



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การเก็บกักสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเตาในรูปแบบอนุภาคไขมันแข็งขนาด nano เพื่อใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง

**Encapsulation of Antioxidant Compound from *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing
in Nanostructured Lipid Carriers for Cosmetics Production**

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย

ประจำปี 2558

จำนวน 271,400 บาท

หัวหน้าโครงการ

นางสาวฐิติพร วนิชสุข

ผู้ขอเบิกจ่าย	จำนวนเงิน	จำนวนเงินที่ได้รับ
นางสาวฐิติพร วนิชสุข	271,400	0
รวมทั้งหมด		
		271,400

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
3/กันยายน/2559

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการเก็บกักสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเตาในรูปแบบอนุภาค ไขมันแข็งขนาดนาโนเพื่อใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย เงินงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ มีระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2557 ถึงเดือนตุลาคม 2558 เป็นเงิน 271,400 บาท (สองแสนเจ็ดหมื่นห้าพันสี่ร้อยบาทถ้วน) คณะกรรมการดำเนินงานพิจารณา ผู้เกี่ยวข้องในการดำเนินการวิจัยทุกท่าน สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการเอื้อเพื่อสถานที่ในการดำเนินการวิจัยและอุปกรณ์ครื่องมือ ในการทดลอง สุดท้ายของอนุภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการเอื้อเพื่อการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ ทำให้ โครงการวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

จิตพรวน จิมสุข

หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

สารบัญตาราง	๑
สารบัญภาพ	๑
บทคัดย่อ	๑
Abstract	๒
คำนำ	๓
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	๒๑
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	๒๑
การตรวจสอบสาร	๒๒
สถานที่วิจัย อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการวิจัย	๒๖
ผลการวิจัย	๓๒
วิจารณ์ผลการวิจัย	๔๗
สรุปผลการวิจัย	๕๖
เอกสารอ้างอิง	๕๖
ข้อเสนอแนะ	๖๔

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ลักษณะสารสกัดและปริมาณสารสกัดสาหร่ายเตา	32
ตารางที่ 2 ค่า Total antioxidant, DPPH assay และ FRAP assay ของสารสกัดสาหร่ายเตา 3 ชนิด (^a Mean ± ^b SD)	33
ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ³ แสดงด้วยค่า Mean ± SD	35
ตารางที่ 4.1 ค่าการปักคลุมผิว (F) ของอนุภาคไขมันแข็ง A-NLC	35
ตารางที่ 4.2 ค่าการปักคลุมผิว (F) ของอนุภาคไขมันแข็ง B-NLC	36
ตารางที่ 4.3 ค่าการปักคลุมผิว (F) ของอนุภาคไขมันแข็ง C-NLC	36
ตารางที่ 5.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค A-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	37
ตารางที่ 5.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค B-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	37
ตารางที่ 5.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค C-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	38
ตารางที่ 6.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค A-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ A-NLC แสดงด้วยค่า Mean ± SD	38

ตารางที่ 6.2	ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค B-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ B-NLC แสดงด้วยค่า Mean ± SD	39
ตารางที่ 6.3	ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค C-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ C-NLC แสดงด้วยค่า Mean ± SD	39
ตารางที่ 7.1	ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค A-NLC เมื่อพิจารณา จากปัจจัยการเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	40
ตารางที่ 7.2	ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค B-NLC เมื่อพิจารณา จากปัจจัยการเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	41
ตารางที่ 7.3	ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค C-NLC เมื่อพิจารณา จากปัจจัยการเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) แสดงด้วยค่า Mean ± SD	42
ตารางที่ 8	ค่าความหนืด (viscosity, cps) ของครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัด หรืออนุภาคสารสกัดที่เตรียมด้วยไขมันเหลว Lexol เมื่อทดสอบความคงตัว ทางเคมีในสภาวะเร่ง โดยเปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ด้วยวิธี heat cool (Initial heat cool cycle or after heat cool cycle) จำนวน 6 รอบ แสดงด้วยค่า Mean ± SD	46

ตารางที่ 9 ค่า pH ของครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดหรืออนุภาคสารสกัดที่เตรียม 46
 ด้วยไข่มันเหลว Lexol เมื่อทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่งโอดข
 เปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ค่าวีวิช heat cool (Initial heat cool cycle or
 after heat cool cycle) จำนวน 6 รอบ ในสภาวะเก็บให้พื้นแสง แสดงด้วยค่า

Mean \pm SD

สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 1	(ก) สาหร่ายเตาสด (ข) และลักษณะเซลล์ภายในได้กล้องจุลทรรศน์	4
ภาพที่ 2	ลักษณะสารสกัด C ผงสีเขียวเข้ม	32
ภาพที่ 3	ภาพถ่ายด้วยเทคนิค Transmission electron microscopy ของอนุภาค C-NLC	34
ภาพที่ 4	รูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดที่เตรียมโดยการผสมสารสกัด A, B หรือ C	44
	ในครีมและการปลดปล่อยสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาค A-NLC,	
	B-NLC และ C-NLC และผสมในครีมเมื่อเตรียมในรูปแบบครีม	
ภาพที่ 5	สูตรครีมที่เตรียมจากสารสกัด A, B และ C	45
ภาพที่ 6	สูตรครีมที่เตรียมจากอนุภาค A-NLC, B-NLC และ C-NLC	45
ภาพที่ 7	ปริมาณสารสกัด A, B และ C และอนุภาคไไมมันของสารสกัดทั้งสามชนิด คือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ที่คงตัวอยู่ในครีม เมื่อทดสอบความคงตัว ทางเคมีในสภาวะร่างด้วยวิธี heat cool	47

การเก็บกักสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเตาในรูปแบบอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนเพื่อ

ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง

Encapsulation of Antioxidant Compound from *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing in

Nanostructured Lipid Carriers for Cosmetics Production

ธิติพรรณ ชิมสูค¹

Thitiphan Chimsook¹

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

สาหร่ายเตานำมาเตรียมสารสกัดสาหร่ายและได้สารสกัดสาหร่ายลักษณะผงถึงเข้มข้น ชนิด สารสกัดเอ (48.12%) คือสารสกัดคั่ว燕้ำโดยใช้การหมัก สารสกัดบี (51.05%) คือสารสกัดคั่ว燕้ำโดยใช้เทคนิค soxhelt และสารสกัดซี (58.12%) คือสารสกัดอทานอลโดยใช้เทคนิค soxhelt สารสกัดทั้งหมดน้ำมันทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดซี มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี total antioxidant assay ที่ปริมาณ 15.532 ± 0.026 มิลลิกรัมกรดแอกโซร์บี DPPH assay ที่ปริมาณ $35.750 \pm 0.035\%$ และวิธี FRAP assay ที่ปริมาณ 24.770 ± 0.084 มิลลิกรัมกรดแกเลติกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดทั้งสามชนิด นำมาเตรียมอนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโนและเรียกว่า เอ-เอ็นแอลซี บี-เอ็นแอลซี ซี-เอ็นแอลซี สูตรที่คิดคุณภาพในการเตรียมอนุภาคอ่อนแอลซีคือสารสกัดสาหร่ายที่เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนัก ปริมาณไขมันทั้งหมดคือ 20% และความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวคือ 7.0% โดยน้ำหนัก โดยผลการทดลองแสดงค่าข่ายส่วนผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 115-120 นาโนเมตร ค่าการกระจายอนุภาคอยู่ในช่วง 0.150-0.165 ค่าประจุนิวโอนุภาคมีค่า -18.5 ถึง -24 มิลลิโวลต์ ค่าเปอร์เซ็นต์การกักเก็บในช่วง 88.05-88.78% เมื่อใช้ lexol เป็นไขมันเหลว จากนั้นได้ตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีได้แก่ ค่าความหนืดโดยวิธี heat cool และค่าพีอ่อนของครีมทาผิวที่เตรียมจากสารสกัด เอ บี ซีและครีมที่เตรียมจากสารสกัดที่รูปเปลือกแอลซีทั้งสามชนิด และพบว่าครีมที่เตรียมจากสารสกัดที่รูปเปลือกแอลซีช่วยให้สารสกัดในครีมเสถียรและคงอยู่ในปริมาณ 80-82%

คำสำคัญ: สาหร่ายเตา สารต้านอนุมูลอิสระ อนุภาคไขมันแข็งขนาดนาโน

Abstract

Spirogyra neglecta was used to prepare the algae extracts and then obtained three dark green powder of algae extracts. A (48.12%) was aqueous extract using maceration. B (51.05%) was aqueous extract using soxhelt method. C (58.12%) was ethanol extract using soxhelt method. All extracts were examined the antioxidant activities. The results showed that C exhibited the highest antioxidant activity for total antioxidant assay at 15.532 ± 0.026 mg ascorbic acid, DPPH assay at $35.750 \pm 0.035\%$ and FRAP assay at 24.770 ± 0.084 mg gallic acid/g, respectively. All extracts were performed as nanostructured lipid carriers and called A-NLC, B-NLC, C-NLC. The optimized formulation was found at algae extracts concentration of 0.5 % w/w, total lipid content of 20%, and surfactant concentration of 7.0% w/w. The experimental values of the optimized formulation exhibited mean particle size of 115-120 nm, polydispersity index (PI) of 0.150-0.165, zeta potential of -18.5 to -24 mV and percent of entrapment of 88.05-88.78% using lexol as oil. The physical and chemical properties such as viscosity using heat cool and pH of body cream prepared from A, B, C and all NLC extracts were examined and found that the formulation of all NLC extracts showed the stability of NLC extracts in body cream observed from the percent of extract remaining of 80-82%.

Key words: *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing, Antioxidant, Nanostructured Lipid Carriers

ท ำ น า

ประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะพืชพันธุ์ธรรมชาติทั้งบกและในน้ำ ทั้งจากแหล่งน้ำจืดและแหล่งน้ำเค็ม โดยเฉพาะบริเวณแหล่งน้ำจืดของลุ่มน้ำทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ซึ่งเป็นแหล่งที่มีความอุดมสมบูรณ์ของพืชพันธุ์หลากหลายชนิด โดยเฉพาะสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่เติบโตในน้ำ บริเวณแหล่งน้ำจืด เช่น สาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่พบในแม่น้ำภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย มีหลายชนิด และได้นำมาศึกษาวิจัยในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะสาหร่ายเดาหรือเทาน้ำมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จากผลการศึกษาถูกต้องว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายเดาหรือเทาน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุภูมิสังเคราะห์ของสาหร่ายเดา ผู้วิจัยจึงสนใจนำสารสกัดจากสาหร่ายเดา มาประยุกต์ร่วมกับเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ เพื่อสร้างสูตร การเตรียมสารสกัดในรูปแบบอนุภาค ใหม้มั่นระดับนาโน ที่สามารถนำมาปรับใช้ในการบวนการผลิตเครื่องสำอางที่มีสมบัติหล่อวัช พิมประสีทิพยาการลดครอยเที่ยวบันที่มีสาเหตุจากผลกระทบภายนอก หรือจากปัจจัยภายในร่างกายที่ส่งผลต่อสุขภาพผิวพรรณ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มนูคล่าสารสกัดจากสาหร่าย อย่างไรก็ได้ การผลิตเพื่อแปรรูปในระดับอุตสาหกรรมต้องควบคุมคุณภาพต่อไป รวมทั้งขั้นตอนการแปรรูปต้องตรวจสอบความคงตัว และมาตรฐานสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ และด้วยสมบัติเฉพาะตัวของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหลายชนิดที่มักประสบปัญหาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ ทำให้การออกฤทธิ์ลดลงเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นาน หรือกรณีสารออกฤทธิ์ลายตัวได้ง่าย โดยเฉพาะเมื่อออยู่ในสภาพที่มีแสง ความชื้น และออกซิเจน ดังนั้นการนำเทคโนโลยีการเก็บกัก (encapsulation) สารออกฤทธิ์มาพัฒนาในรูปแบบอนุภาค ใหม้มั่นระดับนาโน นอกจากจะเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญแล้ว อนุภาคที่มีขนาดเล็กจะคงตัวของสารสำคัญในจลน์เพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสด้วยสารที่สามารถดูดซึมน้ำได้มากขึ้น และการใช้ใหม้มั่นชนิดแข็งทำให้สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ การเตรียมอนุภาคใหม้มั่นระดับนาโน ยังสามารถเปลี่ยนสารสำคัญที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปแบบของชีวรัม หรือของเหลวเนื้อเดียวกับที่เป็นน้ำ ได้อีกด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บกักสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สกัดจากสาหร่ายเดาที่เตรียมในรูปแบบอนุภาค ใหม้มั่นระดับนาโนเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบของเครื่องสำอาง โดยใช้ใหม้มั่นชนิดแข็งและหรือน้ำมัน ทั้งนี้องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถเป็นแนวทางการนำไปพัฒนาและปรับปรุงสูตรเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ต้นแบบเครื่องสำอางจากสาหร่ายน้ำจืด ได้เป็นอย่างดี และสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปพัฒนาเป็นระบบนำส่งสารสำคัญในทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์อาหาร ตลอดจนผลิตภัณฑ์ด้านการเกษตร ได้อย่างมีประสิทธิภาพด่อไป

สาหร่ายจัดเป็นพืชชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์แสงได้ สาหร่ายเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่ออาหารในระบบนิเวศน์ทำให้เกิดภาวะสมดุลทางธรรมชาติ สาหร่ายน้ำจืดและน้ำเค็มหลายชนิด สามารถสร้างสารพิเศษบางชนิดเพื่อการดำรงชีวิต ให้สามารถอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน สารพิเศษเหล่านี้มีทั้งประโยชน์และโทษค่อนข้างมาก มีการศึกษาและพัฒนาสาหร่ายเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ นานัปการทั้งทางด้านการบริโภคสด หรือการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูป เช่น ผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสาหร่ายเกลียวทองและสาหร่ายสีปูรุลินาในรูปของอาหารเสริมสุขภาพ เป็นต้น (Stanley, 1987) ในด้านสิ่งแวดล้อม สาหร่ายสามารถใช้ในการกำจัดน้ำเสียร่วมกับแบคทีเรีย (Radmer and Parker, 1994) นอกจากนี้ สาหร่ายนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น เครื่องสำอางที่ผสมสาหร่ายและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองช่วยให้ผิวพรรณดีขึ้น และลดริ้วรอย สาหร่ายสีน้ำตาลมีการรายงานการนำสารสกัดมาพัฒนาใน เครื่องสำอางหลายชนิด ในประเทศไทยรังสรรค์ได้ทดลองใช้ยาที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองนำมาทาแพลงเพื่อทำให้แพลงแห้งเร็วขึ้น ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้สนใจศึกษาสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ของไทยชนิดหนึ่งคือ สาหร่ายเตา ซึ่งแต่เดิมนำมาประกอบอาหาร และเริ่มนิยมการศึกษาวิจัยสมบัติทางเภสัชวิทยา และสารอาหาร โดยคณะกรรมการวิจัยของบุรีดี ในปี 2549 และด้วยเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าและมีสมบัติทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจ คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในสารสกัดของสาหร่ายเตา ตลอดจนศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษศาสตร์ ปริมาณฟีโนลิกและ ความสามารถในการด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายเตาที่ได้จากการถลุงน้ำทางภาคเหนือของไทย สาหร่ายเตาหรือเทาน้ำ เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียว (green algae) ในกลุ่มสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ จัดอยู่ใน Division Chlorophyta สาหร่ายในสายพันธุ์ Spirogyra นี้พบในแหล่งน้ำจืดในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีองค์ประกอบทั้งทางเคมีและชีวเคมี และลักษณะทางชีววิทยาที่หลากหลายและพบความแตกต่างบ้างในแต่ละประเทศ ในประเทศไทยสามารถนำมารับประทานได้ โดยเฉพาะในภาคเหนือน่องนิยมนำมาปรุงอาหาร ลักษณะสำคัญของสาหร่ายเตา (บุรีดี, 2549) แสดงดังภาพที่ 1



(ก)



(ข)

ภาพที่ 1 (ก) สาหร่ายเตาสด (ข) ลักษณะเซลล์ภายในตัวสาหร่ายเตา
(บุรีดี, 2549)

ลักษณะโดยทั่วไปของสาหร่ายเตา ปราภูชเชลล์เรียงตัวต่อกันเป็นเส้นสายยาวมากคล้ายเส้นผมสีเขียวสด เส้นสายยาว ไม่แตกแขนง มีเมือกหุ้มอยู่ภายนอก เชลล์รูปร่างเป็นทรงกระบอกขนาดของเชลล์ คือ กว้าง 50-67 ไมโครเมตร ยาว 100-300 ไมโครเมตร ผนังกันระหว่างเชลล์เป็นแบบระนาบ (end wall plane) ผนังเชลล์มี 3 ชั้น มีคลอโรพลาสต์ 3-4 เส้น คลอโรพลาสต์บิดเป็นเกลียวคล้ายรินบีนอยู่ทั่วทั้งเชลล์ บนสายคลอโรพลาสต์มีไฟรินอยด์เรียงเป็นแถบลดสาย ผนังเชลล์ด้านขวาจะเชื่อมโยงโดยมีความกว้างระหว่างเชลล์ต่อเชลล์เป็นรูปตัว “H” สีที่พบในธรรมชาติและสีของเชลล์คือ สีเขียว สาหร่ายเตาพบในแหล่งน้ำใหม่เอี่ยม มีการดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ มีการสืบพันธุ์แบบไม้ออาศัยเพศโดยการขยับตัวออกเป็นสองท่อน และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการรวมกันของแgnมีท ซึ่งจะเคลื่อนที่ผ่านห้องน้ำทางเดิน

