การวิเคราะห์และการพัฒนาผลิตภัณฑ์สครับเท้าจากสาหร่ายใบมะกรูด *Halimeda macroloba*

Characterization and Development of Foot Scrub from Sarai-Bai-Ma-Kud *Halimeda macroloba*

พัสวี นิลเพ็ชร์[1] สินจัย เพชรัตน์[1] อนุชิต ดาราไกร[1] แก้วตา แก้วตาทิพย์[2,3] และ จารุวรรณ มะยะกูล[*1]

Passawee Nilphet[1], Sinjai Phetcharat[1], Anuchit Darakrai[1], Kaewta Kaewtatip[2,3] & Jaruwan Mayakun[*1]

[1]สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[2]สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[3]ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยและไบโอเซนเซอร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[1]Division of Biological Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University

[2]Division of Physical Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University

[3]Center of Excellence for Trace Analysis and Biosensor, Prince of Songkla University

Submitted 4/09/2022 ; Revised 18/10/2022 ; Accepted 21/10/2022

บทคัดย่อ

สาหร่าย *Halimeda macroloba* เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียวที่มีการสะสมหินปูนหรือแคลเซียมคาร์บอเนตที่บริเวณส่วนคล้ายใบสูง เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและธาตุพบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และความชื้น และพบธาตุออกซิเจน คาร์บอน และแคลเซียมสูง และจากการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์และเชื้อก่อโรคในสาหร่ายที่ผ่านการอบด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูง (autoclave) พบปริมาณแบคทีเรีย และปริมาณราและยีสต์ น้อยกว่า 10 colony forming unit (CFU)/g(mL) ซึ่งผ่านเกณฑ์ตามมาตราฐานกำหนด และไม่พบเชื้อก่อโรค เช่น *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ในการผลิตเครื่องสำอางและลดการใช้เม็ดพลาสติก ในการศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สครับเท้าจากสาหร่าย *H. macroloba* ที่มีส่วนผสมหลักคือ ผงบุก (konjac flour) ไคโตซาน (chitosan) สารกันเสีย (methyl paraben) สารอีมอลเลียนท์ (cetyl alcohol และ stearic acid) สารฮิวเมคแทนท์ (propylene glycol และ glycerin) aquadest และผสมสาหร่ายสดและสาหร่ายแห้งบดละเอียดขนาดประมาณ 63 ไมโครเมตร โดยสครับเท้าที่มีส่วนผสมของสาหร่ายนั้น มีเนื้อสัมผัสหยาบและมีสีเขียว โดยมีค่า pH เท่ากับ 6 แต่สครับสูตรที่ 3 ที่มีการผสมสาหร่ายแห้งจะมีปริมาณแคลเซียม (Ca) สูงที่สุดประมาณ 18,850±386 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเทียบกับสูตรสครับเท้าที่ไม่มีส่วนผสมของสาหร่ายและที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสด

คำสำคัญ: *Halimeda* สครับ แคลเซียม

***ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)**

E-mail: jaruwan.may@psu.ac.th

Abstract

Halimeda macroloba is a green seaweed containing high calcium carbonate in its segments. Moreover, *H. macroloba* contained protein, lipid, carbohydrate, and fiber and was rich in oxygen, carbon, and calcium. For microbial investigation, total aerobic microbial count and total combined fungi and yeasts count is less than 10 colony forming unite (CFU)/g(mL) of autoclave sterilized *H. macroloba*. These numbers are passed the standard requirements of International Organization of Standardization (ISO) and undesirable specific microorganisms. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* were not found. The results showed that it has a potential to be used as a scrub in cosmetic products. This study aimed to prepare and characterize foot scrub that made from konjac flour, chitosan, methyl paraben, cetyl alcohol, stearic acid, propylene glycol, glycerin, aquadest and then mixed with fresh and dried *H. macroloba* (grain size was around 63 μm). The results showed the foot scrub with dried *H. macroloba* contained slightly rough texture with dark green, pH = 6 and moisture 35.47±0.64 %. This formula had the highest calcium (Ca) with around 18,850±386 mg/kg compared to formula 1 (no *H. macroloba* added) and formula 2 (fresh *H. macroloba*).

Keywords: *Halimeda*, scrub, calcium

บทนำ

สาหร่ายใบมะกรูด *Halimeda macroloba* Decaisne เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียวที่มีส่วนคล้ายใบเรียงต่อกันและมีการสะสมหินปูน [1] สาหร่ายชนิดนี้สามารถแพร่กระจายตามเขตชายฝั่งบริเวณน้ำขึ้นน้ำลงจนถึงน้ำลึก ซึ่งสามารถพบสาหร่ายชนิดนี้ได้ทั้งฝั่งอ่าวไทยและอันดามัน [2,3] โดยเฉพาะบริเวณเกาะลิดี จังหวัดสตูล ฝั่งทะเลอันดามัน พบความหนาแน่นของ *H. macroloba* ได้สูงสุดประมาณ 138-200 ทัลลัสต่อตารางเมตร ซึ่งถือว่าเป็นบริเวณที่มีแหล่งสาหร่ายใบมะกรูดที่สมบูรณ์และมีความหนาแน่นสูงที่สุดในประเทศไทย [3]

