทางเคมีคือ $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ เป็นผงละเอียดสีขาวนวล มีความหนาแน่นรวมและความชื้นต่ำกว่าดินสอพองแต่มีความสามารถในการดูดซับน้ำมันดีกว่า ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางจะใช้ทัลคัมและคาโอไลน์เป็นส่วนผสมของแป้งผัดหน้า โดยทัลคัมทำให้ผิวขาวและลื่น ไม่ค่อยติดผิวและทำให้เป็นเงาเลื่อมสะท้อนแสง การใช้คาโอไลน์ร่วมกับทัลคัมจะช่วยดูดซับความมันทำให้ทบแสงและกลมกลืนกับผิวดีขึ้น การใช้ดินสอพองร่วมด้วยจะช่วยให้แป้งติดผิวได้ดีขึ้น ดินสอพองที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมักจะมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนเกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน พ.ศ. 2560 ซึ่งกำหนดไว้ว่าจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total aerobic plate count) ที่ตรวจพบจะต้องไม่เกิน 1,000 โคโลนีต่อกรัม [14] การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในดินสอพองทำได้หลายวิธี เช่น อาจจะใช้ความร้อนจากเครื่องสุหรือใช้ความร้อนจากพลังงานแสงอาทิตย์ทดแทนพลังงานไฟฟ้าและพลังงานจากฟอสซิล [15] ศูนย์วิจัยรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ ได้ประยุกต์ใช้รังสีแกมมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในดินสอพอง พบว่ามีประสิทธิภาพดีมากโดยสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้จนเกือบหมดและผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มผช. [16] การศึกษาการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในดินสอพองในงานวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการอบด้วยตู้อบลมร้อนซึ่งเป็นเครื่องมือที่นิยมใช้อบวัสดุ อุปกรณ์ต่างๆ ให้แห้งและสามารถทำให้ปราศจากเชื้อได้ [17] การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์จากงานเพาะเลี้ยงใช้วิธี standard plate count ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการนับจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดที่เจริญบนอาหารในสภาวะที่มีอากาศ ทำการแยกและจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยเพาะเชื้อในงานเพาะเชื้อตามลักษณะโคโลนี รูปร่างและปฏิกิริยาทางชีวเคมี พบว่าดินสอพองที่ไม่ผ่านการอบหรืออบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จะตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนหลายชนิด เช่น เชื้อ *Coagulase negative Staphylococci*, เชื้อ *Gram positive bacilli* รวมทั้งยีสต์และรา ผลการศึกษานี้พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในดินสอพอง สามารถทำได้โดยใช้ความร้อนจากการอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นวิธีการกำจัดจุลินทรีย์ที่สะดวก ราคาถูกและมีประสิทธิภาพสูง การศึกษา



ความเป็นพิษของดินสอพองในงานวิจัยนี้เลือกใช้เซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง HaCaT ซึ่งเป็นเซลล์ต้นแบบการศึกษาวิจัยสารที่ต้องใช้หรือสัมผัสกับเซลล์ผิวหนังโดยวิธี MTT assay ซึ่งเป็นวิธีตรวจสอบความเป็นพิษโดยเอ็นไซม์ในเซลล์ที่มีชีวิตจะรีดิวซ์สาร 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ที่มีสีเหลืองให้เป็นผลึกฟอร์มาซานที่มีสีม่วง ดังนั้นจึงใช้ฟอร์มาซานที่เกิดขึ้นแสดงถึงความมีชีวิตของเซลล์ได้ โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะมีสีม่วง ซึ่งสามารถนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำมาคำนวณร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตรอด ผลการศึกษาเมื่อใช้ดินสอพอง ทาลัม คาร์บอน และเบนโทไนต์ ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยง HaCaT ยังคงมีชีวิตรอดมากกว่าร้อยละ 50 ในงานวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถใช้ความเข้มข้นของสารทดสอบสูงกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากมีข้อจำกัดด้านสารที่ใช้ทดสอบมีการละลายในตัวทำละลายต่ำมาก และเมื่อนำดินสอพองที่มีการลดขนาดอนุภาคให้เล็กลงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับเซลล์และเพิ่มการละลายในตัวทำละลายไปศึกษาความเป็นพิษ พบว่าดินสอพองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วงประมาณ 3-15 ไมโครเมตร ยังคงไม่เป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ที่ความเข้มข้นดังกล่าว อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้เป็นการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นเท่านั้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีอื่นๆ หรือนำไปทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังในสัตว์ทดลองหรือผิวหนังของอาสาสมัครเพิ่มเติม นอกจากนี้ควรนำดินสอพองไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆเปรียบเทียบกับแร่ดินชนิดอื่นๆ เพื่อศึกษาข้อดีข้อเสียของดินสอพอง ซึ่งจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการนำดินสอพองมาพัฒนาต่อยอดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือวิจัย ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมที่ได้จัดสรรงบประมาณสนับสนุนการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. ดินสอพอง. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2558.