สาหร่ายเตาเป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวมีคุณค่าทางโภชนาการ โดยประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย เส้า และมีรงควัตถุหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ เบต้าแคโรทีน และแทนโทฟิล เป็นด้าน ในแคนภาคนหนึ่อนิยมน้ำมันปรงอาหารที่เรียกว่า บำรุงเตา ซึ่งมีโปรตีนถึง 11% (Mitova 1999) จากรายงานการวิจัยของธิติกานต์ปี 2551 พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายเตามีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง โดยมีฤทธิ์ในการขับยั่งอนุมูล ABTS⁺ อนุมูล DPPH⁺ อนุมูลไไฮดรอกซิล อนุมูลชุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ขับยั่งการเกิด lipid peroxidation และมีความสามารถในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดริ้วรอยก่อนวัย โดยอนุมูลอิสระสามารถทำลายเชลล์ ผิวหนังทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของกล้ามเนื้อและอิลาสติน ส่งผลให้ผิวหนังเก็บกักความชื้นได้ลดลง ผิวหนังจึงแห้งและเกิดริ้วรอยได้ง่าย ในปัจจุบันจึงมีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาสารชะลอความแก่ จากธรรมชาติ ดังตัวอย่างเช่น กลุ่มน้ำมันหอมระ夷จากพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำมาใช้ชะลอความแก่และลดเลือนริ้วรอยได้ เมื่อจากสารสกัดพืชเหล่านี้สามารถชะลอกระบวนการออกซิเดชันที่เป็นสาเหตุการเกิดริ้วรอย นอกจากนี้ในสาหร่ายทะเลหลายชนิดได้มีรายงานการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีสมบัติในการต้านและจัดอนุมูลอิสระได้ดี และนำมาเป็นส่วนผสมหลักในเครื่องสำอางในหลาย ๆ ขั้นตอน

ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่จะนำมาพัฒนาต่อขอดเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ด้านความงาม การผลิตเครื่องสำอาง อาหารเสริม และที่จะพัฒนาเป็นครีมรักษาสิว ได้มีการตรวจสอบคุณภาพ และประเมินประสิทธิภาพอย่างจริงจัง มีการทดสอบคุณภาพ และการออกฤทธิ์ลดลงเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นาน สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหลายชนิด เช่น สารสกัดจากน้ำมันรำข้าว สารสกัดจากน้ำมันเยื่อหุ้มเมล็ดฟักขาว เป็นต้น รวมถึงยาวยาโรคบางชนิดมักประสบปัญหาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญเกิดการสลายตัวได้ง่าย โดยเฉพาะเมื่ออุ่นในสภาพที่มีแสง ออกซิเจน และความชื้น หรือกรณียาวยาโรคบางชนิดมีการปลดปล่อยสู่อวัยวะเป้าหมายเร็วเกินไป ทำให้ต้องรับประทานยาบ่อยครั้ง และบางครั้งอาจนัดน้ำที่อาจทำให้เกิดความระคายเคืองต่อเยื่อบุในร่างกาย ได้ ดังนั้นการวิจัยและ

พัฒนาระบบนำส่งสารสำคัญ ไม่ว่าจะเป็นยารักษาโรค สารสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ น้ำมันหอมระ夷 สูญญากาศหรือบริเวณเป้าหมายในร่างกาย ได้ตามต้องการ จึงมีความสำคัญ ทั้งนี้มีจุดมุ่งหมาย เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ ป้องกันการสลายตัวง่าย สามารถเข้าถึงอวัยวะเป้าหมายและมีกระบวนการปลดปล่อยสารสำคัญ โดยสามารถควบคุมอัตราและปริมาณตามที่กำหนด ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจุบัน ได้มีการให้ความสำคัญในการวิจัยและพัฒนาการนำส่งสารสำคัญในระดับนานา เนื่องจากระบบนำส่งสารมีขนาดอนุภาคเล็ก จึงสามารถส่งไปยังอวัยวะเป้าหมาย ได้อย่างจำเพาะเจาะจงเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการรักษา บำรุง และลดอาการข้างเคียง นอกจากนี้ระบบยังสามารถนำส่งสารสำคัญผ่านเมมเบรน ได้มากขึ้น

โดยทั่วไประบบนำส่งในระดับนานาโนมีหลายระบบ ระบบนำส่งโดยทั่วไปจะมีขนาดอนุภาคมากกว่า 1 ไมโครเมตร ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ระบบนำส่งประเภทไขมันและพอลิเมอร์ เห็น nano แคปซูล นาโนสเฟียร์ ไมโครอิมลชัน และพอลิเมอร์ของไไมเซล เป็นต้น ดังตัวอย่างของการพัฒนาระบบนำส่งยา (novel drug delivery system) เพื่อปรับปรุงสมบัติด้านเภสัช ジョンศาสตร์ของตัวยา ที่ส่วนใหญ่จะนำส่งในรูปแบบอนุภาคคลอโลид (colloidal particle) โดยเลือกใช้ไขมันหรือพอลิเมอร์ที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย (biocompatible) สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย (biodegradable) ไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายและสามารถกำจัดออกจากร่างกายทางไตหรือทางน้ำดี ได้ ระบบนำส่งยาที่สามารถจำแนกได้ด้วยประเภท เช่น ลิโพโซม (liposome) ไฟโตโซม (phytosome) อนุภาคนาโน (nanoparticle) อิมลชัน เป็นต้น ในงานวิจัยนี้จะวิจัย สนใจนาเทคโนโลยีระบบนำส่งยาในรูปแบบของอนุภาคนาโน มาประยุกต์ใช้กับสารสกัดจากสาหร่าย เต้าที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้เนื่องจากข้อดีของการเตรียมอนุภาคที่มีขนาดเล็กระดับนาโนคือ การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสทำให้สามารถนำส่งสารสำคัญผ่านผิวนัง และช่วยเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญผ่านเซลล์เมมเบรน ไปยังกระแสเลือด ทำให้สารสกัดออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น (Semalty *et al.*, 2010; Bombardelli, 1991; Suryawashi, 2011)

นอกจากการพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบอนุภาคนาโน ในปัจจุบัน ได้มีการพัฒนาเครื่องสำอางให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยมีการใส่สารสำคัญลงในผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีการออกฤทธิ์เชิงรักษาที่เรียกว่า “เวชสำอาง” อีกทั้ง ได้มีแนวทางการพัฒนาคำรับเวชสำอางให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ด้วยการใช้ระบบนำส่ง โดยเฉพาะการใช้อนุภาคนาโนในผลิตภัณฑ์ การเลือกใช้วิธีนำส่งสารสำคัญที่เหมาะสมจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการซึมแพร่ผ่านของสารสำคัญ ประยุกต์และปลดปล่อยแก่ผู้ใช้ ข้อได้เปรียบในการนำส่งสารสำคัญเหล่านี้ โดยการกักเก็บไว้ในระบบนำส่งอนุภาคนาโนคือ ความสามารถในการเพิ่มการดูดซึม เพิ่มการละลาย สามารถป้องกันการเสื่อมสภาพ ควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ หรือทำให้เกิดความรู้สึกสัมผัสที่ดีบนผิวนังหลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ ฯลฯ อนุภาคนาโนที่สามารถนำมาใช้มอยู่ในหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอนุภาค วิธีที่ใช้ผลิตสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บ กลไกการนำส่งอนุภาคที่

ต้องการ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้อาจกำหนดสมบัติทางเคมีและกายภาพของอนุภาคนาโน เนื่น ขนาดอนุภาค พื้นผิวอนุภาค และความคงตัวของอนุภาค เป็นต้น (Parveen *et al.*, 2012) ในท้องตลาดได้มี ผลิตภัณฑ์ที่มีอนุภาคนาโนเป็นระบบนำส่ง ซึ่งสามารถนำส่งสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดีกว่าตัวรับเครื่องสำอางแบบเก่า เช่น ครีมหรืออิมลชัน นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีความ น่าสนใจและเป็นการเพิ่มนูกล่าให้กับผลิตภัณฑ์อีกด้วย อย่างไรก็ตาม การพัฒนาระบบนำส่งอนุภาค นาโน นอกเหนือจากการทดสอบถึงลักษณะทางเคมีและกายภาพ การทดสอบความคงสภาพของ อนุภาคนาโน ต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ก่อนที่จะนำไปใช้ต่อไป ใน การวิจัยการเก็บกักสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเต้าผู้วัวจัย ได้นำเทคนิคการเตรียมอนุภาคนาโน ไขมัน (Lipid nanoparticles) มาประยุกต์ใช้ซึ่งเป็นเทคนิคที่ปัจจุบันได้นำมาประยุกต์ใช้ในระบบ การนำส่งสารสำคัญอย่างกว้างขวางมากขึ้น

อนุภาคนาโน ไขมันประกอนด้วยไขมันแข็ง (solid lipid) หรือส่วนผสมระหว่าง ไขมันแข็ง และ ไขมันเหลว (liquid lipid) เป็นส่วนประกอบหลักซึ่งมีชื่อเรียกว่า solid lipid nanoparticle (SLN) และ nanostructured lipid carrier (NLC) ตามลำดับ อนุภาคนาโน ไขมันทั้งสองชนิดเตรียมจาก ไขมันที่มีความปลอดภัยต่อร่างกาย โดยไม่หลอมละลายที่อุณหภูมิห้องหรือร่างกาย ส่วนประกอบ ของ ไขมันเหลวในตัวรับ NLC ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญและมีการ ควบคุมการปลดปล่อยตัวยาหรือสารสำคัญออกมากจากตัวรับที่ดีขึ้นกว่า SLN เนื่องจากตัวยาหรือ สารสำคัญที่ใส่เข้าไปในตัวรับสำหรับ SLN สารจะแทรกตัวอยู่รูระหว่างโครงร่างผลึก (crystal lattice) ที่เป็นระเบียบ แต่ใน NLC สารจะสามารถแทรกตัวอยู่รูระหว่างโครงร่างที่ไม่เป็นระเบียบทา ให้ปริมาณของตัวยาหรือสารสำคัญถูกกักเก็บได้มากขึ้น โดยการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญที่มี คุณสมบัติของ ไขมันอาจถูกกักเก็บอยู่ในอนุภาคได้ถึง 90-98 % ในขณะที่ตัวยาหรือสารสำคัญที่มี คุณสมบัติของน้ำอาจถูกกักเก็บได้ประมาณ 20-30 % การเตรียมอนุภาคนาโน มีหลายวิธี เช่น วิธีบีบ ผสมเป็นเนื้อเดียว กันด้วยความดันสูงแบบเตรียมที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำ (hot or cold high-pressure homogenization) วิธีทำให้เกิดอิมลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย (solvent emulsification and evaporation) วิธีทำให้เกิดอิมลชันและการแพร่ผ่าน (emulsification - diffusion technique) และการ กลับวัฏจักร (phase inversion) เป็นต้น อนุภาค ไขมันระดับนาโน มีข้อดีในการนำส่งตัวยาหรือ สารสำคัญที่ดีกว่าระบบอื่น ๆ คือ ไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบในตัวรับทำให้พื้นที่ผิวของอนุภาค ฐานขึ้น ทำให้การยึดเกาะกับผิวนานั้นและสามารถทำให้เกิดการปลดลุกผิวเมื่อทางบนผิวนั้น โดยผิวนั้นจะมีความชุ่มชื้นมากขึ้น และยังมีคุณสมบัติในการเพิ่มการแทรกผ่านผิวนั้น (penetration enhancer) ทำให้การซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญที่ปล่อยออกจาكونุภาคเพิ่มมาก ขึ้น (Venugaranti *et al.*, 2009) นอกจากนี้ วัตถุประสงค์การเตรียมอนุภาคนาโน ไขมันระดับนาโน ยัง สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์ที่บรรจุภายในอนุภาคนาโน กับโครงสร้างเคมีและ ความเข้มข้นของ ไขมันและน้ำมันที่เลือกใช้ ในการขัดเรียงตัวและความเป็นผลึกที่เกิดขึ้น ซึ่งส่งผล

ต่อความสามารถในการเก็บกัก การปลดปล่อยสารสำคัญและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อนุภาคในมั่นระดับ nano โน่นที่เตรียมได้จะนำมาศึกษาคุณสมบัติความคงตัวของอนุภาค โดยการวัดขนาดอนุภาคและประจุไฟฟ้าที่ผิวอนุภาค รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณการเก็บกักสารสำคัญ ในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคการเก็บกักสารสำคัญในรูปแบบอนุภาค ใหม่มั่นระดับ nano NLC ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีการนำมายังครั้งแรกกับสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และในการนำส่งยารักษาโรคหลายชนิดมาประยุกต์ใช้

อนุภาค nano ใหม่มั่นแข็งและน้ำมัน NLC คือ อนุภาคของแข็งที่ประกอบด้วยไขมันที่มีขนาด 1-1000 นาโนเมตร NLC เป็นระบบนำส่งยารูปแบบหนึ่งซึ่งกำลังได้รับความสนใจเนื่องจากเชื่อว่าอนุภาคขนาดเล็กของ nano ในพาร์ติเคิลจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ของยา และสารสำคัญ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความคงตัวของยา NLC สามารถเตรียมได้หลายเทคนิค โดยอาศัยหลักการที่แตกต่างกันไป เช่น high pressure homogenization (Wissing, 2003), solvent diffusion (Hu, 2006) และ solvent-emulsion diffusion (Tamjidi, 2013) อี่างไรก็ตาม การเตรียมด้วยเทคนิคดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการใช้เครื่องมือพิเศษ เช่น high pressure homogenizer และยังเกี่ยวข้องกับการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งข้อเสียดังกล่าวอาจเป็นผลให้ดันทุนในการผลิตสูงขึ้น และตัวทำละลายอินทรีย์ยังก่อให้เกิดอันตราย คณะผู้วิจัย Gasco ได้พัฒนาเทคนิคการเตรียม NLC ด้วยวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อน โดยพัฒนาร่วมกับเทคนิค microemulsions (Gasco, 1986)

โดยในช่วงแรก microemulsions เกิดจากการผสมไขมันที่มีจุดหลอมเหลวมากกว่าอุณหภูมิร่างกายสารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) ในปริมาณที่เหมาะสมที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำ microemulsions ที่ได้ไปกระจายตัวในน้ำเย็น หยดไขมันที่เป็นของเหลวที่อุณหภูมิสูงจะถูกดึงเป็นหยด ไขมันแข็งที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ได้ NLC การเตรียมวิธีนี้เป็นวิธีการเตรียมที่ง่าย และไม่ซับซ้อนและสะดวกต่อการพัฒนาจากห้องทดลองไปสู่ระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า NLC นั้นสามารถช่วยเพิ่มความซึมเข้าของผิวหนังเนื่องจากมีอนุภาค ใหม่มั่นแข็งขนาดเล็ก เมื่อทดลองบนผิวหนังแล้วจะก่อให้เกิดฟิล์มชั้นบาง ๆ ปกคลุมผิวหนังทำให้ผิวหนังสูญเสียความชุ่มชื้นลดลง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเตรียม nano พาร์ติเคิลด้วยเทคนิค microemulsions โดยใช้ไขมันที่มีความปลดปล่อย และสารลดแรงตึงผิวในปริมาณที่เหมาะสม

จากข้อดีของระบบนำส่ง NLC ที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีการอบรมแนวคิดที่จะพัฒนาสารสกัดจากสาหร่ายเตาที่มีสมบัติเด่นในด้านเป็นสารต้านอนุมูลอิสระให้อยู่ในรูป NLC เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารสกัดและเป็นการเพิ่มน้ำหนักให้กับสาหร่ายน้ำจืดภาคเหนือ โดยทำการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของน้ำมัน ชนิดของสารลดแรงตึงผิว และปริมาณของไขมันแข็ง เป็นต้น ที่มีต่อคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ เช่น สัมฐานวิทยา ขนาดอนุภาค โดยเฉลี่ย ประสิทธิภาพในการเก็บตัวสารออกฤทธิ์ และความคงตัวทางเคมีและกายภาพ เป็นต้น และหากการพัฒนานี้ประสบผลสำเร็จจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสมุนไพรตัวอื่น ๆ ได้ รวมถึงดัดแปลงให้ใช้ได้กับ

ผลิตภัณฑ์การเกย์ตր ทั้งนี้เพื่อให้สามารถแบ่งขั้นในตลาดประชาคมอาเซียน และตลาดสินค้าในทั่วทุกมุมโลกในปัจจุบันและอนาคต

ความรู้ทั่วไปของอิมลชันและการประยุกต์ใช้

อิมลชัน หมายถึง ระบบการกระจายตัว (dispersed system) ที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด แบ่งเป็นสองวัฏภาพ กือ วัฏภาพภายในและวัฏภาพภายนอก จะไม่กระจายตัวเข้าหากัน หรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน น้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 2 วัฏภาพ เป็นต้น โดยการที่จะนำของเหลวทั้งสองวัฏภาพกระจายตัวเข้าหากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน โดยอาศัยสารตัวที่สามซึ่งกือ สารก่ออิมลชัน (Emulsifier หรือ Emulsifying agent) โดยทั่วไป ขนาดของหยดนของวัฏภาพภายในจะอยู่ในช่วง $0.1(0.5) - 10 \mu\text{m}$ ซึ่งบางครั้งอาจพบอิมลชันขนาดเล็กมากถึง $0.01 \mu\text{m}$ หรือใหญ่มากถึง $100 \mu\text{m}$ แต่จะทำให้ระบบไม่คงตัวมากยิ่งขึ้น Dispersed systems เป็นระบบที่มีสองวัฏภาพอยู่ร่วมกันกือ (1) วัฏภาพภายใน (Dispersed phase หรือ Internal phase หรือ Discontinuous phase) กือวัฏภาพที่ไม่สามารถเดินทางจากหนึ่ง กระเจาตัวอยู่ด้วย ดังนั้น water phase จะประกอบด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่

โดยทั่วไป Dispersion system จะประกอบด้วย oil phase และ water phase ดังรายละเอียดดังนี้

1. Water phase of emulsion โดยทั่วไปใน water phase ไม่ได้มีเพียงน้ำเพียงอย่างเดียวแต่มีสารอื่นกระจายตัวอยู่ด้วย ดังนั้น water phase จะประกอบด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่

- soluble drugs
- humectants
- สารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, carbopol, methycellulose เป็นต้น
- preservative เช่น methylparaben, sodium benzoate เป็นต้น
- color เช่น amaranth
- flavor
- distilled water หรือ ionized water