สาหร่ายชนิดนี้มีบทบาทเป็นผู้ผลิตขั้นต้น แหล่งอาหาร แหล่งอนุบาลและหลบภัยให้แก่สัตว์น้ำต่าง ๆ และยังเป็นผู้ผลิตหินปูนให้แก่ระบบนิเวศทางทะเล [4,5] โดย *H. macroloba* สามารถสร้างและสะสมหินปูนหรือเคลเซียมคาร์บอเนตในรูปผลึกอะราโกไนต์ (aragonite) ไว้บริเวณส่วนคล้ายใบ โดยมีอัตราการสะสมหินปูนประมาณ 18.17 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อทัลลัสต่อวัน หรือ 917 กรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อตารางเมตรต่อปี [3,6] และเมื่อหลังจากระยะสืบพันธุ์ สาหร่ายจะมีสีขาวและตาย โดยจะเหลือโครงสร้างหินปูนไว้แล้วก็จะสลายเป็นอนุภาคขนาดเล็กและสลายเป็นเม็ดทรายต่อไป โดยจากการศึกษาของ Mayakun และ Prathep [3] พบว่า สาหร่ายชนิดนี้จะมีการสะสมหินปูนมากขึ้น ขนาดผลึกใหญ่ขึ้นและมีจำนวนผลึกมากขึ้นเมื่อสาหร่ายอยู่ในระยะเจริญเติบโตเต็มที่ และจากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตพบว่า สาหร่ายชนิดนี้มีอัตราการเจริญเติบโตสูง สามารถสร้างส่วนคล้ายใบใหม่ได้ประมาณ 1-2 ใบใหม่ต่อทัลลัสต่อวัน หรือ 22.24 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อทัลลัสต่อวัน [3] จึงทำให้สาหร่ายชนิดนี้มีศักยภาพในการผลิตหินปูนและเม็ดทรายให้แก่ระบบนิเวศ โดยเป็นผู้ช่วยสร้างแนวปะการังและหาดทราย [5] และช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำได้

สาหร่ายทะเลมีศักยภาพสูงในการนำมาใช้ประโยชน์ ทั้งการบริโภคโดยตรง โดยสามารถนำมาเป็นอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ หรือการใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจด้านอื่น ๆ เช่น การวิจัย การแพทย์ และอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตอาหารเสริม ยา และเครื่องสำอาง โดยสกัดสารเคมีที่สำคัญที่สะสมไว้ภายในเซลล์และผนังเซลล์ของสาหร่าย เช่น เซลลูโลส ฟูคอยแดน (fucoidans) สารกลุ่ม polyphenols และแคลเซียมคาร์บอเนตหรือหินปูน ซึ่งสารกลุ่มฟูคอยแดนมีศักยภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และเซลล์มะเร็งเต้านม [7] และในปัจจุบันสามารถนำเซลลูโลสและแคลเซียมคาร์บอเนตจากสาหร่าย *H. macroloba* มาใช้ในการผลิตและปรับปรุงสมบัติของโฟมแป้ง ซึ่งแคลเซียมคาร์บอเนตในสาหร่ายช่วยปรับปรุงสมบัติเชิงกลและสมบัติทางความร้อนให้แก่โฟมแป้งและยังเพิ่มความต้านทานต่อแรงกระแทกได้ดี [8] นอกจากนี้แคลเซียมคาร์บอเนตจากสาหร่าย *H. macroloba* มีลักษณะเป็นผลึกแข็งค่อนข้างขรุขระและมีความหยาบ หากนำมาบดจะทำให้มีขนาดเล็กลงและมีความละเอียดมากขึ้น ซึ่งสามารถนำมาเป็นส่วนผสมในการทำสครับผิว (body scrub) ได้ [9]

สครับเป็นการขัดหรือถูเซลล์ผิวหนังชั้นนอกให้หลุดออก ช่วยขจัดเซลล์ผิวเก่าและทำความสะอาดผิวด้วยสารขัดผิวซึ่งเป็นวัตถุแข็งมีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็กและละเอียด สารขัดผิวสามารถได้มาจากธรรมชาติ เช่น เมล็ดพืชที่บดละเอียด ผงกาแฟ มะพร้าวและเกลือ หรือได้มาจากการสังเคราะห์เคมี เช่น เม็ดพลาสติก (microbead) ที่ผลิตมาจากพอลิเอทิลีน (polyethylene) พอลิโพรพิลีน (polypropylene) และพอลิสไตรีน (polystyrene) [10] ซึ่งในปัจจุบันสครับส่วนใหญ่ในท้องตลาดจะมีส่วนผสมของเม็ดพลาสติกที่มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่หยาบจนถึงละเอียดและมีการเติมสีเพื่อให้สวยงามตามความต้องการของผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม เม็ดพลาสติกเหล่านี้สามารถก่อให้เกิดการระคายผิวได้มากกว่าสครับที่ทำมาจากธรรมชาติ [10] และเม็ดพลาสติกนี้ไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติและจะเกิดการตกค้างอยู่ในระบบนิเวศหลังจากการใช้งาน จึงก่อให้เกิดปัญหาขยะไมโครพลาสติก (microplastics) ปัญหาการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ สามารถสะสมและถ่ายทอดไปตามสายใยอาหาร [11] ซึ่งส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำและมนุษย์ ในปัจจุบันมีการจำกัดการใช้เม็ดพลาสติกในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จึงทำให้เกิดความต้องการในการใช้สครับจากธรรมชาติมากขึ้น ดังนั้นการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนตจากสาหร่าย หรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติอื่น ๆ มาทดแทนการใช้

เม็ดพลาสติกจึงเป็นอีกทางเลือกที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญต่อสุขภาพผิวกายและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