2. López GA, Viseras C. Pharmaceutical and cosmetic applications of clays. In: Wypych F, Satyanarayana KG, editors. Clay Surfaces. Fundamentals and Applications. Amsterdam: Elsevier; 2004.
3. López GA, Viseras C, Cerezo P. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products. Appl Clay Sci 2007;36(1-3):51-63.
4. The United States Pharmacopeia. Bulk density and tapped density of powders. In: United States Pharmacopeia Convention Committee of Revision, editors. United States Pharmacopeia - National Formulary 35th ed. Rockville MD: United States Pharmacopeial Convention; 2012.
5. American Society for Testing and Materials. Standard test method for oil absorption of pigments by spatula rub-out [Internet]. 2002 [cited 2022 Apr 4]. Available from: https://www.kelid1.ir/FilesUp/ASTM_STANDARDS_971222/D281.PDF



6. Jo Huang, Hitchins A, Tran T, McCarron J. Bacteriological analytical manual (BAM) for cosmetics [Internet]. 2017 [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-23-methods-cosmetics>
7. ASEAN Cosmetic Testing Laboratory Committee. Enumeration of aerobic mesophilic bacteria, yeast and mould [Internet]. 2013 [cited 2022 Jan 12]. Available from: https://asean.org/wp-content/uploads/2012/10/ACM-006-Enumeration-Micro_Final-Version-2017.pdf
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65(1-2):55-63.
9. ดวงใจ อินทร์ลี, ศุภะลักษณ์ พักคำ. การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรพอกหน้า “งามผิวหน้าดำรับวังสวนสุนันทา”. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ครั้งที่ 7 วันที่ 25-26 มีนาคม 2559; กรุงเทพฯ; 2559. หน้า 2776-92.
10. กุลชลี พวงเพชร, โสพิศ คำนวนชัย, เสาวณีย์ ศรีภานจนารักษ์, ภาณุภัณฑ์ เพิ่มเปี่ยม. การพัฒนาไข่เค็มของกลุ่มอาชีพไข่เค็มใบเตยดินสอพอง ตำบลถนนใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี. วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่ 2563;21(2):167-83.
11. อรุณี เจริญทรัพย์, หนึ่งฤทัย แจ่มสุวรรณ, จิราวรรณ ฉายาวัดณ์. การประยุกต์ใช้ดินสอพองในงานหัตถศิลป์ไทย. วารสารสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม 2563;7(2):599-612.
12. มณีรัตน์ น้ำจันทร์, มณิญา ยิ้มชื่น, ชวิศา ทองคำ, ผกามาศ โตชม, ธนิตา บุญมี, วิชญสิทธิ์ อินทกุล. การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาจากดินสอพองสำหรับการผลิตไบโอดีเซล. วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2561;13(2):84-98.
13. Benjatikul K, Mahamongkol H, Wongtrakul P. Sunscreen properties of marl. J Oleo Sci 2020;69(1):73-82.
14. สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มพข. 453/2560 ดินสอพองแปรรูป. กรุงเทพฯ: 2560.
15. ดวง ทองคำช้อย, นฤมล พินเนียม ชนะไพฑูรย์, วิไล ทองแผ่, รัศมี แสงศิริมงคลยิ่ง. การพัฒนาเครื่องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในดินสอพองด้วยพลังงานแสงอาทิตย์. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 6 วันที่ 8-9 ธันวาคม 2552; นครปฐม; 2552. หน้า 498-506.
16. นฤมล เนรมิตมานสุข, กาญจนา ชาหอม. ดินสอพองปลอดภัยมากขึ้นเมื่อผ่านการฉายรังสีแกมมา. ศูนย์ฉายรังสีสถาบันเทคโนโลยี นิวเคลียร์แห่งชาติ [อินเทอร์เน็ต]. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 20 ม.ค. 2566]. เข้าถึงได้จาก: https://www.tint.or.th/download/service/10.3_Article3706.pdf
17. Obayes SAS. Hot air oven for sterilization: definition & working principle [Internet]. 2019 [cited 2023 May 26]. Available from: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3340325