2. Oil phase of emulsion ประกอบด้วยสารต่าง ๆ ได้แก่

2.1 น้ำมันที่เป็นของเหลว (fixed oil, volatile oil, mineral oil) เช่น arachis oil (peanut oil), cottonseed oil, soya been oil, safflower oil เป็นต้น

2.2 น้ำมันที่เป็นของแข็ง (fats, waxes) เช่น paraffin, beeswax, carnuba wax, fatty alcohol (cetyl alcohol และ stearyl alcohol) เป็นต้น

2.3 Oil-soluble drugs เช่น oil soluble vitamin, antiseptics เป็นต้น

2.4 Antioxidant

โดยทั่วไปขนาดของวัตถุภาคน้ำในมีผลต่อชนิดของ dispersions system ดังข้อมูลสรุปดังนี้

ขนาดของอนุภาคน้ำใน (micron, μm)	ชนิดของ dispersion phase
เล็กกว่า 0.001	molecular dispersions หรือ true solution
0.001 – 0.5	colloidal dispersions เช่น gel
ใหญ่กว่า 0.1 หรือ 0.5	coarse dispersions เช่น suspension, emulsion, ointment, aerosol, suppository

อิมัลชันแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ (1) conventional emulsions เป็น emulsion ทั่วไป (2) multiple emulsions เป็น emulsion ที่มีการกระจายตัวของของเหลวทั้ง 2 ชนิดซ้อนกัน (3) microemulsions เป็น emulsion ที่มีขนาดอนุภาคน้ำมาก ๆ เป็นนาโนเมตร ทำให้มีลักษณะโปร่งแสง มองไม่เห็น droplet ของ internal phase มีลักษณะคล้าย True solution สำหรับ conventional emulsions สามารถแบ่งได้อีก 2 ชนิดคือ 1.1 oil in water emulsions (O/W) น้ำมันเป็นวัตถุภาคน้ำ เป็นวัตถุภาคนอก จึงมีความเหนียวเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายตัวล้างออกได้ง่าย เป็นที่นิยมมาก ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม และ โลชั่นทาผิว (body cream and body lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมกันแดด (sunscreen cream) 1.2 water in oil emulsion (W/O) น้ำเป็นวัตถุภาคน้ำ น้ำมันเป็นวัตถุภาคนอกพบอิมัลชันชนิดนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมทากลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) อิมัลชันชนิดนี้ล้างน้ำออกยากจึงเป็นที่นิยมใช้น้อย

ความหนืดของอิมัลชันแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. โลชั่น (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัตถุภาคนอกในปริมาณที่สูง วัตถุภาคน้ำในมักไม่เกิน 35 % เป็นรูปแบบที่พบรากาศที่สุดในผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวนางที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วซึมเข้าไปในผิวหนังอย่างลึกซึ้ง ให้ความรู้สึกสบายและล้างน้ำออกได้ง่าย เช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด ซึ่งโลชั่นนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ในวัตถุภาคน้ำให้หนืดขึ้นได้ แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลໄด้

2. ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เพราะมีส่วนประกอบของสารพาราฟายแข็ง (waxes) และ ไขมัน (fatty acid หรือ fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืด และเนื้อครีมผสมอยู่กับน้ำมันในวัตถุภาคน้ำมัน ครีมมักจะมีความหนืดมากกว่า โลชั่น เพราะมีปริมาณวัตถุภาคน้ำในสูงกว่า คือประมาณ 35-37 % โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (bodying or stiffening agent) เช่น ไขมัน และ ไขแข็ง และถ้าเป็น ชนิด o/w emulsion อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืดร่วมด้วย เช่น acacia, veegum เป็นต้น

องค์ประกอบพื้นฐานในสูตรคำรับอิมัลชันมีหลายองค์ประกอบได้แก่

1. Moisturizer ที่เป็นสารที่ใช้ป้องกันหรือบรรเทาความแห้งของผิวหนัง สารที่ทำให้ผิวนียนและอ่อนนุ่ม สามารถเพิ่มปริมาณน้ำแก่ผิวหนังและทำให้ผิวชุ่มชื้น คำอื่น ๆ ที่มีความหมายใกล้เคียง moisturizer คือ emollient, humectant เป็นต้น

2. Barrier agents (protective agents) เป็นสารที่ใช้ป้องกันการแพ้ของผิวหนัง barrier ในครีมหรือโลชั่นทาผิวหนังมี 2 ประเภทคือ water repellant และ oil repellant สารที่เป็น Barrier agents ได้แก่ petrolatum, ozokerite wax, beeswax, paraffin wax, stearic acid, silicone เป็นต้น

3. Humectants เป็นสารที่ควบคุมความชื้นของครีมหรือโลชั่น และความชื้นของผิวหนัง โดยลดการระเหยของน้ำ และจะดูดความชื้นในอากาศเข้ามาไว้ในเนื้อครีม จะทำให้ครีมไม่แห้ง ไม่ควรใช้ humectants ในความเข้มข้นสูง เพราะจะดูดความชื้นจากผิวหนังออกมาก ทำให้เกิดผลตรงข้าม กับความประสงค์สารที่นิยมใช้เป็น humectants ได้แก่ glycerol, propylene glycol, sorbitol เป็นต้น ทั้งสามชนิดเป็น polyhydric alcohol ต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลและการระเหย โดย propylene glycol มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การระเหยสูง glycerol อยู่ในระดับปานกลาง และ sorbitol มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ความหนืดสูง และไม่ระเหย humectants อื่น ๆ ได้แก่ polyoxyethylene sorbitols, sodium lactate, polyoxyethylene glycols, mannitol และ glucose เป็นต้น

4. Thickeners และ film Formers ได้แก่ พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล มีคุณสมบัติเป็น film ปกคลุมผิวทำให้ชุ่มชื้น และเกิดความเย็น นอกจากนี้ทำให้ครีมนีเนื้อบื้น มักเติมอยู่ในรูป solution หรือ dispersions ในน้ำก่อนนำไปผสมกับยาอื่น ๆ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

4.1 สารที่เกิดจากธรรมชาติ ได้แก่ gum, tragacanth, algin, cellulose derivative, veegum เป็นต้น

4.2 สารที่ได้จากการสังเคราะห์ พนว่ามีความหนืดมากกว่าที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ carbopol, polyvinyl pyrrolidone (P.V.P) เป็นต้น

5. Emulsifiers ความสวยงามของครีม และโลชั่นขึ้นกับการเลือกใช้ Emulsifier ที่จะให้น้ำกับน้ำมันเข้ากันและคงตัวดี แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

5.1 Anionics ได้แก่ sodium, potassium, triethanolamine, stearate เป็นต้น

5.2 Cationics หมายถึง emulsion ที่มีฤทธิ์เป็นกรด ที่นิยมใช้คือ cetyl pyridinium chloride

5.3 Nonionics อาจใช้ร่วมกับ anionics และ cationics ตัวอย่างของ nonionics ได้แก่ sorbitan monostearate, glyceryl monostearate เป็นต้น

6. Preservatives อาจใช้ benzoic acid 0.1 % หรือ sodium benzoate 0.1 %, combination ของ methyl paraben (0.15 %) และ propyl paraben (0.3 %) เป็นต้น

7. Antioxidants หรือสารต้านออกซิเดชัน เนื่องด้วยองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์หรือเครื่องสำอางบางชนิดอาจมีสารซึ่งໄວต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สลายตัวและ/หรือ ประสิทธิภาพของสารนั้นลดลง เป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรูปลักษณ์เปลี่ยนไป เช่น สีเข้มขึ้น กลิ่นเปลี่ยนไปจากเดิม หรือ เกิดการแยกชั้น ได้ ถ้าสารนั้นเป็นสารสำคัญจะทำให้ประสิทธิภาพลดลงด้วย จำเป็นต้องใช้สารต้านออกซิเดชัน เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาซึ่งก่อผลเสียดังกล่าว เช่น สารต้านออกซิเดชันแท้ (True antioxidant) เป็นสารซึ่งละลายในวัฏภาคน้ำมัน ใช้เพื่อป้องกันการหืนของไขมันไม่อิ่มตัว ต่าง ๆ ได้แก่ propyl gallate, alpha-tocopherols, butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำ ๆ และอาจใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพ (synergists) เช่น citric acid, phosphoric acid, disodium EDTA, lecithin 0.05-0.1% เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดความเข้มข้นที่ต้องใช้

8. Coloring agent ซึ่งอาจเป็นสีที่ละลายน้ำ หรือสีที่ละลายในน้ำมัน

9. Perfume ซึ่งได้จากการหมาด หรือการสังเคราะห์

10. สารอื่นๆ เช่น

10.1 Healing agent ช่วยกระตุ้นการเจริญของ granulation tissue ได้แก่ allantoin และ urea เป็นต้น

10.2 Hormone ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำไว้ในเซลล์ ได้แก่ estrogenic hormone ซึ่งอาจช่วยลดรอยเหี่ยวย่นร่องดวงตาได้

โดยทั่วไปอิมลشنที่เตรียมได้จะมีการทดสอบด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น การเข้ากันได้กันน้ำและน้ำมัน ทดสอบสี การใช้ microscopic examination และการนำไฟฟ้า เป็นต้น สำหรับกระบวนการเตรียมอิมลشنนั้นมีสองระดับคือ Small Scale Processing และ Large Scale Processing จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการประเมินคุณภาพของอิมลشن โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการ การทดสอบคุณภาพด้านการใช้ของผลิตภัณฑ์ การทดสอบสอนผลต่อร่างกาย และการทดสอบด้านความคงสภาพของอิมลشن โดยคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของอิมลشنที่ควรนำมาประเมิน เช่น ความหนืดและคุณสมบัติการไหล ขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค การสูญเสียน้ำและสารระเหยออกจากผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงของ phase to volume ratio ค่า pH ความเนียนและการแยกชั้น การปนเปื้อน ความคงตัวของตัวยาสำคัญและสารปรุงแต่งในผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

ความรู้เกี่ยวกับไมโครอิมลشنและนาโนอิมลشن

ไมโครอิมลشن (microemulsion) เป็นผลิตภัณฑ์ของเหลวที่มีลักษณะเป็นเนื้อดีawa ประกอบด้วยวัฏภาคน้ำ (water phase) และวัฏภาคน้ำมัน (oil phase) ซึ่งทำให้เกิดเส้นใยรากฟิล์มที่ผิวดอกแรงตึงผิวหรือของสารผสมระหว่างสารลดแรงตึงผิว กับสารลดแรงตึงผิวรวม (surfactant/cosurfactant mixture) ไมโครอิมลشن จำแนกได้เป็น 3 ประเภท ตามลักษณะการกระจายตัวของวัฏภาคน้ำและวัฏภาcn้ำมันในระบบ คือ ประเททน้ำมันในน้ำ (oil-in water, o/w หรือ L1)

ประเภทน้ำในน้ำมัน (water-in-oil, w/o หรือ L2) และประเภทต่อเนื่องแบบคู่ (bicontinuous) ในโครอิมัลชันทุกประเภทได้รับความนิยมในการศึกษาวิจัยทั้ง ในเชิงคุณลักษณะและในเชิงประสิทธิภาพ เพื่อใช้เป็นตัวกลางในการนำส่งยา สารออกฤทธิ์ต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางผิวหนัง ในโครอิมัลชันเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์หนึ่งที่ได้รับความนิยมมากในการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ เครื่องสำอาง เนื่องจากเหตุผลหลัก 6 ประการ ดังนี้

1) ในโครอิมัลชันมีลักษณะที่ใสและน่าใช้ โดยอาจนำไปใช้ในรูปของเหลวแบบหยด (drops) หรือสเปรย์ (sprays) หรืออาจเติมสารก่อเจล (gelling agent) เพื่อปรับรูปให้เป็นในโครอิมัลชันเจล (microemulsion-based gel)

2) ในโครอิมัลชันเป็นระบบที่มีเสถียรภาพทางอุณหพลวัต (thermodynamic stability) ซึ่งมีอายุคุณภาพสินค้า (shelf life) ยาวนาน

3) ในโครอิมัลชันสามารถเกิดขึ้นได้เอง (spontaneous formation) เมื่อระบบมีชนิดและความเข้มข้นของวัตถุภาคน้ำ วัตถุภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสม จึงผลิตได้ง่ายโดยการคนผสมธรรมชาติ ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน ซึ่งเป็นข้อเด่นของในโครอิมัลชันที่เหนือกว่าอิมัลชัน และนาโนอิมัลชัน (nanoemulsions) โดยสองรูปแบบหลังจำเป็นต้องใช้พลังงานในกระบวนการผลิตสูง

4) ในโครอิมัลชันมีกำลังในการละลายสูง จึงสามารถสมดุลกับสารได้หลากหลายทั้งสารที่ชอบน้ำมันและสารที่ชอบน้ำ

5) โครงสร้างระดับในโคร (micro-structure) ทำให้ในโครอิมัลชันสามารถนำส่งสารสำคัญทางเครื่องสำอางเข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่าตัวรับในรูปแบบดั้งเดิม ซึ่งการนำส่งสารสำคัญทางเครื่องสำอางเข้าสู่ผิวหนังในชั้nl่าง ๆ ของหนังกำพร้า (epidermis) มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของสารสำคัญทางเครื่องสำอางบางชนิด ได้แก่ สารปรับสีผิวขาว (whitening agents) สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) เป็นต้น

6) การนำเทคโนโลยีในโครอิมัลชันมาใช้ในเครื่องสำอางสำหรับเส้นผมสามารถทำให้เกิดประสิทธิภาพเชิงประจักษ์ เช่น การนำเทคโนโลยีในโครอิมัลชันมาใช้ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดเส้นผม ทำให้ชั้นเกล็ดผม (cuticle) เรียงตัวเป็นระเบียบและแน่นสนิทขึ้น ช่วยลดแรงในการแปรรูปทั้งในขณะ pempeking และพมแห้ง ในผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม ช่วยเพิ่มความมีน้ำหนัก ช่วยให้สีผมที่ผ่านการทำสีมีสีที่ดีคงทนมากขึ้น และช่วยให้ผมมีความสวยงามมากขึ้น ช่วยบำรุงเส้นผมได้ดี ในผลิตภัณฑ์จัดแต่งทรงผม ช่วยให้จัดทรงผมได้ง่าย โดยไม่ทำให้ผมแลดูแข็งตึงหรือเหนียว ในผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสีผม ช่วยลดระยะเวลาในการข้อมหรือฟอกสีผมและในผลิตภัณฑ์ดัดผม สามารถนำส่งสารสำคัญในการดัดผม คือ thioglycolic acid เข้าสู่เส้นผมได้ดีขึ้น เป็นต้น ในโครอิมัลชันสามารถเกิดขึ้นได้เอง เมื่อระบบมีชนิดและความเข้มข้นของวัตถุภาคน้ำ วัตถุภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสม ดังที่กล่าวแล้วทำให้ในโครอิมัลชันผลิตได้ง่ายโดยการคน

ผสมธรรมค่า ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน โดยสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมทำหน้าที่เป็นตัวช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวของวัสดุกาน้ำและน้ำมันส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อิสระของระบบมีค่าลดลง ทำให้เกิดไมโครอิมลัชั่นขึ้น

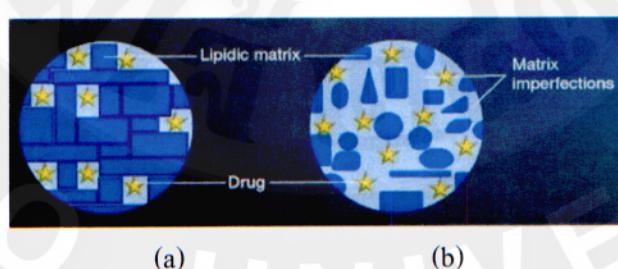
นาโนอิมลัชั่น เป็นการพัฒนาอนุภาคนาโนเพื่อระบบนำส่งสารสำคัญ โดยเป็นระบบที่ประกอบด้วยน้ำมัน น้ำและสารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูง มีลักษณะเป็นของเหลวใสที่มีความคงตัวทางเหอร์โน ไดนามิกส์สูง ขนาดของหยดน้ำภาคในตารับมักมีขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตร สามารถรูปปอยู่ได้จากผิวฟิล์มของสารลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวนี้นิยมใช้คือ กลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (nonionic surfactants) และกลุ่มสารลดแรงตึงที่มีหัวประจุบวกและลบ (zwitterionic surfactants) สารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำสามารถปรับใช้กับระบบนี้ได้ สารลดแรงตึงผิวในตารับสามารถทำปฏิกิริยากับไขมันที่อยู่ระหว่างเซลล์ของผิวหนังทำให้สามารถเพิ่มการดูดซึมผ่านของสารสำคัญผ่านผิวหนัง และในส่วนของวัสดุกาน้ำมันสามารถทำให้เกิดการปกคลุมผิวเมื่อทาลงบนผิวหนังช่วยให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นสูง ส่วนหยดน้ำอิมลัชั่นจะยุบและหลอมไปกับส่วนประกอนของผิวหนัง มีการนำ nano อิมลัชั่นมาประยุกต์ใช้ทางเวชสำอาง เพื่อช่วยในการเพิ่มการดูดซึมสารสำคัญผ่านผิวหนัง หรือช่วยการกักเก็บน้ำในผิวหนัง ส่งผลต่อการนำไปใช้งานของผลิตภัณฑ์

นอกจากนี้ยังมีความก้าวหน้าของระบบนำส่งยา เครื่องสำอางและเวชสำอางหลายรูปแบบที่ได้มีการศึกษาวิจัยเช่น liposomes, niosomes, microparticulates และ nanoparticles, solid lipid nanoparticles (SLN), nanostructured lipid carriers (NLC) รวมถึง microemulsions และ nanoemulsions เป็นต้น ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีการประยุกต์ใช้ระบบนำส่งสารแสดงดังนี้

Trade name	Ingredient	Use	Name of brand	Type of carrier system used
Capture		Anti-aging	Dior	Liposome
Niosome Plus® Daily Treatment			Lancome	Niosome
Rutína® Nano-force Moisturizer	Hyaluronic acid derivative	Skin-moisturizing	Kose	Nanotechnology

Trade name	Ingredient	Use	Name of brand	Type of carrier system used
Rénergie® line products (Flash Lifting Serum, Microlift Serum, Microlift Cream, Microlift Eye Cream)	Nanoparticles of silica and proteins	Skin-tightening, anti-wrinkles	Lancome	Nanoparticles
Happylogy® Glowing Skin Essence	Pro-endorphins complex	Anti-wrinkle	Guerlain	Nanoemulsion
Coco Mademoiselle Fresh Moisture Mist		Skin-moisturizing	Channel	Nanoemulsion

Purohit et al., 2016 ได้กล่าวถึงระบบนำส่ง lipid carriers (LCs) ที่สามารถแบ่งได้หลายรูปแบบได้แก่ SLN, NLC และ lipid drug conjugated (LDC) เป็นต้น



(a) ตัวอย่างของยา (drug) ที่เตรียมด้วย SLN (b) ตัวอย่างยาที่เตรียมด้วย NLC

(Purohit et al., 2016)

โดยระบบนำส่ง lipid carriers มีการนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยด้าน pharmaceutical technology research และนำมาประยุกต์ใช้ได้ในการกระบวนการผลิตเครื่องสำอาง ทำให้เครื่องสำอางหลาภูมิคิดถูกพัฒนาและใช้เทคโนโลยีในการผลิตและจำหน่ายในหลายตัวอย่าง

แบรนด์ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ข้อดีของการประยุกต์ใช้เทคนิค NLC คือ การเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธ์ในยาหรือเครื่องสำอาง กระบวนการเกิดฟิล์ม การควบคุมการปลดปล่อยสาร การเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวน้ำ ลดการแพ้ระคายเคือง รวมถึงเพิ่มความเสถียรของผลิตภัณฑ์ของ lipid nanoparticles เทคนิคที่ใช้ในการเตรียม NLC มีหลายเทคนิค ดังนี้

1. Homogenization method

- Hot homogenization
- Cold homogenization.