H. macroloba จึงเป็นสาหร่ายที่มีศักยภาพในการนำแคลเซียมคาร์บอเนตหรือหินปูนมาใช้ประโยชน์ เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีอัตราการเจริญเติบโตและการสะสมหินปูนสูงและมีความหนาแน่นสูงในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรายงานมากนักเกี่ยวกับคุณสมบัติและลักษณะของแร่ธาตุและสารอาหารที่พบในสาหร่าย รวมถึงการเตรียมและวิเคราะห์สครับเท้าที่ทำมาจากสาหร่ายสีเขียว *H. macroloba* ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) วิเคราะห์ธาตุและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายใบมะกรูด *H. macroloba* และ 2) เตรียมและวิเคราะห์สมบัติของสครับเท้าที่ทำมาจากสาหร่ายใบมะกรูด

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างสาหร่ายใบมะกรูด (*H. macroloba*) ที่อยู่ในระยะเจริญเติบโตเต็มที่ ซึ่งเป็นระยะที่สาหร่ายมีการสะสมหินปูนทั้งทัลลัส และมีแผ่นใบมากกว่า 4 ชั้น (ภาพที่ 1) ประมาณ 200 ทัลลัส จากบริเวณเกาะลิดี จังหวัดสตูล นำสาหร่ายมาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสาหร่ายหรือสิ่งมีชีวิตกลุ่มยึดเกาะและตะกอนดินออก

วิธีการศึกษาและการเก็บข้อมูล

1) การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและธาตุ

โดยส่งตัวอย่างสาหร่ายปริมาณ 400 กรัมน้ำหนักแห้ง ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยการใช้พลาสมาเผาตัวอย่างให้แตกตัวเป็นอะตอมหรือไอออนแล้วเกิดการคายแสงอยู่ในช่วงความยาวคลื่นยูวี-วิสิเบิล ที่มีความยาวคลื่นเฉพาะของอะตอมหรือไอออนของธาตุที่ต้องการวัดที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 167-852 นาโมเมตร แล้ววัดความเข้มแสงและคำนวณเป็นความเข้มข้นของปริมาณาตุในตัวอย่าง [9]

2) การศึกษาผลึกหินปูน

การศึกษาผลึกหินปูนของสาหร่าย โดยนำแผ่นใบ (segment) ของสาหร่ายประมาณ 5 แผ่นใบ มาถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ SEM ด้วยเครื่อง SEM รุ่น FEI Quanta 400 (SEM-Quanta) จาก FEI Company โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่จะใช้ถ่ายภาพผลึกหินปูน มายึดไว้บนแท่นวางตัวอย่างด้วยกระดาษกาวคาร์บอน แล้วนำไปดูดความชื้นและฉาบทองเป็นระยะเวลา 6 นาที จากนั้นจึงนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด SEM-Quanta ที่ 20 kv กำลังขยาย 15,000 เท่า ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

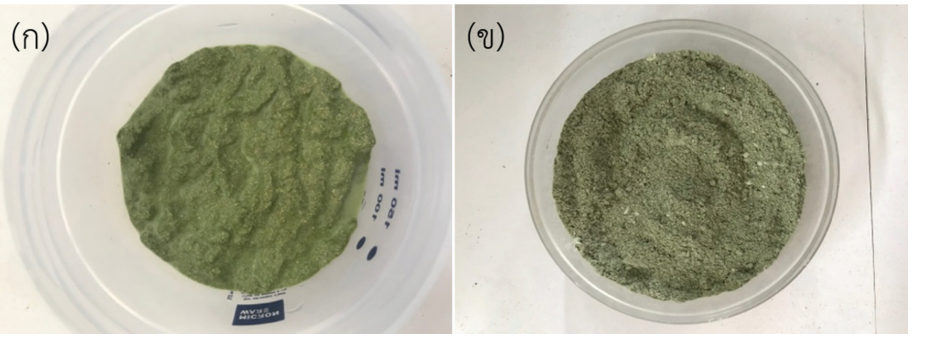
3) การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ (total aerobic bacteria, fungi, and yeast) และเชื้อก่อโรคในสาหร่าย *H. macroloba* โดยส่งสาหร่าย *H. macroloba* ปริมาณ 400 กรัมน้ำหนักแห้ง ไปตรวจวิเคราะห์ที่ Nakdonggang National Institute of Biological Researches (NNIBR), Gyeongsangbuk-do, South Korea ด้วยวิธี plate count method โดยการเจือจางตัวอย่างตามลำดับ ลำดับละ 10 เท่า แล้วนำตัวอย่างไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อบนจานเพาะเชื้อ โดยชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้บ่มจะแตกต่างกันสำหรับการตรวจหาปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ซึ่งข้อกำหนดตามมาตราฐาน International

Organization for Standardization (ISO) กำหนดคือ ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ราและยีสต์ จะต้องไม่เกิน 1,000 CFU/g(mL) และต้องไม่พบเชื้อก่อโรค เช่น *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Staphylococcus aureus* [10]

4) การเตรียมสครับเท้าและการวิเคราะห์คุณสมบัติสครับเท้า

ในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งสาหร่ายออกเป็นสองกลุ่ม คือ สาหร่ายสดและสาหร่ายแห้งที่อบด้วยอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสาหร่ายทั้งสองกลุ่ม ไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นแล้วคัดขนาดด้วยเครื่องเขย่าตะแกรงร่อนจนมีขนาด 63 ไมโครเมตร ก่อนนำไปผสมกับสูตรผลิตสครับเท้า (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 1 ภาพสาหร่าย *Halimeda macroloba* ในระยะเจริญเติบโตเต็มที่และมีการสะสมหินปูนทั้งทัลลัส สาหร่ายมีจำนวนแผ่นใบมากกว่า 4 ชั้น