2. Solvent evaporation method

3. Solvent emulsification-diffusion method

4. Microemulsion-based method

5. Supercritical fluid method

6. Spray drying method

7. Double emulsion method

8. Precipitation technique

9. Film-ultrasound dispersion

10. High-speed homogenization followed by ultrasonication method

ในการศึกษาการปลดปล่อย (release) สารสำคัญ เช่น ตัวยา สารออกฤทธ์ เป็นต้น จาก lipid carriers หรือยาได้ด้วยหลักการ เช่น การปลดปล่อยสารจะเป็นสัดส่วนผกผันกับ partition coefficient ของยาหรือสารออกฤทธ์ โดยพื้นที่ผิว (surface areas) จะเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดอนุภาคหรือ particle size ลดลงในช่วง nanoเมตรจะส่งผลต่อการปลดปล่อยสารหรือยาเร็วมากขึ้น ขณะที่ถ้า พนิษัท บริษัท อาราชีตั้งต่อเนื่อง สารหรือยาจะกระจายตัวในส่วนไขมัน (lipid matrix) โดยทั่วไปกระบวนการปลดปล่อยสารหรือยาจะอาศัยกระบวนการแพร่ และการสลายตัวของอนุภาค ไขมันที่เกิดในร่างกาย สำหรับเทคนิคการเตรียมด้วยระบบนำส่ง NLC เมื่อเตรียมด้วยย่างรูปแบบครีม เมื่อยู่ในระบบที่อุณหภูมิสูงและมีการระเหยของน้ำส่งผลต่อการปลดปล่อยสารสำคัญจากอนุภาคในอัตราสูงขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ พอลิเมอร์ที่ใช้เตรียมอนุภาค นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการปลดปล่อยสารสำคัญได้แก่ particle size, lipid matrix, surfactant, drug หรือ sample loading, drug or sample type ใน การศึกษาสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของอนุภาค NLC นั้นมีดังนี้

- ขนาดอนุภาค (Particle size)
- ค่าศักย์ชีต้า (Zeta potential)
- เทคนิค Scanning electron microscopy
- เทคนิค Transmission electron microscopy

- อัตราของ การกักเก็บสารหรือตัวยา (% drug หรือ sample entrapment efficiency)

$$\% \text{ EE} = W_a - W_s / W_a \times 100$$

โดยที่ EE คือ การกักเก็บสารหรือตัวยา (entrapment efficiency) W_a คือ ปริมาณสารหรือยาทั้งหมด และ W_s คือ ปริมาณสารหรือยาที่ไม่ถูกกักเก็บ

- เทคนิค Differential scanning calorimetry

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอน โดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พนได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนข่ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสียหาย ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (ดังสมการ)



อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen radical, อนุพันธุ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน), carbonate radical (CO_3^{\cdot}), nitrate radical (NO_3^{\cdot}), methyl radical (CH_3^{\cdot}), superoxide radical (O_2^{\cdot}), peroxy radical (ROO[·]), reactive oxygen species (ROS) เป็นต้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่ออ่อนไหวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการถูกพัง壊ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) เช่น ข้ออักเสบรวมด้วย เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอกซ์ รังสี gamma จาก輻射 เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากห่อไอเสีย เช่น ในครั้งของการปะทะกับภูมิคุ้มกัน (immune system) เช่น อาการแพ้ภูมิคุ้มกัน ภูมิคุ้มกันต่อต้านอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง ๆ กลับมาใช้อีก การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรวี่ยม ไนฟ์ หรือเกิด

จากการปั่งย่าง จากบานางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนนิซิลามิน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol)

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากหลายชนิดที่ทำหน้าที่แยกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ โดย R^{\cdot} และ RO^{\cdot} คืออนุมูลอิสระ และ AH คือสารต้านอนุมูลอิสระ



แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟิโนลิก ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ที่คงคลาวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์ที่มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามินและสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้โดยพลาซีม) vitamin E (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) และ glutathione (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ใช้โดยพลาซีมและเมมเบรน) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathionereductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและนำส่วนเอนไซม์ superoxid dismutase (SOD) สามารถเปลี่ยน O_2^- เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่น

ฯ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ (Phansawan, 2013)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination) วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลักวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลักวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการต่าง ๆ เช่น การทำให้เกิดสี การทำให้เกิดตะกอน ความสามารถของการละลายในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสาร polyphenol ชนิดต่าง ๆ (เช่น Shinoda test และ Pew test) โคมาราโนไฟแนนช์บาน (thin layer chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยมได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH⁻) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS⁺) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวช์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสงสารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น ABTS⁺ และ DPPH⁻ การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ (1) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และ (2) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC_{50} , 50 % of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขค่าตัวเลขค่าตัวเลขแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลายแบบ ได้แก่ $\mu\text{M}/\text{mg}$, mM/mg , $\mu\text{M}/\text{mL}$, mM/mL เป็นต้น ในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay ดังนี้

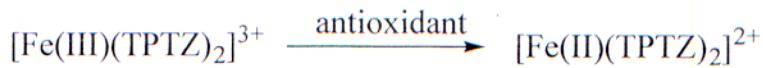
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH[·], diphenylpicrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุด โดยใช้เครื่องสเปกโฟโตเมตริกเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[·] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง (ดังสมการ) ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องดึงทิ้งไว้ที่มีคือเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการขันยังอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังนี้ โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง



$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s)/A_0] \times 100$$

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรลีอกซ์ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchclorman-2-carboxylic acid) และค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ $\mu\text{M}/\text{mg}$ ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือ DPPH[·] ก่อนข้างเสถียรไม่ไวด้วยต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรดีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจุրนกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้ เช่นกัน

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงช้อน $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ (ดังสมการ)



โดย $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ประมาณของ $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประเมินความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงชั้นอน $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ประกอบด้วย นำสารละลายน้ำ TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-stiazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายน้ำ acetate buffer และสารละลายน้ำเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทึ่งไว้ในที่มีค่า pH ที่ง่าย ใช้วลามือ ไม่แพ้ง และสามารถทำห้าແล๊วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสีย คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกาย และสารละลายน้ำที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำ ปราศจากไอออน (deionized water)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาการเตรียมสารสกัดที่เหมาะสมและมีคุณภาพดี
- เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บกักสารสกัดจากสาหร่ายคาในรูปแบบอนุภาคในมันระดับนาโน
- เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บกักสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบของอนุภาคในมันระดับนาโน และศึกษาอัตราเร็วและรูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดจากรูปแบบของอนุภาคในมันระดับนาโน
- เพื่อศึกษาสมบัติความคงตัวของอนุภาคในมันระดับนาโน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ เช่น ด้านวิชาการ ด้านนโยบาย ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์ ด้านสังคมและชุมชน รวมถึงการเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ด้านวิชาการ ก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่จากการวิจัยที่เป็นประโยชน์ต่อการนำผลิตภัณฑ์จากห้องถ่ายภาพเพิ่มมูลค่า เพื่อเป็นแนวทางเสริมรายได้แก่ครอบครัวและชุมชน ทั้งนี้องค์ความรู้ทักษะ และการพัฒนาที่ได้จากการวิจัยยังเป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำมาดัดแปลงให้เหมาะสมกับทรัพยากรธรรมชาติ สมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีคุณภาพในแต่ละห้องถ่าย เพื่อสร้างเอกลักษณ์ และจุดขายในแต่ละชุมชน

2. ด้านนโยบาย ด้านสังคมและชุมชน มุ่งเน้นการเผยแพร่องค์ความรู้สู่ชุมชนและสังคม เพื่อให้สามารถพัฒนาอย่างได้สอดคล้องกับประเทศไทยฯ พอกเพียงตามแนวพระราชดำริในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และแผนการพัฒนาประเทศด้านการเกษตรอย่างยั่งยืน และการพัฒนาสมุนไพรและสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อผลิตเครื่องสำอางและสปา

3. ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์ บริการและให้ความรู้แก่กลุ่มนักธุรกิจการผลิตในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม ธุรกิจสปา ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ ผลิตภัณฑ์การเกษตร ซึ่งเป็นธุรกิจที่มีตลาดผู้บริโภคขนาดใหญ่ทั้งในและต่างประเทศ และมีขยายตัวอย่างรวดเร็ว ดังนั้นองค์ความรู้จากงานวิจัยจึงสามารถพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ สร้างรายได้แก่ประเทศไทยได้เป็นอย่างดี และเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจแก่พืช สมุนไพร และทรัพยากรห้องถินของประเทศไทย และประชาคมอาเซียน ได้ในอนาคต

4. หน่วยงานที่จะนำไปใช้ประโยชน์ ภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สถาบันการศึกษา สถาบันวิจัยด้านสุขภาพ และหน่วยงานอื่น ๆ ที่สนใจ

การตรวจเอกสาร

ในการตรวจเอกสาร ได้รวบรวมและทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้องดังนี้

สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น กลุ่มสมุนไพร น้ำมันหอมระ夷 สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีมุขย์นำมาใช้ประโยชน์สืบต่อกันมานานเป็นภูมิปัญญาห้องถินที่ถ่ายทอดในครอบครัว สู่ชุมชนสืบเนื่องกันมา โดยนำมาเป็นอาหาร ยาหรือยาโภค เครื่องสำอาง โดยเฉพาะจากการคัดกรองคุณลักษณะพิเศษมากขึ้น ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาที่พบว่าประชากรของประเทศไทย รวมทั้งประเทศไทยในแถบยุโรป และอเมริกา ให้ความสนใจผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและสุขภาพที่ได้จากการธรรมชาติเป็นอย่างมาก ดังนั้นสารสกัดจากธรรมชาติที่นำมาผลิตเป็นเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สุขภาพจึงเป็นทางเลือกที่ดีเพื่อลดการใช้สารเคมี ที่อาจก่อให้เกิดโรคภัยได้จากการสะสมในร่างกายเป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามกลุ่มสมุนไพร หรือสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ที่จะนำมาใช้ในการนำมือดหรือนำมาเป็นองค์ประกอบในเครื่องสำอางนั้น การนำมาใช้มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก มักประสบปัญหาความคงตัวของสารสกัดหรือสารออกฤทธิ์ เช่น สารสกัด ไม่คงตัวเมื่อมีความชื้นและแสงหรือพบว่ามีกลิ่นที่ไม่น่าพึงประสงค์ ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้นำไปสู่แนวคิดการพัฒนาระบบนำส่งสารสำคัญที่จะช่วยลดปัญหา และลดขั้นตอนการผลิต แนวคิดและกระบวนการพัฒนาเหล่านี้เป็นการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้แก่สารสกัดและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ทั้งนี้ปัจจุบันอุตสาหกรรมด้านความงาม การผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตลอดจนอาหารเสริม พนวจมีการศึกษาวิจัยและนำสาหร่ายชนิดต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีทั้งสาหร่ายน้ำเขียว สาหร่ายสาหร่ายน้ำเงิน (microalgae) และสาหร่ายขนาดใหญ่ (macroalgae) ซึ่งเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สามารถนำมาพัฒนาต่อยอดด้านวิจัยสู่อุตสาหกรรมได้เป็นอย่างดี

สาหร่ายเตาหรือเท่านี้เป็นสาหร่ายสีเขียวพบเป็นสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ มีรายงานวิจัยการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น Junthip et al., 2013 ได้รายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายเตาด้วย ABTS assay และ DPPH assay ตลอดจนสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากสาหร่ายเตา และปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด ผลการวิจัยแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการนำ

สารสกัดมาพัฒนาต่ออยอดงานวิจัยได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้คณะผู้วิจัยของดวงพร ในปี 2555 ได้รายงานว่า ส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายเตา มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาคือการปกป้องการเกิดแพลงกระเพาะอาหาร ได้ โดยทดสอบในหนูขาวที่กระตุ้นให้เกิดแพลงกระเพาะอาหารจากความเครียดที่เกิดจากการถูกขังกรงและแข่น้ำ ในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดน้ำจากสาหร่ายเตา และพบว่า ไม่พนอาการผิดปกติของหนูขาวภายใน 14 วัน และตรวจไม่พนอาการผิดปกติของพยาธิสภาพของอวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายของหนูขาว ในปี 2009 Lailerd และคณะ ศึกษาวิจัยส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายเตา 1 กรัมพบว่ามีปริมาณโพลีฟินอล 78-100 มิลลิกรัม GAE เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก นอกจากนี้พบสารกรดกลุ่มคาร์บอนไฮเดรตและสารประกอบชั้ลเฟตเป็นองค์ประกอบ และจากการศึกษาพบว่าสารสกัดน้ำสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคส ลดไขมัน triglyceride, free fatty acids และเพิ่มระดับ HDL-C ในเลือดหนูขาวนานาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่า การให้สารสกัดสาหร่ายเตาแก่หนูขาวนานาหวานมีผลช่วยลดภาวะแทรกซ้อนของหัวใจและหลอดเลือดที่พนในนานาหวาน ได้ และสารสกัดน้ำของสาหร่ายเตามีรายงานถึงความสามารถในการลดภาวะแทรกซ้อนในไต (Ontawong *et al.*, 2012) นอกจากนี้สาหร่ายเตายังมีรายงานผลการศึกษาฤทธิ์ในการขับยั่งเชลล์มะเร็ง (Thumvijit *et al.*, 2010) ใน *Salmonella typhimurium* TA 98 เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจสารสกัดจากสาหร่ายเตา เนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย โดยเฉพาะจากผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามในการเพิ่มความคงตัวและคงสภาพของสารต้านอนุมูลอิสระจากปัจจัยภายนอกต่าง ๆ ทั้งจากความร้อน ความชื้น ออกซิเจน จึงได้นำเทคนิคการเตรียมตัวอย่างในรูปแบบอนุภาค ไนมันระดับนาโนมาประยุกต์ใช้ เพื่อเก็บสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเตา ตัวอย่างงานวิจัยการประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนไนมันเพื่อการกักเก็บสารสำคัญดังเช่น ยารักษาโรค กลุ่มเวชสำอางเพื่อเพิ่มความคงตัว ความชุ่มชื้น และภัยสัมผัส กลุ่มน้ำมันหอมระเหย กลุ่มสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ครีมกันแดด เป็นต้น มีดังนี้

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนไนมันกับยารักษาโรคทำให้สามารถนำส่งยาสู่อวัยวะเป้าหมาย ป้องกันการระคายเคืองแก่เนื้อเยื่อ และควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาในปริมาณที่เหมาะสมได้ คณะผู้วิจัยของ Mudshinge *et al.*, 2011 ได้ร่วมรายงานวิจัยที่นำเทคนิคการนำส่งยาแบบอนุภาคนาโนไนมันมาประยุกต์ใช้ เช่น การประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยยาแก้อักเสบ (Bhaskar *et al.*, 2009) นำมาใช้ปรับปรุงเพิ่มปริมาณการเก็บกักยาในกลุ่ม monostearin, caprylic และ capric triglycerides และศึกษาสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยตัวยา (Hu *et al.*, 2006) นอกจากนี้คณะวิจัยของ Venkateswarlu *et al.*, 2004 ได้พัฒนาความสามารถในการเข้ากัน ได้ของเนื้อเยื่อ โดยศึกษานิคของสารลดแรงตึงผิว ทั้งนี้ ส่วนใหญ่ยารักษาโรคจะละลายน้ำได้น้อย ละลายได้ในไนมัน ดังนั้น การนำระบบนำส่งยาในรูปแบบอนุภาคนาโนไนมันจึงเป็นเทคนิคที่ช่วยลดปัญหาได้ ทำให้ประสิทธิภาพการรักษาดีขึ้นและตรงตามเป้าหมาย อย่างไรก็ตามในกลุ่มยารักษาโรคที่ละลายได้