ภาพที่ 2 (ก) สาหร่ายสดและ (ข) สาหร่ายแห้งบดละเอียด

การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สครับเท้ารูปแบบครีม มีส่วนผสมหลักคือ ผงบุก (konjac flour), ไคโตซาน (chitosan), methyl paraben, cetyl alcohol, stearic acid, propylene glycol, glycerin, และ aquadest [12] โดยนำสาหร่ายที่บดละเอียดแล้วมาเตรียมผลิตสครับ โดยใช้ส่วนผสม 3 สูตร คือสูตรที่ 1 เป็นตำรับพื้น (ไม่มีส่วนผสมของผงสาหร่าย *H. macroloba*) สูตรที่ 2 มีสาหร่ายสด และสูตรที่ 3 มีสาหร่ายแห้ง โดยส่วนผสมแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สครับเท้าจาก *Halimeda macroloba* ทั้งสามสูตร คือ สครับสูตรที่ 1 เป็นตำรับพื้น สูตรที่ 2 มีสาหร่ายสด และสูตรที่ 3 มีสาหร่ายแห้ง

		การพัฒนาสครับเท้าจากสาหร่าย *H. macroloba* (g)		
ส่วนผสม	**หน้าที่ของสาร**	**สูตรที่ 1**	**สูตรที่ 2**	**สูตรที่ 3**
สาหร่าย *H. macroloba*	สารขัดผิว ขจัดเซลล์ผิว	-	6	6
ผงบุก Konjac flour	สารช่วยในการอุ้มน้ำ เพิ่มความหนืดและการเกิดเจล	4	4	4
Chitosan $(C_6H_{11}NO_4)n$	สารช่วยในการอุ้มน้ำ และเพิ่มการยึดหยุ่น	4	4	4
Methyl paraben $(C_8H_8O_3)$	สารกันเสีย	0.24	0.24	0.24
Cetyl alcohol $(C_{16}H_{34}O)$	สารทำให้นุ่มและหล่อลื่น	2	2	2
Stearic acid $(C_{18}H_{36}O_2)$	สารทำให้นุ่มและหล่อลื่น	30	30	30
Propylene glycol $(C_3H_8O_2)$	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	10	10	10
Glycerin $(C_3H_8O_3)$	สารเพิ่มความชุ่มชื้น	10	10	10
Aquadest	ตัวทำละลาย	33.76	33.76	33.76

ขั้นตอนการเตรียมสครับเท้าจะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ 1) การเตรียมวัฏภาคน้ำมัน (oil phase) โดยเริ่มจากการหลอม cetyl alcohol และ stearic acid เข้าด้วยกันที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียล และ 2) การเตรียมวัฏภาคน้ำ โดยการผสม aquadest, glycerin, propylene glycol และ methyl paraben เข้าด้วยกันที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส แล้วนำส่วนวัฏภาคน้ำมันและน้ำผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นผสมผงบุกและไคโตซานลงไปแล้วคนให้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งการเตรียมนี้จะได้เป็นสูตรที่ 1 คือเป็นตำรับพื้นที่ไม่เติมสาหร่าย *H. macroloba* สำหรับการเตรียมสูตรที่ 2 และ 3 นั้น จะเพิ่มสาหร่ายสดและสาหร่ายแห้งบดละเอียดลงไปตามลำดับ

เมื่อได้สครับเท้าทั้ง 3 สูตรแล้ว นำตัวอย่างสครับไปวิเคราะห์ 1) ลักษณะทางกายภาพ เช่น สีและลักษณะเนื้อสครับ และค่า pH 2) ปริมาณความชื้นด้วยวิธี Gravimetric 3) การวิเคราะห์ธาตุด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasms - Optical Emission Spectrometer (ICP-OES), Perkin Elmer, AV10 500, USA และ 4) วิเคราะห์ค่าความขาว (whiteness) ด้วยเครื่องมือ color spectrophotometer, HunterLab, USA ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ One-way ANOVA ในการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างระหว่างค่าความชื้นและปริมาณธาตุระหว่างสูตรสครับทั้งสามสูตร

ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ธาตุ และลักษณะผลึกหินปูนของสาหร่าย *H. macroloba* พบองค์ประกอบทางเคมีที่พบในสาหร่าย *H. macroloba* ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย เถ้า และความชื้น โดยพบโปรตีนมีปริมาณ 19.27 % คาร์โบไฮเดรต มีปริมาณ 5.43 % และเถ้ามีปริมาณสูงเท่ากับ 72.34 % (ตารางที่ 2) และมีพลังงานเท่ากับ 99.88 กิโลแคลอรี และจากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ (total aerobic bacteria, fungi, and yeast) และเชื้อก่อโรคในสาหร่าย *H. macroloba* ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสและสาหร่ายที่อบด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูง (autoclave) พบว่าปริมาณแบคทีเรียในสาหร่ายที่ผ่านการอบด้วยความร้อนมีปริมาณแบคทีเรียประมาณ 1,785,000 CFU/g(mL) และปริมาณราและยีสต์ประมาณ 3,950 CFU/g(mL) ซึ่งเกินกว่าค่ามาตราฐานที่กำหนดคือปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ต้องไม่เกิน 1,000 CFU/g(mL) แต่เมื่อนำสาหร่ายไปอบด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูง (autoclave) พบว่าปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ลดลงโดยมีปริมาณน้อยกว่า 10 CFU/g(mL) และไม่พบเชื้อก่อโรค เช่น *E. coli, P. aeruginosa* และ *S. aureus* จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการเตรียมตัวอย่างสาหร่ายโดยการอบด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูงเป็นวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมเพื่อใช้ในทางเครื่องสำอาง