ในน้ำ เช่น ยาในกลุ่มอนุพันธ์ของแพลทินัมคือ oxaliplatin ที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งได้ดีกว่ายา cisplatin แต่ประสบปัญหาในการใช้รักษาในระดับคลินิก เมื่อมีการใช้ยาที่กับเซลล์มะเร็งโดยตรง ปริมาณยาที่เป็นสารออกฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งมีปริมาณลดลงจากปัญหาการซึมผ่านยาผ่านระบบเยื่อเมมเบรน ปัญหานี้คลุมวิจัยของ Qiu ในปี 2012 จึงนำเทคนิครูปแบบการเก็บกักยาในรูปแบบอนุภาคในมั่นระดับนาโนมาประยุกต์ใช้ในการนำส่งยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมั่นทางเวชสำอาง เป็นการเตรียมอนุภาคนาโนในมั่นให้อยู่ในรูปแบบที่ใช้ง่ายทางเวชสำอาง เช่น ครีม โลชั่นหรือเจล อาจทำได้โดยการเติมอนุภาคนาโนในมั่นลงในครีมหรือเจลที่เตรียมไว้ การใส่สารที่เหนี่ยวแนวน้ำให้เกิดความหนืด (viscosity enhancers) ลงในส่วนน้ำของอนุภาคนาโนในมั่นเพื่อให้เกิดเป็นเจล หรือเตรียมอนุภาคนาโนในมั่นโดยใช้ไข่มั่นในความเข้มข้นสูงจนทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมออกมามีลักษณะใกล้เคียงกับครีม (Pardeike *et al.*, 2009) Souto และคณะได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนในมั่นทั้งสองวิธีคือ solid lipid nanoparticle, SLN และ nanostructured lipid carriers, NLC และเจล 4 ชนิดที่ใช้เป็นตัวกลางในการกระจาย คือ xanthan gum, hydroxyethylcellulose 4000, carbopol 934 และ chitosan ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า คุณสมบัติของอนุภาคนาโนในมั่นมีผลต่อคุณสมบัติในการให้ผลของเจลแต่ละชนิด Shahgaldian และคณะ ศึกษาคุณสมบัติของ SLN ในเจลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ carbopol 980, carbopol 2020, hyaluronic acid และ xanthan gum โดยใช้เทคนิค atomic force microscopy และ photon correlation spectroscopy พบว่าการเตรียมอนุภาคนาโนในมั่น SLN สามารถกระจายตัวอยู่ภายในเจลโดยไม่เกิดการจับตัวกันหรือมีการจับตัวกันเพียงเล็กน้อย

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมั่นเพื่อเพิ่มความคงตัวทางเคมีแก่สารสำคัญที่กักเก็บ โดยอนุภาคนาโนในมั่นจะช่วยลดการสลายตัวของสารสำคัญที่ไวต่อแสง ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ได้ดังเช่น การศึกษาน้ำจืดที่มีผลต่อการเก็บกักน้ำมั่นกานพูลที่มีสมบัติด้านออกซิเดชัน โดยเตรียมในรูปแบบอนุภาคในมั่นแข็ง โดยวิธี solvent emulsification diffusion method โดยทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะของอนุภาคในมั่นแข็งที่เก็บกักน้ำมั่นพูล จากการศึกษาพบว่าเทคนิคนี้สามารถเก็บกักน้ำมั่นพูลได้สูงถึงร้อยละ 96.6 โดยปริมาณ โดยปริมาณตัวทำละลายคือ benzyl alcohol และ Tween 80 เป็นน้ำจืดหลักที่มีผลต่อค่าขนาดอนุภาคในมั่นแข็งและค่าสักข์ไฟฟ้าที่ผิวอย่างมีนัยสำคัญ (Satthanakul *et al.*, 2011) นอกจากนี้จากการศึกษาวิจัยของ Teeranachaideekul และคณะพบว่า การเตรียมอนุภาคนาโนในมั่นในรูป NLC สามารถเพิ่มความคงตัวของ ascorbyl palmitate ได้ นอกจากนี้ชนิดของในมั่นชนิดของสารลดแรงดึงดูด การเดินสารต้านการเกิดออกซิเดชันในขั้นตอนการผลิตและสภาวะในการเก็บ ล้วนมีผลต่อความคงตัวของ NLC ที่เตรียมได้

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมั่นเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นของผิวหนัง ขนาดอนุภาคที่เล็กของอนุภาคนาโนในมั่นทำให้ประสิทธิภาพการยึดติดผิวมีค่าสูงจึงนำไปสู่การสร้างฟิล์มน้ำผิวหนัง

เพื่อให้การระเหยของน้ำลดลง นำไปสู่การเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง (Pardeike *et al.*, 2009) ต่อมา มีการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการรักษาความชื้นบนผิวหนังของ NLC อิมัลชันและ liquid paraffin พบว่า NLC มีความสามารถในการรักษาความชื้นบนผิวหนังสูงกว่าอิมัลชันเมื่อมีปริมาณไขมันและขนาดอนุภาคเท่ากัน นอกจากนี้ยังพบว่า NLC มีความสามารถในการรักษาความชื้นบนผิวหนังเทียบเท่า liquid paraffin (Pardeike และ Müller, 2007)

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมันเพื่อลดการระคายเคืองจากสารสำคัญทางเวชสำอาง โดยพบว่าสารกันแผลบางชนิด เช่น เบนโซเฟโนน (benzophenone) และ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide) อาจชื่นสู่ผิวหนังทำให้เกิดการระคายเคืองหรือเกิดการแพ้ (Müller *et al.*, 2002) คณะผู้วิจัย Wissing และ Müller ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ SLN และ o/w emulsion ในการนำส่ง oxybenzone ซึ่งเป็นสารกันแผลผ่านผิวหนัง ผลการศึกษาพบว่า SLN ให้การปลดปล่อย oxybenzone ที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับ o/w emulsion นอกจากนี้ SLN ยังให้ปริมาณและอัตราการซึมผ่านผิวที่ต่ำกว่า

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมันในการป้องกันรังสียูวี จากการที่ SLN มีคุณสมบัติในการป้องกันรังสียูวี ในปี 2001 Wising และ Müller ได้ศึกษาสารกันแดดรูปแบบใหม่โดยการบรรจุ tocopherol acetate ลงใน SLN เพื่อเพิ่มความคงตัวทางเคมีและเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันรังสียูวี จากการศึกษาพบว่า SLN เปลา (placebo SLN) และ tocopherol acetate ที่เตريย์ในรูปแบบ SLN มีประสิทธิภาพในการป้องกันรังสียูวีที่สูงกว่า tocopherol acetate ในรูปแบบอิมัลชัน นอกจากนี้ยังพบว่า SLN ที่มี tocopherol acetate มีประสิทธิภาพในการป้องกันรังสียูวีที่สูงกว่า SLN เปลา ซึ่งเกิดจากการเสริมฤทธิ์ในการป้องกันรังสียูวีของ tocopherol acetate

การประยุกต์ใช้ออนุภาคนาโนในมันเพื่อเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนัง ขนาดที่เล็กของอนุภาคนาโนในมันทำให้สามารถสัมผัสกับ stratum corneum ได้อย่างใกล้ชิดจึงช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนังได้ (Souto *et al.*, 2004) ในปี 2007 Pardeike และ Müller ศึกษาการเพิ่มการดูดซึมผ่านผิวหนังของ Coenzyme Q10 ที่บรรจุใน NLC เปรียบเทียบกับ Coenzyme Q10 ในรูปแบบอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และในรูปแบบสารละลายใน liquid paraffin โดยใช้การทดสอบ tape-stripping จากการศึกษาพบว่า NLC สามารถเพิ่มการดูดซึมของ Coenzyme Q10 เมื่อเปรียบเทียบกับ Coenzyme Q10 ในรูปแบบอิมัลชันและในรูปแบบสารละลายใน liquid paraffin

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาและพัฒนากระบวนการเตรียมสารสกัดที่มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเตาในรูป NLC เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มการดูดซึมของสารต้านอนุมูลอิสระผ่านผิวหนัง เนื่องจากขนาดที่เล็กของอนุภาคนาโนในมันทำให้สามารถสัมผัสกับ stratum corneum ได้อย่างใกล้ชิดจึงช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนังได้ ตลอดจนสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระได้

อย่างมีประสิทธิภาพ องค์ความรู้ใหม่จากการวิจัยนี้มุ่งหวังที่จะถ่ายทอดและเผยแพร่แก่ผู้สนใจเพื่อนำไปประยุกต์ในอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะดำเนินการผลิตเครื่องสำอางค่อไป

สถานที่ดำเนินการวิจัย สารเคมีและอุปกรณ์ วิธีการวิจัย

สถานที่ดำเนินการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ห้องปฏิบัติการโรคพืช หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวารកษาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และห้องปฏิบัติการ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ห้องปฏิบัติการอาหารมหาวิทยาลัยชั้น 15 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

สารเคมี สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยเป็น AR grade จากบริษัท Merck, Fluka และ Aldrich เป็นต้น เช่น

1. Compritol® 888 AOT
2. Gelucire 44/14
3. Olive oil
4. Oleic acid
5. Lexol (Medium chain triglyceride)
6. Isopropyl palmitate (IPP)
7. Isopropyl myristate (IPM)
8. Pluronic F-68
9. Lipoïd S75
10. Stearic acid
11. Glyceryl Monostearate
12. Cetyl alcohol
13. Propyl paraben
14. Methyl paraben
15. Tween 80
16. Span 80
17. Methanol (HPLC grade)

สารเคมี (ต่อเนื่อง)

18. Ethanol
19. Mannitol
20. Poloxamer 188 (Polyoxyethylene – polyoxypropylene copolymer)
21. Glacial acetic acid (AR grade)

22. สารเคมีอื่น ๆ

อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. Hot plate
2. Water bath
3. Beaker
4. Stirring rod
5. Dropper
6. Cylinder
7. Thermometer
8. เครื่องชั่ง (electronic analytical balance)
9. ขวดเป้ม
10. Universal Indicator pH 1-11
11. เครื่องวัดความหนืด
12. UV Detector
13. ตู้อบ และตู้เย็น
14. เครื่องวัดสภาพผิว Skin visiometer
15. เครื่อง Sprey dryer
16. Corneometer (Skin Hydration Single Continuous Measurement)
17. Homogenizer
18. Vortex
19. High speed blender
20. Ultrasonic bath และ Centrifugation
21. Dynamic light scattering, Transmission electron microscopy (TEM)

และอุปกรณ์อื่น ๆ

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมสาหร่ายเตา

เก็บสาหร่ายเตาสดจากบ้านนาคุหา ดำเนินสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ และนำมาพิสูจน์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา นำสาหร่ายเตาสดที่เก็บได้มามาถังด้วยน้ำกลันจนสะอาด จากนั้นนำมาผึ่งในที่ร่มให้หมาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50°C จนแห้ง จากนั้นเก็บสาหร่ายแห้งไว้ที่แห้งและเย็นในถุงพลาสติกปิดสนิท

2. การเตรียมสารสกัดสาหร่ายเตา

แบบที่ 1 นำสาหร่ายเตาแห้ง 100 กรัม เติมน้ำกลัน 1 ลิตร นำเข้าเครื่อง sonicator โดยใช้คลื่นความถี่ 40 KHz นาน 30 นาทีและแช่ทึ่งไว้อีก 24 ชั่วโมง กรองสารละลายที่ได้และนำภาชนะมาเติมน้ำกลัน 500 มิลลิลิตรอีก 1 ครั้งนำไป sonicate 15 นาทีและแช่ทึ่งไว้อีก 24 ชั่วโมง รวมรวมสารละลายที่ได้นำมาระเหยดด้วย rotary evaporator เพื่อให้ได้สารสกัดที่เข้มข้นจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer จะได้สารสกัดสาหร่ายเตา (aqueous extract) เรียกสารสกัดน้ำ

แบบที่ 2 นำสาหร่ายเตาแห้ง 100 กรัม เติมน้ำกลัน 1 ลิตร นำเข้าเครื่อง sonicator โดยใช้คลื่นความถี่ 40 KHz นาน 30 นาทีและนำมาสกัดด้วยน้ำร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhlet apparatus 3 ชั่วโมง กรองสารละลายที่ได้ รวมรวมสารละลายที่ได้นำมาระเหยดด้วย rotary evaporator เพื่อให้ได้สารสกัดที่เข้มข้นจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer จะได้สารสกัดสาหร่ายเตา (hot aqueous extract) เรียกสารสกัดน้ำร้อน

แบบที่ 3 นำสาหร่ายเตาแห้ง 100 กรัม เติมเอทานอล 1 ลิตร นำเข้าเครื่อง sonicator โดยใช้คลื่นความถี่ 40 KHz นาน 30 นาทีและนำมาสกัดด้วยอุปกรณ์ soxhlet apparatus 3 ชั่วโมง กรองสารละลายที่ได้ รวมรวมสารละลายที่ได้นำมาระเหยดด้วย rotary evaporator เพื่อให้ได้สารสกัดที่เข้มข้นจากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer จะได้สารสกัดสาหร่ายเตาเรียกว่าสารสกัดเอทานอล (ethanolic extract)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเตาทั้งสามชนิดด้วย DPPH assay, FRAP assay และ total antioxidant เป็นต้น (Kannan *et al.*, 2010)

3.1 วิธี DPPH assay

เทคนิค 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) radical scavenging activity มีวิธีการดังนี้ นำสารสกัดที่ต้องการทดสอบ 2 ml ผสมกับ 2 ml ของสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.16 mM ที่ละลายเมทานอล ผสมให้เข้ากันด้วย vortex 1 นาทีและตั้งทึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีและที่มีดและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Yen *et al.*, 1995) ทดลองด้วยวิธีการ

เช่นเดียวกับกับ positive control ที่เป็นสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ กรดแกลลิก (gallic acid) และ กรดแอสคอบิก (ascorbic acid) จากนั้นคำนวณค่า % inhibition จากสมการ

$$\% Inhibition = \left(\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \right) \times 100$$

A_{blank} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม เช่น blank;

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัด

3.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay หรือ FRAP assay

นำสารสกัดที่ทดสอบ 1 ml ผสมกับ 2.5 ml phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) และ 2.5 ml potassium ferricyanide 1% นำส่วนผสม incubate ที่ 50 องศาเซลเซียส 20 นาที จากนั้นนำมาเติม trichloroacetic acid 10% และนำไปปั่นให้เขียว (650g) 10 นาที เก็บสารละลายน้ำหนักปริมาณ 2.5 ml นำมาผสมกับน้ำกลั่น 2.5 ml และ 0.5 ml ferric chloride 0.1% และนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร โดยใช้ ascorbic acid เป็น positive control ค่า FRAP แสดงในหน่วย มิลลิกรัมสมนูล gallic acid ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg gallic acid equivalents per gram of sample on a dry weight (DW) (Oyaizu., 1986)

3.3 ค่า total antioxidant activity

นำสารสกัดความเข้มข้น 0.1 mg/ml ปริมาณ 0.3 ml ผสมกับ 3.0 ml ของเรอเจนที่ประกอบด้วย 0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, 4 mM ammonium molybdate ตามลำดับ นำส่วนผสมทึ่งหมุด incubate ที่ 95 องศาเซลเซียส 90 นาที ใน water bath และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ค่า total antioxidant activity แสดงถึงปริมาณ equivalent ของ ascorbic acid โดยเทรียมกราฟมาตรฐานของ ascorbic acid และคำนวณค่า total antioxidant activity เปรียบเทียบกับ ascorbic acid ทำให้แสดงค่า total antioxidant activity ในหน่วย มิลลิกรัมสมนูลกรดแอสคอบิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg ascorbic acid equivalents per gram of sample on a dry weight (DW) (Prieto *et al.*, 1999)

4. การเตรียมอนุภาคไบมันระดับนาโน

เตรียมสารสกัดสาหร่ายเตาในรูปแบบอนุภาคไบมันแข็งขนาดนาโน โดยวิธี hot melt microemulsion โดยมีวิธีเตรียมดังนี้

1. หั่งส่วนประกอบของวัสดุขนาดน้ำสีน้ำเงินขนาด 25 ml ให้ความร้อนบน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส

วัสดุภาคน้ำ ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว Poloxamer 188 สารลดแรงตึงผิวรวม Compritol® 888 AOT สารสกัด และน้ำ Deionized (DI) เป็นต้น

2. ชั้งส่วนประกอบของวัสดุภาคน้ำมันใส่บีกเกอร์ขนาด 25 ml นำมาให้ความร้อนบน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส

วัสดุภาคน้ำมันประกอบด้วย Glyceryl monostearate, Glyceryl behenate, Gelucire 44/14, Oil (lexol, oleic acid, olive oil, IPP, IPM), Lipoid S75, ethanol เป็นต้น

3. เทวัสดุภาคน้ำลงในวัสดุภาคน้ำมันเป็นสายช้า ๆ บน water bath คนตลอดเวลาจนเกิดเป็น hot microemulsion

4. เท hot microemulsion ที่เตรียมได้จากข้อ 3 ลงใน 0.1 % stabilizing agent 200 ml (4 องศาเซลเซียส) ที่ปั่นรоторไว้ด้วย High speed homogenizer ด้วยความเร็ว 9500 rpm/min เป็นเวลา 30 นาที

5. ลดปริมาตรน้ำด้วยกระบวนการ ultrafiltration และถังด้วยน้ำ DI 2 ครั้ง ครั้งละ ประมาณ 10-20 ml จนกระทั่งปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 50 ml

6.เติม Manitol 3 % w/v ลงในสารละลายที่ลดปริมาตรแล้ว

7. นำไป Freeze-dry ที่อุณหภูมิ -55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

8. ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ในขั้นตอนการเตรียมได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ในกระบวนการเตรียมดังนี้คือ

- ชนิดของไขมันเหลา; lexol, oleic acid, olive oil, IPP, IPM เป็นต้น

- ปริมาณของไขมันแข็ง (glyceryl monostearate, glyceryl behenate, gelucire 44/14) คิด

เป็นร้อยละ โดยน้ำหนักคือ 10, 15, 20, 30 ตามลำดับ

- ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (lipoid s75) คิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนักคือ 3.5, 5.5, 7.0

ตามลำดับ

- ปริมาณของสารสกัดจากสาหร่ายคิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนักคือ 0.3, 0.5, 0.7

ตามลำดับ

5. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไขมันระดับนาโน

5.1 ศึกษาขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคด้วยเครื่อง

Dynamic Light Scattering (DLS)

5.2 ศึกษารูปร่าง ลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคด้วยเครื่อง Transmission Electron

Microscopy (TEM)

6. การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บกักสารสกัดจากสาหร่ายเดาในอนุภาคไขมันระดับนาโน

ชั่งตัวอย่าง NLC แต่ละชนิดที่ลดปริมาตรแล้ว 1 มิลลิลิตร ลงใน ultracentrifuge tube นำไปปั่นให้เยิ่งด้วยเครื่อง centrifugation ที่ 80,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ปีเปตส่วนไสออก 0.5 มิลลิลิตร เดินน้ำลงไปอีก 0.5 มิลลิลิตร และนำໄไป centrifuge ที่ 80,000 rpm 30 นาที (คือการถังครั้งที่ 1) และล้างทั้งหมด 2 ครั้ง ครั้งสุดท้าย ปีเปตส่วนไสทึ่งทั้งหมด ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วย ethanol จากนั้นนำไป vortex และ sonicate อย่างละ 1 นาที และนำໄไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารสกัดด้วยเทคนิค HPLC แล้ววิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดเทียบกับสารมาตรฐานโดยคำนวณจาก standard curve ที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.1-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณค่าประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวสารสกัดจากสมการต่อไปนี้คือ

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บ (\%)} = [C_t / C_s] \times 100\%$$

เมื่อ C_t คือ ความเข้มข้นที่ได้

C_s คือ ความเข้มข้นเริ่มต้น

7. การศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดจากอนุภาคน้ำใน

ศึกษาการปลดปล่อยสารสกัดในหลอดทดลอง ด้วย vertical Franz diffusion cell โดยใช้ cellulose acetate membrane โดยแบ่ง membrane ในน้ำกลั่น ไว้ 12 ชั่วโมง ก่อนที่จะประกอบเข้ากับ vertical Franz diffusion cell โดย medium ที่ใช้ คือ ethanol กับ acetate buffer (pH 5.5) ในอัตราส่วน 50:50 เมื่อเตรียมเสร็จแล้วให้ตั้งทิ่งไว้ 15 นาที เพื่อให้เกิดความสมดุล จากนั้นชั่งตัวอย่างอนุภาคน้ำในมันที่เก็บกักสารสกัด 50 มิลลิกรัม ทางบนผิวน้ำ membrane สูมตัวอย่างสารละลายน้ำ 0.5 มิลลิลิตร ที่เวลา 15, 30, นาที 1, 3, 5, 7, 9 และ 12 ชั่วโมง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างจะเติม medium 0.5 มิลลิลิตร กลับลงใน receptor chamber นำตัวอย่างที่สูมได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดด้วย HPLC

8. การศึกษาความคงตัวทางกายภาพ และเคมีของครีมทาผิว

ตั้งครีมทาผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดทั้งสามชนิด หรือสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาคน้ำ โดยอ้างอิงวิธีการเตรียมครีมเพื่อเป็นเครื่องสำอางจากการตั้งครีมจากสมูนไฟฟายาชนิด (Nair *et al.*, 2009, Ahshawat *et al.*, 2008, Aburjai *et al.*, 2003, Sahu *et al.*, 2011) ศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของครีมทาผิวที่เตรียมได้ที่สภาพแวดล้อม heat cool cycle โดยชั่งน้ำหนักแต่ละสภาพการทดลอง 10 กรัม ใส่ลงในขวด ปิดฝาให้สนิท และเก็บให้พื้นแสง จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำซ้ำเดียวกันนี้ 6 รอบ แล้วทำการประเมินความคงตัวทางกายภาพและความคงตัวทางเคมีในหัวข้อต่อไปนี้

ประเมินความคงตัวทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น โดยใช้การสังเกตด้วยสายตา (visual observe) และวัดความหนืดด้วยเครื่องมือ Rheometer

ประเมินความคงตัวทางเคมี เช่น การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างหรือค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวัดปริมาณของสารสกัดที่เหลืออยู่ด้วยเทคนิค HPLC

ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดสาหร่ายเตา

ในการสกัดสารสกัดจากสาหร่ายเตาโดยใช้เทคนิคร่วมได้แก่ การ sonicate และนำไปหมักด้วยตัวทำละลายน้ำหรือเอทานอล และการ sonicate ก่อนนำไปสกัดอย่างต่อเนื่องด้วยชุดอุปกรณ์ soxhlet ทำให้ได้ตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายเตา 3 รูปแบบได้แก่ สารสกัดน้ำ (ในรายงานต่อจากนี้เรียกว่าสารสกัด A) สารสกัดน้ำร้อน (ในรายงานต่อจากนี้เรียกว่าสารสกัด B) และสารสกัดเอทานอล (ในรายงานต่อจากนี้เรียกว่าสารสกัด C) ลักษณะสารสกัดทั้งสามรูปแบบและปริมาณผลิตภัณฑ์แสดงดังตารางที่ 1 และภาพที่ 2

ตารางที่ 1 ลักษณะสารสกัดและปริมาณสารสกัดสาหร่ายเตา

ชนิด	ลักษณะ	เบอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ (% yield)
สารสกัด A	ผงสีเขียวเข้ม	48.12
สารสกัด B	ผงสีเขียวเข้ม	51.05
สารสกัด C	ผงสีเขียวเข้ม	58.12

ลักษณะของสารสกัดทั้งสามชนิด มีลักษณะสี เนื้อผงคล้ายคลึงกันเมื่อผ่านกระบวนการ lyophilized โดยมีลักษณะเป็นผงสีเขียวเข้มดังแสดงในภาพที่ 2 แสดงเฉพาะลักษณะของสารสกัด C



ภาพที่ 2 ลักษณะสารสกัด C ผงสีเขียวเข้ม

2. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ในการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 เทคนิค คือ DPPH assay และเทคนิค FRAP assay รวมถึงศึกษาค่า total antioxidant activity ของสารสกัด A B และ C ข้อมูลผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า Total antioxidant activity, DPPH assay และ FRAP assay ของสารสกัดสาหร่ายเตา 3 ชนิด (^aMean ± ^bSD)

ชนิดสาร	Total antioxidant activity (mg ascorbic acid)	DPPH assay (%)	FRAP assay (mg gallic acid/g)
สาร A	11.770 ± 0.026	26.760 ± 0.040	13.060 ± 0.073
สาร B	12.770 ± 0.026	29.250 ± 0.020	17.520 ± 0.018
สาร C	15.532 ± 0.026	35.750 ± 0.035	24.770 ± 0.084
Ascorbic acid	NA ^c	57.030 ± 0.030	122.880 ± 1.535
Gallic acid	NA ^c	55.670 ± 0.020	NA ^c

^aNA คือ not-analyzed ไม่ได้วิเคราะห์ ^bMean คือ ค่าเฉลี่ยจากผลการวิเคราะห์สามครั้ง และ ^bSD คือ standard deviation ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

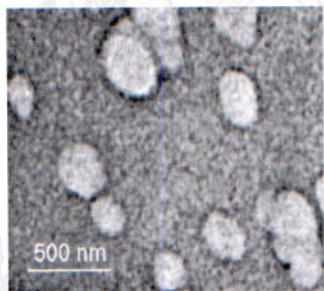
ผลการวิเคราะห์ค่า total antioxidant activity พบร่วมสารสกัด C ให้ค่า total antioxidant activity สูงที่สุดที่ 15.53 mg ascorbic acid มากกว่าในสารสกัด A และ B ตามลำดับ ในท่านองเดียวกันในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 2 ชนิดคือ ascorbic acid และ gallic acid ผลการวิเคราะห์พบว่าสาร C ให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดถึง 35.75 % และมีค่าสูงกว่าสารสกัด A และ B ตามลำดับ แต่พบว่าน้อยกว่าสารมาตรฐานทั้งสอง คือ ascorbic acid (DPPH assay = 57.03%) และ gallic acid (DPPH assay = 55.67%) เนื่องเดียวกันในการวิเคราะห์ความสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค FRAP assay โดยมี ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัด C ให้ค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระที่ 24.77 mg gallic acid/g มีค่าสูงกว่าสาร A (FRAP assay = 13.06 mg gallic acid/g) และ B (FRAP assay = 17.52 mg gallic acid/g) แต่ยังน้อยกว่าผลการวิเคราะห์ในสารมาตรฐาน ascorbic acid (FRAP assay = 122.88 mg gallic acid/g)

ดังนั้นจากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay, FRAP assay และวัดค่า total antioxidant activity พบร่วมสารสกัด C มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด A และ B ทั้งนี้กระบวนการสกัดสารจากสาหร่ายมีผลโดยตรงต่อปริมาณและคุณภาพของสารสกัดหลาย โดยที่สารสกัด A และ B เป็นสารสกัดที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยการ sonicate และสกัดต่อด้วยตัวทำละลายคือน้ำผ่านการหมักหรือการสกัดอย่างต่อเนื่องด้วย soxhelt ขณะที่สารสกัด C ซึ่งเตรียมจากวิธีการ sonicate และนำไปสกัดอย่าง

ต่อเนื่องด้วยความร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhelt โดยมีอุปทานอลเป็นตัวทำละลาย ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า การสกัดอย่างต่อเนื่องด้วยความร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhelt ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม และสามารถลดลงสารสำคัญที่มีข้าวและไม่มีข้าวในตัวอย่างสกัดได้ดีจะช่วยเสริมประสิทธิภาพการสกัดสารสำคัญจากตัวอย่างได้มากขึ้น

3. การเตรียมอนุภาคในมันระดับนาโน

สารสกัด A, B และ C นำมาเตรียมอนุภาคในมันระดับนาโน โดยเรียกชื่อสารสกัด A, B และ C ที่เตรียมในรูปแบบอนุภาคในมันระดับนาโนแต่ละชนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ตามลำดับ ในกระบวนการการเตรียมนั้นเลือกใช้ lexol เป็น liquid lipid และใช้ส่วนในมันแข็งคือ glyceryl monostearate, glyceryl behenate, gelucire 44.14 สัดส่วนเท่ากันที่ 20 % w/w สารสกัด 0.5% (w/w) และสารลดแรงตึงผิวคือ lipoid S75 7% (w/w) ตัวอย่างสัมฐานของอนุภาคที่ศึกษาด้วยเครื่องมือ TEM ของ C-NLC แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายด้วยเทคนิค Transmission electron microscopy ของอนุภาค C-NLC

(Chimsook, T., 2014)

ในการศึกษาลักษณะทางสัมฐานวิทยาของผลึกโดยเตรียมในรูปแบบอนุภาคในมันระดับนาโนของ A-NLC, B-NLC และ C-NLC และนำมาวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย (mean diameter, nm) ค่า polydispersity index (PI value) และค่า zeta potential ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 3

ผลการวัดขนาดอนุภาคพบว่ามีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 115-120 nm (ตารางที่ 3) ค่าการกระจายอนุภาคอยู่ในช่วง 0.150-0.165 และประจุบนผิวอนุภาคมีค่าเฉลี่ย -18.5 ถึง -24 mV ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความคงตัวของตัวรับ โดยทั่วไปพบว่าปัจจัยในการเตรียมอนุภาคที่ทำการศึกษามีผลต่อค่าประจุบนผิวอนุภาค แต่มีผลต่อขนาดและการกระจายอนุภาค ปัจจัยในการเตรียมที่มีผลต่อขนาดอนุภาคได้แก่ ปริมาณของไขมันแข็งในตัวรับ ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว และปริมาณของสารสกัดอย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของไขมันเหลวไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ย

ตารางที่ 3 ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย หรือ mean diameter (หน่วย nm) ค่าการกระจายอนุภาคหรือ polydispersity index (PI) และค่าประจุบันผิวอนุภาค หรือ zeta potential (หน่วย mV) ของ A-NLC, B-NLC และ C-NLC แสดงด้วยค่า Mean \pm SD

ตัวอย่าง	mean diameter (nm)	PI	zeta potential (mV)
A-NLC	117.8 \pm 0.2	0.158 \pm 0.04	-19.1 \pm 0.3
B-NLC	118.3 \pm 2.3	0.160 \pm 0.03	-21.1 \pm 1.3
C-NLC	119.3 \pm 2.5	0.162 \pm 0.016	-23.4 \pm 4.3

4. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคไขมันระดับ nano

4.1 การศึกษาขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาคและประจุบันผิวอนุภาค

ในการศึกษาขนาดอนุภาค การกระจายขนาดอนุภาคและประจุบันผิวอนุภาคด้วยเครื่อง Dynamic Light Scattering (DLS) นี้เป็นการทดสอบการปกคลุมผิวของอนุภาค ไขมันแข็ง nano โดยแสดงเป็นค่าการปกคลุม (occlusion factor, F) ของ NLC dispersion โดยทดสอบด้วยการเพิ่มปริมาณไขมันแข็งทึบหมุดจาก 10%, 15%, 20% และ 30% (w/w) ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบผลการปกคลุมระหว่างที่เวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ของอนุภาค ไขมันแข็ง A-NLC, B-NLC, C-NLC ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1-4.3

ตารางที่ 4.1 ค่าการปกคลุมผิว (F) ของอนุภาค ไขมันแข็ง A-NLC

ไขมัน	ค่า F									
	3 ชั่วโมง					6 ชั่วโมง				
	1	2	3	เฉลี่ย	SD	1	2	3	เฉลี่ย	SD
10%	17.10	17.34	18.25	17.56	2.44	20.15	21.89	21.66	21.23	3.13
15%	24.50	25.39	26.11	25.33	4.07	30.11	32.33	32.57	31.67	3.17
20%	38.91	38.24	37.94	38.36	5.12	43.17	43.89	41.30	42.79	3.44
30%	47.14	43.26	43.88	44.76	3.33	49.13	52.28	50.11	50.51	5.14

ตารางที่ 4.2 ค่าการปักคลุมผิว (*F*) ของอนุภาคไนมันแข็ง B-NLC

ไนมัน	ค่า <i>F</i>									
	3 ชั่วโมง					6 ชั่วโมง				
	1	2	3	เฉลี่ย	SD	1	2	3	เฉลี่ย	SD
10%	19.11	19.33	20.41	19.61	0.33	22.05	23.79	21.43	22.42	1.43
15%	25.45	27.45	28.87	27.25	2.13	31.11	33.44	32.00	32.18	5.78
20%	40.62	39.16	40.50	40.09	5.22	44.33	44.09	46.14	44.85	4.12
30%	49.22	50.87	50.43	50.17	4.11	55.39	56.81	55.42	55.87	3.33

ตารางที่ 4.3 ค่าการปักคลุมผิว (*F*) ของอนุภาคไนมันแข็ง C-NLC

ไนมัน	ค่า <i>F</i>									
	3 ชั่วโมง					6 ชั่วโมง				
	1	2	3	เฉลี่ย	SD	1	2	3	เฉลี่ย	SD
10%	20.12	19.11	21.15	20.13	1.54	22.25	21.89	21.56	21.90	0.23
15%	28.45	27.49	28.31	28.08	1.03	37.11	36.14	37.46	36.90	2.14
20%	43.22	44.14	44.00	43.78	2.12	48.22	50.78	49.33	49.44	3.34
30%	55.14	55.26	53.65	54.68	2.23	59.88	62.40	61.91	61.40	1.74

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไนมันที่เป็นของแข็งจาก 10% ถึง 30% (w/w) นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปักคลุม (*F*) ผลการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ด้วยความสามารถของอนุภาคไนมันแข็งขนาดนาโนในการยึดติดผิวที่ดี (adhesiveness) เนื่องจากประสิทธิภาพในการยึดติดผิวนี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามขนาดของอนุภาคที่เล็กลง (Wissing *et al.*, 2001) การยึดติดผิวของอนุภาคไนมันแข็งขนาดนาโนนี้นำไปสู่การสร้างฟิล์มเนื้องจากอนุภาคไนมันแข็งขนาดนาโนมีช่องว่างระหว่างอนุภาคที่แคนบขนาดแคปิลารี (capillary) ทำให้เกิดแรงแคปิลารี (capillary forces) ซึ่งจะส่งเสริมให้เกิดฟิล์มที่มีความหนา (Pardeike *et al.*, 2007) ทำให้การระเหยของน้ำลดลง และทำให้เกิดผลของการปักคลุมผิว (occlusion effect) ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของอนุภาคของไนมันเพิ่มขึ้นก็ส่งผลให้เกิดการปักคลุมผิวที่มากขึ้นด้วย ซึ่งอาจมาจากการพกรุนหรือความหนาของชั้นฟิล์ม

นอกจากนี้ค่าการปักคลุมยังขึ้นอยู่กับเวลา หากเปรียบเทียบผลการปักคลุมระหว่างที่เวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง พบร่วมกันว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปักคลุม ตามลำดับ

4.2 การศึกษาปริมาณของสารลดแรงตึงผิว

ในการศึกษาปริมาณของสารลดแรงตึงผิวคือ lipoid s75 ที่มีผลต่อนาดของอนุภาค ค่า PI และค่า zeta potential ของอนุภาคที่เตรียมได้ โดยกำหนดให้รอยละของ lipoid S75 โดยน้ำหนักได้แก่ 3.5, 5.5, 7.0 (% w/w) ตามลำดับ ทำการทดสอบในอนุภาคทั้งสามชนิด ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 5.1 พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของอนุภาคทั้งสามชนิดให้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกัน เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีสัดส่วนโดยน้ำหนักสูงขึ้นส่งผลต่อนาดอนุภาคเฉลี่ยที่มีแนวโน้มลดลงด้วยเหตุผลเบื้องต้นคือ ขยะการเกิดอนุภาคสารลดแรงตึงผิวที่มีสัดส่วนมากขึ้นจะช่วยลดแรงตึงผิวมากขึ้นด้วย ทำให้ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดเล็กลงและค่าการกระจายของอนุภาคทั้งสามชนิดมีแนวโน้มลดลงเข่นกัน สำหรับค่า zeta potential ของอนุภาคทั้งสามชนิดพบว่ามีแนวโน้มสูงมากขึ้น

ตารางที่ 5.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค A-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) และค่าวายค่า Mean \pm SD