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Halimeda macroloba*

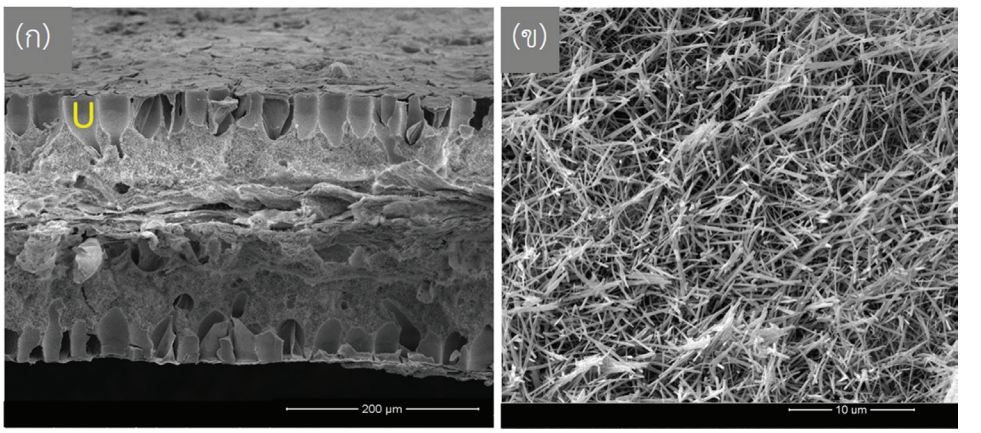
องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)
โปรตีน	19.27
ไขมัน	0.12
คาร์โบไฮเดรต	5.43
เส้นใย	3.38
ความชื้น	2.84
เถ้า	72.34
พลังงาน	99.88 กิโลแคลอรี

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ พบว่าสาหร่าย *H. macroloba* มีปริมาณของธาตุออกซิเจนสูงที่สุดเท่ากับ 42.4 % โดยน้ำหนัก รองลงมาคือ คาร์บอน 32.3% และแคลเซียม 22.2% โดยน้ำหนักตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบธาตุของสาหร่าย *Halimeda macroloba*

องค์ประกอบธาตุ	ปริมาณ (% โดยน้ำหนัก)±SD
O (Oxygen)	42.4±0.71
C (Carbon)	32.3±3.07
Ca (Calcium)	22.2±3.49
Cl (Chlorine)	0.9±0.2
Na (Sodium)	0.7±0.12
S (Sulfur)	0.6±0.15
W (Tungsten)	0.4±0.00
Mg (Magnesium)	0.2±0.06
Si (Silicon)	0.2±0.06
Al (Aluminum)	0.1±0.06

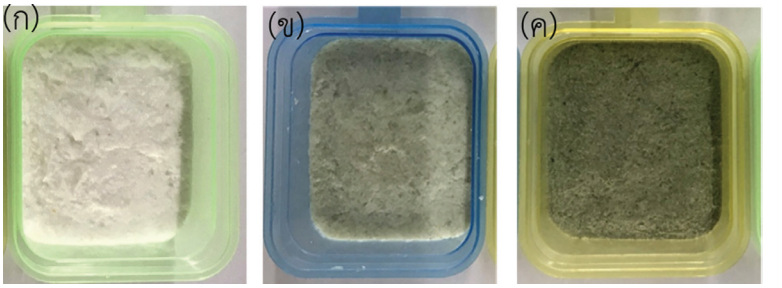
จากการศึกษาลักษณะผลึกหินปูนของสาหร่าย *H. macroloba* พบว่าสาหร่ายจะมีการสะสมหินปูนหรือแคลเซียมคาร์บอเนตไว้ตรงบริเวณช่องว่างระหว่าง utricles (U) (interutricular space หรือ interfilament space) ภายในแผ่นใบ และผลึกมีลักษณะเป็นรูปแท่งและมีขนาดและความยาวของแท่งผลึกแตกต่างกัน (ภาพที่ 3) โดยผลึกแคลเซียมคาร์บอเนตของสาหร่าย *H. macroloba* อยู่ในรูปแบบของ อะราโกไนต์ (aragonite)



ภาพที่ 3 (ก) การสะสมหินปูนตรงบริเวณช่องว่างระหว่าง utricles (U) (ข) ผลึกหินปูนรูปแท่ง

ลักษณะทางกายภาพของสครับเท้าทั้งสามสูตร พบว่า ลักษณะเนื้อสครับของสูตรที่ 1 และ 2 มีลักษณะเนื้อละเอียด และมีสีขาวและเขียวอ่อน ตามลำดับ (ภาพที่ 4 ก, ข) ส่วนสูตรที่ 3 เนื้อสครับมีความหยาบและมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4ค) ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าความขาว (whiteness) พบว่า ทั้งสามสูตรมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยสูตรที่ 3 มีค่าความขาวต่ำสุด คือประมาณ -59.33±0.08 ส่วนสครับสูตรที่ 1 ที่ไม่มีการผสมสาหร่ายจะมีค่าความขาวสูงที่สุด (ตารางที่ 4) นอกจากนี้พบว่าสครับเท้าทั้งสามสูตรมีค่า pH เท่ากับ 6 เท่ากัน และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของสครับเท้าพบว่า ปริมาณความชื้นของสครับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยสครับสูตรที่ 2 ที่มีการผสมสาหร่ายสดมีปริมาณความชื้น