สารลดแรงตึงผิว (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
3.5	127.01 \pm 0.20	0.161 \pm 0.01	-23.21 \pm 0.11
5.5	123.04 \pm 0.33	0.157 \pm 0.20	-21.05 \pm 0.33
7.0	118.10 \pm 0.51	0.157 \pm 0.33	-20.10 \pm 0.23

ตารางที่ 5.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค B-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) และค่าวายค่า Mean \pm SD

สารลดแรงตึงผิว (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
3.5	128.2 \pm 0.14	0.162 \pm 0.02	-23.00 \pm 0.13
5.5	122.4 \pm 2.1	0.159 \pm 0.16	-22.05 \pm 0.03
7.0	118.3 \pm 0.24	0.160 \pm 0.20	-21.10 \pm 0.55

ตารางที่ 5.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอนุภาค C-NLC โดยแสดงการวิเคราะห์ค่าส่วนผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) แสดงด้วยค่า Mean \pm SD

สารลดแรงตึงผิว (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
3.5	127.4 \pm 0.11	0.164 \pm 0.01	-24.80 \pm 0.33
5.5	124.1 \pm 0.16	0.163 \pm 0.11	-24.01 \pm 0.43
7.0	119.2 \pm 0.04	0.162 \pm 0.05	-23.41 \pm 0.02

4.3 การศึกษาปริมาณของสารสกัดจากสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค

ในการศึกษาปริมาณของสารสกัดจากสาหร่ายในการเตรียมอนุภาคห้องสามานชนิดโดยมีปริมาณสารสกัดที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคแตกต่างกัน 3 สัดส่วน คือ ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายคิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนักเท่ากัน 0.3, 0.5 และ 0.7 (%w/w) ตามลำดับ ทดสอบโดยเตรียมอนุภาคห้องสามานชนิดด้วยสารสกัดที่มีร้อยละ โดยน้ำหนักต่างกัน คือ 0.3, 0.5, และ 0.7 (%w/w) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6.1-6.3 โดยพบว่าเมื่อใช้ปริมาณสารสกัดที่สูงขึ้น ส่งผลต่อขนาดอนุภาคที่ใหญ่มากขึ้น ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวให้ผลที่สอดคล้องกันในการเตรียมอนุภาคห้องสามานชนิด ปัจจัยที่ส่งผลต่อขนาดอนุภาคที่ใหญ่มากขึ้นอาจเนื่องจากเมื่อเกิดเป็นอนุภาคปริมาณสารสกัดที่มากขึ้น ส่วนหนึ่งถูกเก็บกักกระหายตัวภายในอนุภาค และอีกส่วนหนึ่งจับตัวบริเวณภายนอกพื้นผิวอนุภาค ดังนั้นเมื่อสัดส่วนสารสกัดมีมากขึ้น จึงส่งผลต่อขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นตามลำดับ ในส่วนของค่า PI พบนิ่วค่าอยู่ระหว่าง 0.155-0.162 โดยมีแนวโน้มสูงมากขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้นจากสัดส่วนน้ำหนัก 0.3, 0.5, และ 0.7 (%w/w) ตามลำดับ ขณะที่ค่า zeta potential ของอนุภาคห้องสามานชนิดมีแนวโน้มสูงขึ้นเช่นกันเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดเป็นไปในทิศทางเดียวกับค่า PI ดังกล่าว

ตารางที่ 6.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค A-NLC โดยวิเคราะห์ส่วนผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ A-NLC แสดงด้วยค่า Mean \pm SD

ปริมาณสารสกัดสาหร่าย (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
0.3	114.3 \pm 0.11	0.155 \pm 0.01	-21.1 \pm 0.04

ตารางที่ 6.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค A-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ A-NLC แสดงด้วยค่า Mean \pm SD (ต่อเนื่อง)

ปริมาณสารสกัดสาหร่าย (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
0.5	117.5 \pm 0.01	0.158 \pm 0.33	-19.4 \pm 0.15
0.7	121.4 \pm 0.15	0.159 \pm 0.02	-18.7 \pm 0.52

ตารางที่ 6.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค B-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ B-NLC แสดงด้วยค่า Mean \pm SD

ปริมาณสารสกัดสาหร่าย (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
0.3	118.0 \pm 0.21	0.159 \pm 0.11	-20.7 \pm 0.23
0.5	118.7 \pm 0.51	0.160 \pm 0.04	-21.3 \pm 0.12
0.7	119.1 \pm 0.33	0.161 \pm 0.13	-22.5 \pm 0.22

ตารางที่ 6.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารสกัดสาหร่ายในการเตรียมอนุภาค C-NLC โดยวิเคราะห์เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย ค่า Polydispersity Index (PI) และค่า zeta potential (หน่วย mV) ของ C-NLC แสดงด้วยค่า Mean \pm SD

ปริมาณสารสกัดสาหร่าย (%w/w)	mean diameter (nm)	PI value	zeta potential (mV)
0.3	117.8 \pm 0.02	0.159 \pm 0.11	-24.1 \pm 0.10
0.5	119.5 \pm 0.04	0.161 \pm 0.01	-23.6 \pm 0.02
0.7	122.3 \pm 2.00	0.162 \pm 0.02	-22.1 \pm 0.31

5. การศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดสาหร่าย

ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดสาหร่ายที่เตรียมในรูปแบบอนุภาคห้องสามานยนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC แสดงดังตารางที่ 7.1-7.3 โดยแสดงค่าปอร์เซ็นต์การกักเก็บ (% Entrapment, mean \pm SD) เมื่อศึกษาปัจจัยการเตรียมอนุภาคที่สำคัญได้แก่ 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า 1) ส่วนไขมันเหลวที่มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บได้ดีคือ Lexol 2) ปริมาณไขมันแข็งที่เหมาะสมคือที่ 20% w/w 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมคือ 7.0 % w/w และ 4) ปริมาณของสารสกัด 0.5 %w/w ผลการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเตรียมอนุภาคที่ส่งผลต่อค่าปอร์เซ็นต์การกักเก็บพบว่ามีความสอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกันในอนุภาคห้องสามานยนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ตามลำดับ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าองต้นถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารสกัดในรูปแบบอนุภาคห้องสามานยนิดเพื่อเป็นส่วนผสมหลักในการเตรียมตำรับเครื่องสำอางได้

ตารางที่ 7.1 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค A-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัยการเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และค่าเฉลี่ยค่า Mean \pm SD

Oil	% Entrapment (mean \pm SD)
Lexol	88.24 \pm 0.30
Oleic acid	54.08 \pm 1.23
Olive oil	49.23 \pm 0.43
IPP	66.91 \pm 0.22
IPM	61.85 \pm 0.33

Total lipid (%w/w)	% Entrapment (mean \pm SD)
10	59.93 \pm 1.10
15	61.01 \pm 0.43
20	88.22 \pm 0.31
30	69.21 \pm 0.26

ตารางที่ 7.1 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค A-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัย การเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และงดด้วยค่า Mean \pm SD (ต่อเนื่อง)

Surfactant (%w/w)	% Entrapment (mean \pm SD)
3.5	63.35 \pm 0.22
5.5	68.81 \pm 0.62
7.0	88.21 \pm 1.13
Algae extract (%w/w)	% Entrapment (mean \pm SD)
0.3	71.21 \pm 0.22
0.5	88.22 \pm 0.10
0.7	69.42 \pm 0.51

ตารางที่ 7.2 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค B-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัย การเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และงดด้วยค่า Mean \pm SD

Oil	% Entrapment (mean \pm SD)
Lexol	88.05 \pm 0.10
Oleic acid	55.00 \pm 0.46
Olive oil	50.04 \pm 0.91
IPP	67.01 \pm 0.11
IPM	62.23 \pm 0.43
Total lipid (%w/w)	% Entrapment (mean \pm SD)
10	58.03 \pm 0.42
15	59.21 \pm 0.04
20	88.02 \pm 0.13
30	69.00 \pm 0.14

ตารางที่ 7.2 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค B-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัย การเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และด้วยค่า Mean± SD (ต่อเนื่อง)

Surfactant (%w/w)	% Entrapment (mean ± SD)
3.5	64.07 ± 0.15
5.5	68.03 ± 0.92
7.0	88.05 ± 0.33
Algae extract (%w/w)	% Entrapment (mean ± SD)
0.3	71.01 ± 0.12
0.5	88.02 ± 0.25
0.7	69.11 ± 0.33

ตารางที่ 7.3 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค C-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัย การเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และด้วยค่า Mean± SD

Oil	% Entrapment (mean ± SD)
Lexol	88.78 ± 0.10
Oleic acid	51.08 ± 1.13
Olive oil	50.11 ± 0.43
IPP	68.15 ± 0.21
IPM	63.89 ± 0.13
Total lipid (%w/w)	% Entrapment (mean ± SD)
10	60.22 ± 2.10
15	61.09 ± 1.43
20	88.77 ± 0.30
30	70.75 ± 2.20

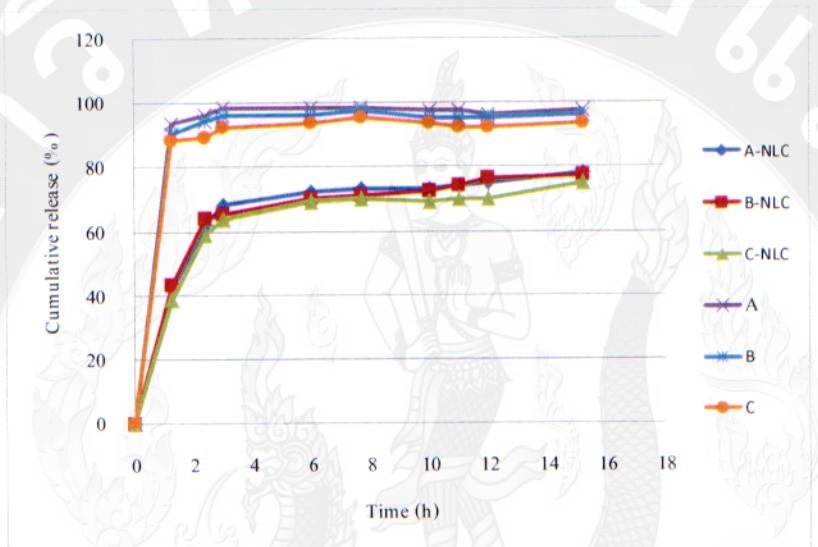
ตารางที่ 7.3 ประสิทธิภาพภายในการกักเก็บสารสกัดของอนุภาค C-NLC เมื่อพิจารณาจากปัจจัย การเตรียม 1) ชนิดของน้ำมัน (oil) ที่เป็นไขมันเหลว 2) ปริมาณไขมันแข็งหรือ total lipid (%w/w) 3) ปริมาณสารลดแรงตึงผิวหรือ surfactant (%w/w) 4) ปริมาณของสารสกัด (%w/w) และด้วยค่า Mean± SD (ต่อเนื่อง)

Surfactant (%w/w)	% Entrapment (mean ± SD)
3.5	66.15 ± 0.01
5.5	70.22 ± 0.11
7.0	88.77 ± 0.20
Algae extract (%w/w)	% Entrapment (mean ± SD)
0.3	71.05 ± 0.05
0.5	88.78 ± 0.50
0.7	70.03 ± 0.07

6. การศึกษารูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดสาหร่ายจากอนุภาคเมื่อเตรียมสารสกัดในรูปแบบครีม

ในการศึกษาได้ทดลองเตรียมครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาคทั้งสาม ชนิดด้วยสภาวะที่เหมาะสม และนำมาศึกษารูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดจากอนุภาคทั้งสามชนิด ที่เตรียมในรูปแบบครีม ด้วย Franz diffusion cell ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบรูปแบบการปลดปล่อยสาร เช่น ยา ผลการทดลองแสดงคงสภาพที่ 4 โดยอนุภาคทั้งสามชนิดมีสภาวะการเตรียมอนุภาคโดยมีองค์ประกอบหลักคือ ชนิดไขมันเหลวคือ lexol เนื่องจากมีการบ่อนสะตอนน้ำอะบะน้ำมันช่วยให้ในปริมาณ 20% w/w สารลดแรงตึงผิว 7.0 % w/w และบรรจุสารสกัดแต่ละชนิดปริมาณ 0.5% w/w ตามลำดับ ใน การศึกษาแสดงเบรียบเทียบ รูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดในตัวอย่างครีม ระหว่างสารสกัด A, B หรือ C ที่ผสมในครีม โดยตรง โดยไม่ได้เตรียมในรูปอนุภาค และสารสกัดที่เตรียมรูปแบบอนุภาคทั้งสามชนิดคือ A-NLC, B-NLC, C-NLC และผสมในสูตรครีม ผลการศึกษาพบการปลดปล่อยสารสกัด A, B และ C ถึง 90-100 % ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกในตัวอย่างที่เตรียมโดยผสมสารสกัด A, B หรือ C ที่ไม่ได้เตรียมรูปแบบอนุภาคและเริ่มคงที่ตั้งแต่ช่วงที่ 3 – 15 ขณะที่เมื่อเตรียมสารสกัดในรูปอนุภาคทั้งสามชนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ผสมในครีม พบว่าอัตราการปลดปล่อยสารสกัดมีอัตราเร็วที่ช้ากว่ารูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดในครีมที่ผสมสารสกัด A, B หรือ C โดยพบว่ามีการปลดปล่อยสารสกัดเพียง 60-70 % ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกและเริ่มคงที่ตั้งแต่ช่วงที่ 4 – 15 ทั้งนี้ รูปแบบการปลดปล่อยของสารสกัดในรูปอนุภาคทั้งสามชนิดที่มีอัตราเร็วที่ช้ากว่าในช่วง 2 ชั่วโมงแรกเกี่ยวข้องกับการแพร่ผ่านของสารสกัดจากอนุภาคและต้องแพร่ผ่านในเนื้อครีมทำให้อัตราเร็ว

ในการละลายของตัวอย่างในสารละลายทดสอบเกิดขึ้นได้ช้ากว่า อย่างต่อเนื่อง เมื่อเทียบกับกรณีสารสกัดที่บรรจุในครีม โดยจากการแพร่ผ่านของสารสกัดเกิดได้เร็วขึ้นทำให้การปลดปล่อยสารสกัดเกิดขึ้นได้เร็วเช่นกัน ทั้งนี้ในการทดลองได้สังเกตผลการทดลองและสุ่มตัวอย่างวิเคราะห์เป็นเวลาติดต่อกัน 15 ชั่วโมง ซึ่งรูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดมีรูปแบบการปลดปล่อยสารตัวอย่างในอัตราที่เร็วในช่วงแรกและมีการปลดปล่อยอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นลักษณะการปลดปล่อยที่สำคัญของสารสกัดในการเตรียมเครื่องสำอางรูปแบบหนึ่ง เพื่อให้สารสำคัญมีการปลดปล่อยเข้าไปยังเป้าหมายได้อย่างเหมาะสมและยาวนานมากขึ้น



ภาพที่ 4 รูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดที่เตรียมโดยการผสมสารสกัด A, B หรือ C ในครีมและการปลดปล่อยสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาค A-NLC, B-NLC และ C-NLC และผสมในครีม

7. การศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี

จากการศึกษาความสามารถในการด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้งสามชนิด และศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการเตรียมอนุภาค ไขมันจากสารสกัดทั้งสามชนิด นำมาเป็นตัวรับสำหรับเตรียมเครื่องสำอางในแบบครีม โดยมีครีมสองชุดใหญ่ ๆ ได้แก่ ชุดที่ 1 ครีมเตรียมด้วยการผสมสารสกัด A, B และ C (ภาพที่ 5) และชุดที่ 2 ครีมเตรียมด้วยการผสม A-NLC, B-NLC, C-NLC (ภาพที่ 6) ครีมทั้งสองชุดที่เตรียมได้นำมาศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี โดยลักษณะภายนอกพบว่าเนื้อครีมทุกชนิดมีสีเขียวอ่อนที่เป็นสีเดิมของสารสกัด ทั้งครีมที่เตรียมจากสารสกัด A, B, C และครีมที่เตรียมจากสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาค ได้แก่ A-NLC, B-NLC, C-NLC ครีมที่เตรียมได้ทุกชนิดมีลักษณะเนียนนุ่ม เป็นเนื้อเดียวกัน ในการศึกษาได้ทดสอบครีมทุกชนิด

ที่สภาวะเร่งจำนวน 6 ครั้งหรือ 6 รอบเพื่อแสดงความคงตัวของครีมทางกายภาพ ผลการทดสอบพบว่าในรอบต่าง ๆ ที่ศึกษาเนื้อครีมไม่พบการแยกชั้นในในทุกรอบที่ทดสอบที่สภาวะเร่ง



ภาพที่ 5 สูตรครีมที่เตรียมจากสารสกัด A, B และ C



ภาพที่ 6 สูตรครีมที่เตรียมจากอนุภาค A-NLC, B-NLC และ C-NLC

ในการศึกษาค่าความหนืด (viscosity, cps) ของครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดหรืออนุภาคสารสกัดที่เตรียมด้วยไขมันเหลว Lexol เมื่อทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่งโดยเปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ด้วยวิธี heat cool (Initial heat cool cycle หรือ after heat cool cycle) จำนวน 6 รอบ ในสภาวะเก็บให้พื้นแสง ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 8 โดยพบว่าค่าความหนืดก่อนและหลังการทดสอบในสภาวะเร่งมีค่าลดลงคิดเป็นร้อยละ $1.22 - 2.29\%$ สำหรับผลการทดสอบค่าความเป็นกรดด่างหรือค่า pH ของตัวอย่างครีมทั้งหมด แสดงผลดังตารางที่ 9 พบว่าในการทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะเร่งโดยเปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ด้วยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ ค่า pH ลดลงเล็กน้อยในทุกตัวอย่างและมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ก่อนการ

ทดสอบ ยกเว้นครีมที่มีส่วนผสมของ A-NLC และสารสกัด C ที่ค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อยกว่าก่อน การทดสอบ

ตารางที่ 8 ค่าความหนืดของครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดหรืออนุภาคสารสกัดที่เตรียมด้วยไขมันเหลว Lexol เมื่อทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาพเร่ง โดยเปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ด้วยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ ในสภาพเก็บให้พื้นแสง แสดงผลด้วย Mean \pm SD