สูงที่สุดเท่ากับ 39.34±0.75 % โดยน้ำหนัก ส่วนสครับสูตรที่ 1 ที่ไม่มีการผสมสาหร่าย *H. macroloba* และสูตรที่ 3 ที่มีการผสมสาหร่ายแห้งมีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุในสครับทั้งสามสูตรพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยสครับสูตรที่ 3 ที่ผสมสาหร่ายแห้งมีปริมาณแคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) แมกนีเซียม (Mg) และโซเดียม (Na) สูงที่สุดคือ 18,850±386, 69.27±1.30, 120.9±2.2 และ 258.3±7.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 4 สครับทั้งสามสูตร (ก) สครับสูตรที่ 1 ที่ไม่มีการผสมสาหร่าย *Halimeda macroloba* (ข) สูตรที่ 2 ที่มีการผสมสาหร่ายสด และ (ค) สูตรที่ 3 ที่มีการผสมสาหร่ายแห้ง

ตารางที่ 4 ค่าความชื้นและค่าความขาว (whiteness) ของสครับทั้ง 3 สูตร คือ สครับสูตรที่ 1 ที่ไม่มีการผสมสาหร่าย *H. macroloba* สูตรที่ 2 ที่มีการผสมสาหร่ายสด และสูตรที่ 3 ที่มีการผสมสาหร่ายแห้ง

สูตรสครับ	ความชื้น±SD	ค่าความขาว±SD
1	35.57±0.30[a]	47.65±0.90[a]
2	39.34±0.75[b]	1.52±0.10[b]
3	35.47±0.64[a]	-59.33±0.08[c]

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบธาตุในสครับสูตรที่ 1-3

องค์ประกอบธาตุ	ปริมาณ (mg/kg)±SD		
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
แคลเซียม (Ca)	160.2±0.6[a]	4,428±169[b]	18,850±386[c]
ทองแดง (Cu)	ไม่พบ	ไม่พบ	< 10.00
เหล็ก (Fe)	< 10.00[a]	17.63±0.07[b]	69.27±1.30[c]
โพแทสเซียม (K)	328.3±12.6[a]	341.6±12.4[b]	341.5±0.4[b]
แมกนีเซียม (Mg)	34.17±0.13[a]	55.99±0.88[b]	120.9±2.2[c]
โซเดียม (Na)	155.1±14.1[a]	175.6±7.1[b]	258.3±7.2[c]
สังกะสี (Zn)	< 10.00	< 10.00	< 10.00

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สาหร่ายใบมะกรูด *Halimeda macroloba* เป็นสาหร่ายที่มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตสูงประมาณ 19.27 % และ 5.43 % ตามลำดับ โดยโปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้างเนื้อเยื่อ และคาร์โบไฮเดรตที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสารพวกพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ และพบปริมาณเถ้าสูงเท่ากับ 72.34 % ซึ่งเถ้าเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากการเผาให้สารประกอบอินทรีย์สลายไป โดยปริมาณเถ้าจะเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแร่ธาตุต่างๆที่มีอยู่ในสาหร่ายใบมะกรูด และยังสามารถพบธาตุออกซิเจน และคาร์บอนสูงรวมกันมากถึง 74.7% และนอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีแคลเซียมสูงประมาณ 22.2% โดยน้ำหนัก ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hou และ Yan [13] พบว่าสาหร่ายกลุ่มที่มีการสะสมหินปูน หรือ calcareous algae จะมีปริมาณธาตุแคลเซียมสูงประมาณ 18.4 % และจากการศึกษาองค์ประกอบธาตุในสาหร่ายใบมะกรูดด้วยวิธี X-ray diffraction (XRD) และ Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR) ของ Chiarathanakrit และคณะ [8] พบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีองค์ประกอบธาตุที่สำคัญคือออกซิเจนและคาร์บอน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์ในสาหร่ายและพบแคลเซียมในรูปของสารประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ในรูปผลึกอะราโกไนต์ (aragonite) และจากการศึกษาของ Mayakun และ Prathep [3] พบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีการสะสมหินปูนหรือแคลเซียมคาร์บอเนตไว้ที่บริเวณส่วนคล้ายใบในปริมาณสูงประมาณ 18 มิลลิกรัมต่อทัลลัสต่อวัน หรือสามารถผลิตหินปูนได้ประมาณ 917 กรัมต่อตารางเมตรต่อปี และมีจำนวนผลึกมากขึ้นเมื่อสาหร่ายอยู่ในระยะเจริญเติบโตเต็มที่ จึงทำให้สาหร่ายชนิดนี้มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นสครับเท้าเนื่องจากทัลลัสของสาหร่ายมีการสะสมหินปูนที่มีลักษณะแข็งและหยาบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ พบธาตุเหล็ก โพแทสเซียม แมกนีเนียมและโซเดียมในสครับเท้าทั้ง 3 สูตร ซึ่งธาตุเหล่านี้สามารถพบได้ในส่วนผสมหลักของการผลิตสครับและพบได้ในเยื่อใยของสาหร่าย อย่างไรก็ตาม สครับเท้าทั้ง 3 สูตรมีคุณสมบัติแตกต่างกันในเรื่องของความชื้นและองค์ประกอบธาตุ โดยสครับเท้าสูตรที่ 3 ที่ผสมสาหร่ายแห้งจะมีเนื้อสัมผัสหยาบที่สุด เนื่องจากมีปริมาณแคลเซียมสูงสุด เท่ากับ 18,850 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีปริมาณธาตุเหล็ก แมกนีเซียมและโซเดียมสูงกว่าสครับสูตรที่ 1 และ 2 อาจเนื่องมาจากสาหร่ายใบมะกรูดที่ใช้ในสูตรที่ 3 นั้นเป็นสาหร่ายแห้งที่ผ่านการอบแห้ง ซึ่งสามารถกำจัดน้ำออกจากสาหร่ายและทำให้มีปริมาณใยสูงกว่าสาหร่ายสด ซึ่งอาจจะส่งผลทำให้มีปริมาณธาตุสูงไปด้วยเมื่อนำสาหร่ายไปวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงความชื้น พบว่าสครับเท้าสูตรที่ 2 ที่ผสมสาหร่ายสดจะมีค่าความชื้นสูงที่สุด เนื่องจากทัลลัสของสาหร่ายมีความชื้นสูงนั้นเอง สำหรับสีของสครับเท้าที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสดและสาหร่ายแห้งบดนั้นมีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม เนื่องจากเป็นสีของคลอโรฟิลล์ภายในทัลลัสของสาหร่าย จึงส่งผลให้ค่าความขาวของสครับทั้งสองสูตรนี้มีค่าน้อยกว่าสครับสูตรที่ 1 ที่ไม่ผสมสาหร่าย ดังนั้นผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสครับที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 แบบ คือแบบสดและแบบแห้งเป็นการเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่ผสมสีจากธรรมชาติ โดยไม่จำเป็นจะต้องใช้สีสังเคราะห์ที่มีราคาแพงและอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค และเมื่อพิจารณาค่า pH ของสครับทั้ง 3 สูตร พบว่ามีค่าเท่ากันคือ 6 ซึ่งเป็นค่า pH ที่อยู่ในช่วงที่กำหนดสำหรับการผลิตเครื่องสำอางคือ pH ควรมีค่าประมาณ 4.5-7.5 [12] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ervina et al [12] ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกที่นำสาหร่ายชนิดนี้มาผลิตเป็นสครับผิว (body scrub) โดยพบว่าสาหร่าย *H. macroloba* สามารถนำมาผลิตเป็นสครับผิวที่มีคุณสมบัติเหมาะสมคือ มีความชื้นประมาณ 66.83% ค่า pH เท่ากับ 6.65 และมีแคลเซียมในปริมาณสูง โดยสครับผิวสูตรที่มีการผสมสาหร่ายแห้งจะเป็นสูตรที่พึงพอใจของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์สครับผิวมากที่สุด เนื่องจากเนื้อสครับมีความหยาบ อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ Ervina และคณะ [12] ไม่ได้มีการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ และเชื้อก่อโรคในสารที่ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ซึ่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เหล่านี้จะส่งผลเสียต่อลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์ได้ รวมถึงเชื้อก่อโรค เช่น *E. coli, P. aeruginosa* และ *S. aureus* ที่จะก่อให้เกิดการติดเชื้อบริเวณ

ผิวหนังและโรคพุพอง เป็นต้น [14]

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย และปริมาณของราและยีสต์ ในสาหร่าย *H. macroloba* ที่ผ่านการอบด้วยอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสนั้น มีปริมาณสูงเท่ากับ 1,785,000 และ 3,950 CFU/g(mL) ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ามาตราฐานที่กำหนดคือ ต้องมีปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ ไม่เกิน 1,000 CFU/g(mL) และไม่พบเชื้อก่อโรค แต่เมื่อนำสาหร่ายแห้งไปอบด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูง (autoclave) อีกครั้ง พบว่าปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์ลดลงโดยมีปริมาณน้อยกว่า 10 CFU/g(mL) และไม่พบเชื้อก่อโรค เช่น *E. coli, P. aeruginosa* และ *S. aureus* ซึ่งการอบตัวอย่างสาหร่ายอีกครั้งด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูงจะช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และเชื้อก่อโรคได้และทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณสาหร่าย *H. macroloba* ที่ใช้ในการผลิตสครับเท้านั้น ผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การผลิตสครับเท้าปริมาณ 100 กรัม จะใช้ส่วนผสมของสาหร่าย *H. macroloba* ทั้งแบบสดและแบบแห้งในปริมาณ 6 กรัม เท่ากัน แต่สาหร่ายแห้งจะมีปริมาณแคลเซียมสูงกว่า ดังนั้นในการผลิตสครับเท้าจึงควรเลือกสาหร่ายแห้งมาเป็นวัสดุดิบในการผลิต และหากมีการเก็บสาหร่ายชนิดนี้ทั้งทัลลัส อาจจะส่งผลกระทบต่อความหนาแน่นของสาหร่ายในระบบนิเวศได้ ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายทะเลชนิดนี้ จึงควรเก็บเฉพาะส่วนคล้ายใบของสาหร่าย (segment) เท่านั้น เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีความสามารถในการสร้างส่วนคล้ายใบใหม่ได้ 1-2 ใบใหม่ต่อทัลลัสต่อวัน [3] และทัลลัสเดิมสามารถสร้างส่วนคล้ายใบใหม่ได้ หรือจะเก็บเฉพาะทัลลัสที่ตายแล้วมาผสมเป็นสครับเท้าก็ได้เนื่องจากทัลลัสสาหร่ายที่ตายแล้วก็มีหินปูนสะสมอยู่ แต่อย่างไรก็ตามในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สครับเท้าที่มีส่วนผสมของสาหร่าย *H. macroloba* ควรมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณสาหร่ายแห้งที่ใช้ ความหนืด (viscosity) ค่าความคงตัวทางกายภาพ (stability test) ของผลิตภัณฑ์และการศึกษาคุณค่าเชิงสุนทรียรส (hedonic values) โดยสำรวจความพึงพอใจจากผู้ทดลองใช้สครับเท้า

สรุปผลการวิจัย

สาหร่ายสีเขียว *Halimeda macroloba* เป็นสาหร่ายที่มีการสะสมหินปูนในรูปผลึกและเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและธาตุ พบองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และความชื้น และพบว่าสาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณของธาตุออกซิเจนสูงที่สุด รองลงมาคือ คาร์บอน และแคลเซียม ตามลำดับ โดยแคลเซียมคาร์บอเนตที่สะสมอยู่ภายในทัลลัสของสาหร่ายสามารถนำมาผลิตเป็นสครับเท้า โดยสครับเท้าสูตรที่มีการผสมสาหร่ายแห้งบดละเอียดเป็นสูตรที่มีเนื้อสครับมีความหยาบเนื่องจากมีปริมาณแคลเซียม (Ca) สูงที่สุดคือ 18,850±386 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สครับมีสีเขียวเข้ม มี pH เท่ากับ 6 และมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 35.47±0.64 % สาหร่ายชนิดนี้เมื่อผ่านการอบนึ่งด้วยเครื่องอบนึ่งความดันสูง (autoclave) พบว่าปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์อยู่ในเกณฑ์ที่มาตราฐานกำหนดและไม่พบเชื้อก่อโรค ดังนั้นสาหร่าย *H. macroloba* จึงเหมาะที่จะนำมาผลิตเป็นสครับเท้า

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ SCI6505008S และ PSU Basic Research Grant จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (SCI6302020S) และขอขอบคุณ Mr. Young-Hwan Park และสมาชิกจาก Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR), South Korea สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย ราและยีสต์และเชื้อก่อโรค

เอกสารอ้างอิง

[1] Coppejans, E., Prathep, A., Leliaert, F., Lewmanomont, K., & Clerck, O. D. (2010). *Seaweeds of Mu Ko Tha Lae Tai (1st edition).* Bangkok: Biodiversity research and training program.

[2] Pongparadon, S., Zuccarello, G. C., & Prathep, A. (2017). High morpho-anatomical variability in *Halimeda macroloba* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Thai waters. *Phycological Research*, 65, 136-145.

[3] Mayakun, J., & Prathep, A. (2019). Calcium carbonate productivity by *Halimeda macroloba* in the tropical intertidal ecosystem: The significant contributor to global carbonate budgets. *Phycological Research*, 67, 94-101.

[4] Hillis-Colinvaux, L. (1980). Ecology and taxonomy of *Halimeda*: primary producer of coral reefs. *Advances in Marine Biology*, 17, 1-327.

[5] van Tussenbroek, B. I., & van Dijik, J. K. (2007). Spatial and temporal variability in biomass and reproduction of psammophytic *Halimeda incrassata* (Bryopsidales, Chlorophyta) in a Caribbean reef lagoon. *Journal of Phycology*, 43, 69-77.

[6] Mayakun, J., Liao, C-P., & Liu, S-L. (2020). The standing stock and $CaCO_3$ contribution of *Halimeda macroloba* in the tropical seagrass-dominated ecosystem in Dongsha Island, the main island of Dongsha Atoll, South China Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1–9.

[7] Seatan, U., Nontasak, P., Palasin, K., Saelim., Wonglapsuwan, M., Mayakun, J., Pongparadon, S., & Chotigeat, W. (2021). Potential health benefits of fucoidan from the brown seaweeds *Sargassum plagiophyllum* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, 33, 3357–3364.

[8] Chiarathanakrit, C., Mayakun, J., Prathep A., & Kaewtatip, K. (2019). Comparison of the effects of calcified green macroalga (*Halimeda macroloba* Decaisne) and commercial $CaCO_3$ on the properties of composite starch foam trays. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 71-76.

[9] Boss, C. B., & Fredeen, K. J. (2004). *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (3rd edition).* USA: The Perkin-Elmer Corporation.

[10] วลัยพรรณ สุรวัฒนวิเศษ. (2560). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขัดผิวจากเส้นใยสับปะรด* [วิทยานิพนธ์ ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

[11] พงศกร แก้วดี, รังสิมันณ์จ ชื่นใจ, จิรศักดิ์ ตรีพรหม, ปรียาภรณ์ ไชยสัตย์, และ อมร ไชยสัตย์. (2561). การเตรียมพอลิแอลแลคติกแอซิดไมโครบีดที่มีช่องว่าง โดยเทคนิคอิมัลชันแบบกลับวัฏภาคด้วยการระเหยตัวทำละลายอย่างง่าย. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 17, 41-53.

[12] Ervina, A., Santoso, J., Prasetyo, B. F., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2020). Formulation and characterization of body scrub using marine alga *Halimeda macroloba*, chitosan and konjac flour (pp 1-9). In *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 414 012004.

[13] Hou, X., & Yan, X. (1998). Study on the concentration and seasonal variation of inorganic elements in 35 species of marine algae. *The Science of the Total Environment*, 222, 141-156.
[14] มะลิ วิโรจน์แสงทอง. (2563). ขีดจำกัดจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 17, 1-12.