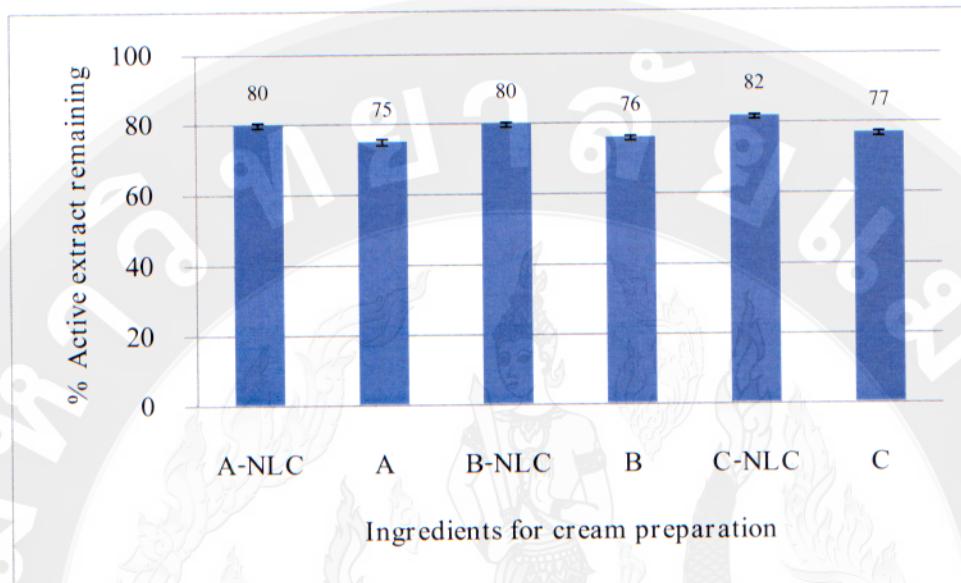
สูตรสารสกัด	Oil	Viscosity (cps) \pm SD	
		Initial heat cool cycle	After heat cool cycle
A-NBC	Lexol	1642 \pm 1.19	1622 \pm 1.11
A	Lexol	1662 \pm 2.11	1637 \pm 1.19
B-NBC	Lexol	1640 \pm 4.52	1619 \pm 5.67
B	Lexol	1660 \pm 4.33	1631 \pm 5.92
C-NBC	Lexol	1639 \pm 2.11	1617 \pm 4.52
C	Lexol	1659 \pm 2.01	1621 \pm 1.33

ตารางที่ 9 ค่า pH ของครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดหรืออนุภาคสารสกัดที่เตรียมด้วยไขมันเหลว Lexol เมื่อทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาพเร่ง โดยเปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ ด้วยวิธี heat cool จำนวน 6 รอบ ในสภาพเก็บให้พื้นแสง แสดงผลด้วย Mean \pm SD

สูตรสารสกัด	Oil	ค่า pH \pm SD	
		Initial heat cool cycle	After heat cool cycle
A-NBC	Lexol	7.30 \pm 0.11	7.32 \pm 0.16
A	Lexol	7.32 \pm 0.14	7.34 \pm 0.01
B-NBC	Lexol	7.22 \pm 0.02	7.21 \pm 0.03
B	Lexol	7.24 \pm 0.04	7.22 \pm 0.06
C-NBC	Lexol	7.04 \pm 0.05	7.03 \pm 0.02
C	Lexol	7.12 \pm 0.07	7.17 \pm 0.05

นอกจากนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารสกัด A, B, C ที่คงตัวอยู่ในครีมเมื่อเตรียมครีมโดยผสมสารสกัด A, B หรือ C และเปรียบเทียบกับปริมาณสารสกัดที่คงตัวอยู่ในครีมเมื่อเตรียมครีมด้วยอนุภาคไขมันที่มีสารสกัด A, B หรือ C ตามลำดับ ผลการศึกษาปริมาณการคงอยู่ของสาร

สกัดด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography แสดงดังภาพที่ 7 และพบว่าเทคนิคการเตรียมครีมโดยใช้สารสกัดที่เตรียมในรูปอ่อนๆ แบบ NLC มีแนวโน้มในการเพิ่มความคงตัวให้กับสารสกัดสาหร่ายได้ดี โดยมีองค์ประกอบของสารสกัดคงอยู่ในปริมาณ 80-82 % ขณะที่ถ้าสมสารสกัดโดยตรงในสูตรครีม ความคงตัวของสารสกัดพบในปริมาณ 75-77%



ภาพที่ 7 ปริมาณสารสกัด A, B และ C และอนุภาคไขมันของสารสกัดทั้งสามชนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ที่คงตัวอยู่ในครีม เมื่อทดสอบความคงตัวทางเคมีในสภาวะร่างด้วยวิธี heat cool

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการสกัดสาหร่ายด้วยเทคนิคการสกัดอย่างต่อเนื่องและใช้ความร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhlet พบว่าเป็นเทคนิคที่ดีในการสกัดสารสำคัญในพืช และได้นำมาใช้สกัดสารสำคัญในสาหร่าย เต่า โดยใช้อุตสาหกรรมเป็นตัวทำละลาย สารสกัดที่ได้มีเมื่อทำให้แห้งจะมีสีเขียวเข้ม ซึ่งสอดคล้องกับที่ได้มีการรายงานลักษณะของสารสกัดสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายไปโրไจลา ที่เป็นกลุ่มสาหร่ายสีเขียว นอกจากนี้จากการตรวจเอกสารพบว่า เทคนิคการสกัดโดยใช้อุตสาหกรรมเป็นตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์สารสกัดสูงสุดเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าการสกัดสาหร่ายเต่าโดยใช้อุตสาหกรรมเป็นตัวทำละลายและสกัดด้วยความร้อนต่อเนื่อง 3 ชั่วโมง ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงสุด เมื่อเทียบกับรูปแบบการสกัดรูปแบบอื่น ๆ นอกจากนี้ พบว่าสารสกัดเอทานอลหรือสารสกัด C แสดงผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay และ FRAP assay ตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องด้วยเมื่อใช้อุตสาหกรรมเป็นตัวทำละลายใช้ในการสกัดจะสามารถสกัดส่วนสารออกฤทธิ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ซึ่ง

จากการตรวจสอบสารส่วนใหญ่เป็นกลุ่มสารที่มีฟินอลิกเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างและสารประกอบพลาโนนอยด์ เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จิติกานต์ และคณะ, 2551

เทคนิควิธีที่ใช้ตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีหลาบวิธีในที่นี้ใช้วิธี DPPH assay ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับการให้โปรตอน (H- donor method) และเทคนิค FRAP assay จะช่วยให้ทราบถึงกลไกการต้านอนุมูลอิสระคือ reducing power activity

ในการศึกษาสารสกัดจากสาหร่ายขนาดใหญ่สีเขียว ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายที่พบในทะเล โดยมีการนำสาหร่ายเหล่านั้นสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกัน ด้วยวิธีการสกัดทั้งแบบ maceration แบบสกัดด้วยความร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhlet ดังตัวอย่างดังนี้

Marijana et al., 2014 ศึกษาการสกัด green macroalgae ได้แก่ Ulva lactuca และ Enteromorpha Intestinalis โดยสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนด้วยการสกัดด้วยความร้อนอย่างต่อเนื่องด้วยอุปกรณ์ soxhelt และศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH assay และ FRAP assay โดยมี ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน และพบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วย DPPH assay สาหร่ายสีเขียวทั้งสองชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง (moderate antioxidant activity) ด้วย $IC_{50} 623.58 \pm 2.35 \mu\text{g/ml}$ ใน U. lactuca และ $732.12 \pm 2.93 \mu\text{g/ml}$ ใน E. Intestinalis เมื่อเปรียบเทียบกับ $IC_{50} 6.42 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ ใน ascorbic acid ขณะที่เมื่อวิเคราะห์ด้วย FRAP assay พบว่าสารสกัดอะซิโตนของสาหร่ายทั้งสองชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง (moderate antioxidant activity) เมื่อเปรียบเทียบกับ ascorbic acid ในระดับความเข้มข้นในช่วง $62.5 \mu\text{g/ml} - 1000 \mu\text{g/ml}$

การสกัดสารด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นข้าว (polarity) แตกต่างกัน เช่น น้ำ (aqueous) เมทานอล (methanol) เฮกแซน (hexane) รวมถึงตัวทำละลายผสมของไฮคลอโรเมเทน/เมทานอล (dichloromethane/methanol) ความเป็นข้าวของตัวทำละลายเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้สามารถสกัดสารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญได้แตกต่างกัน เช่น เม็ดสี (pigments) จำพวก คลอโรฟิลล์เอ และบี (chlorophyll A และ chlorophyll B รวมถึงแครอทีนอยด์ (carotenoids) และคาลออยด์ (alkaloids) สารประกอบฟินอลิก (phenolic compounds) และน้ำมันหอมระเหย (essential oil) สารทุติยภูมิจากสารสกัดจากสาหร่ายมีส่วนเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Shanab et al., 2011; Sivakumar and Rajagopal, 2011; Uma et al., 2011) ที่แตกต่างกัน รวมถึงโดยส่วนใหญ่จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ total phenolic contents ในสารสกัด

สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการชาติที่ได้จากพืชและสัตว์มีการศึกษาวิจัยและให้ความสนใจเพื่อเป็นทางเลือกในการใช้ทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่น ๆ โดยทั่วไปเทคนิคในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีหลาบเทคนิค เทคนิคดึงเดิมที่เรียกว่า Conventional solvent solid/liquid extraction เป็นเทคนิคที่ใช้

ในการสกัดน้ำยครั้งและทำให้ได้สารออกฤทธิ์หลากหลายชนิดจากตัวอย่างสาหร่าย แต่ค่าวิทยาผลการใช้เวลาสกัดนานและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่บางชนิดอาจก่อปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้มีการพัฒนาเทคนิคการสกัดสารออกฤทธิ์และสารชีวโมเลกุลชนิดต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน เม็ดสี พอลิแซคคาไรค์ วิตามิน ทอกซินและสารเมตาบอนอลเดอร์ชนิดต่าง ๆ จากสาหร่ายโดยเริ่มจากการพัฒนาวิธีการสกัดในสาหร่ายทะเล เทคนิกต่าง ๆ ที่กล่าวถึงที่พัฒนาเพื่อการสกัดสารออกฤทธิ์ได้แก่ supercritical-fluid extraction (SFE), pressurized-liquid extraction (PLE) และ centrifugal partition extraction (PCE) เป็นต้น

ในการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลสีเขียว *Codium adhaerens* ของ Sudha และคณะ (Sudha et al., 2014) โดยสกัดด้วยอุปกรณ์ soxhelt ด้วยการให้ความร้อนต่อเนื่องด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อทำให้เข้มข้นและนำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบด้วย DPPH assay พบว่าสามารถกำจัดและยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH assay ได้ $72.92 \pm 0.23\%$ และค่า total antioxidant activity ที่ $74.61 \pm 1.55\%$ ที่ 1000 μg การศึกษาความสามารถกำจัดและยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดในการเกิดปฏิกิริยาตัดกันที่สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ethyl acetate

สาหร่ายทะเลสีเขียวขนาดใหญ่คือ *Avrainvillea erecta* ได้นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายโดยไม่ใช้ความร้อน โดยกระบวนการ maceration เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ด้วย methanol และ partition ด้วยตัวทำละลายสามชนิดตามลำดับคือ chloroform, *n*-butanol และน้ำ (water) และนำมาทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิกต่าง ๆ ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay พบว่า fraction สารสกัดด้วยตัวทำละลาย chloroform และ *n*-butanol มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงรายงานด้วยค่า EC_{50} คือ 535 และ 532 mg/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ fraction สารสกัดด้วยตัวทำละลาย chloroform พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP ด้วยปริมาณ $451 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ รวมทั้งส่วน fraction นี้พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด

สาหร่ายทะเลสีเขียวหลายชนิดคือ *Ulva clathrata* (Roth) C.Agardh, *Ulva linza* Linnaeus, *Ulva flexuosa* Wulfen และ *Ulva intestinalis* Linnaeus นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลด้วยกระบวนการ maceration ที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง นำไปทำให้เข้มข้นและทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay เปรียบเทียบกับ ascorbic acid พบว่าสาหร่ายสีเขียวทั้งสี่ชนิดมีค่า IC_{50} 0.881 ± 0.047 , 1.819 ± 0.632 , 1.881 ± 0.034 และ $2.175 \pm 0.038 \text{ mg/ml}$ ตามลำดับ

สาหร่ายสีเขียวขนาดใหญ่สองชนิด ได้แก่ *Cladophora glomerata* และ *Microspora floccose* ที่พบในจังหวัดน่าน ประเทศไทยมีการนำมาสกัดด้วยกระบวนการ maceration ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ethyl acetate, hexane, methanol รวมทั้งการสกัดด้วยน้ำ

ร้อน (hot water) นำสารสกัดทดสอบปริมาณฟีโนลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ผลการทดลองพบว่าปริมาณฟีโนลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสัมพันธ์กับเทคนิคการสกัดและชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ทั้งนี้แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสาหร่าย เช่นถ้าเป็น *C. glomerata* พบว่าตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพการสกัดคือและมีปริมาณฟีโนลิกสูงในสารสกัดมีลำดับได้แก่ ethyl acetate > hexane > hot water > methanol ขณะที่ถ้ากรณิชของสาหร่าย *M. floccose* พบว่ามีลำดับของตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพการสกัดและมีปริมาณฟีโนลิกสูง hexane > methanol > ethyl acetate > hot water ตามลำดับ สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีการรายงานว่าค่า % DPPH radical scavenging activity สูงสุดในสารสกัด ethyl acetate จากสาหร่าย *C. glomerata* เท่ากับ 49.8 ± 2.7 รองลงมาคือสารสกัด hexane (37.4 ± 2.3) น้ำร้อน (18.4 ± 2.5) และ methanol (16.7 ± 2.6) ตามลำดับ แตกต่างกันตัวอย่างสาหร่าย *M. floccose* ที่พบว่า % DPPH radical scavenging activity สูงสุดในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือ hexane โดยรายงาน % DPPH radical scavenging activity เท่ากับ 19.7 ± 1.4

Martins et al., 2013 ได้เก็บตัวอย่างสาหร่ายหลายชนิดและรวมถึงสาหร่ายสีเขียวขนาดใหญ่ ได้แก่ *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützing, *Codium decorticatum* (Woodward) M. A. Howe, *Codium taylorii* P. C. Silva, *Ulva lactuca* Linnaeus และ สกัดด้วยตัวทำละลายผสม dichloromethane : methanol (1:1, v/v) เป็นเวลา 3 วัน (1:1 w/v) ที่อุณหภูมิห้องและนำมาทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรายงานว่าค่า % DPPH radical scavenging activity เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ gallic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/mL พบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดมีค่า DPPH radical scavenging (%) แตกต่างกันและต่ำกว่าสารมาตรฐาน gallic acid (91.41 ± 0.65) โดยมีข้อมูล DPPH radical scavenging (%) ดังนี้ *Caulerpa mexicana* (38.70 ± 0.80), *Codium decorticatum* (34.81 ± 1.20), *Codium taylorii* (71.95 ± 1.02), *Ulva lactuca* (34.97 ± 2.11)

สกัดสาหร่ายทะเลสีเขียวขนาดใหญ่ 4 ชนิด ด้วยเทคนิค maceration ด้วยตัวทำละลายผสมเมทานอลและน้ำ (80:20 v/v) เป็นเวลา 4 ชั่วโมงและทำให้สารสกัดให้เข้มข้น นำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay โดยแสดงผลในหน่วย mM Fe²⁺ 100 g⁻¹ FW) แล้วพบว่า *Chaetomorpha crassa* มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 3.91 ± 0.99 mM Fe²⁺ 100 g⁻¹ FW ขณะที่สาหร่ายสีเขียวชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *Ulva lactuca*, *Ulva reticulata*, *Codium intricatum*, *Codium lucasii* และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำกว่า

สาหร่ายทะเลสีแดง *Gracilaria verrucosa* ได้นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ acetone และ chloroform โดยมีเพอร์เซ็นต์การสกัดแตกต่างกันคือ 0.126% และ 0.144% ตามลำดับ นำสารสกัดทดสอบค่า Total Antioxidant capacity รายงานผลในหน่วย mg Catechol equivalent per gram DW เท่ากับ 9.82 ± 1.64 ในสารสกัดจาก acetone และ 12.13 ± 1.63 ในสารสกัดจาก chloroform

ในการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และรายงานค่า IC₅₀ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ผลการทดลองพบว่าค่า IC₅₀ ของสารสกัด acetone, chloroform และ BHT เท่ากัน 71.69, 114.02 and 152.35 µg/ml ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลาย acetone เป็นตัวทำละลายที่สกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย *G. verrucosa* ได้ดีและมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐาน BHT

ค่า total antioxidant capacity นั้นจะแตกต่างกันในสารสกัดแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด วิธีที่ใช้ในการสกัดเหล่านี้ส่งผลต่อการตรวจสอบศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชนิดนั้น ๆ ดังปรากฏผลในตัวอย่างสารสกัดของสาหร่ายหาดใหญ่ทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยเฉพาะปริมาณฟีโนลิกที่ตรวจพบในตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่เสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบฟีโนลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบ ทำให้กรดฟีโนลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พนในธรรมชาติในตัวอย่างพืช สาหร่าย หาดใหญ่ หาดใหญ่

Hasmida *et al.*, 2014 ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดสารประกอบฟีโนลิกและตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเบญจานี (*Quercus infectoria*) โดยเปรียบเทียบทεcnik การสกัดสองวิธีคือ วิธีสกัดด้วยความร้อนด้วยอุปกรณ์ soxhlet และการสกัดด้วยเทคนิค supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) ผลการสกัดพบว่า เทคนิค soxhlet ให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าเทคนิค SC-CO₂ อよ่างไรก็ตามปริมาณฟีโนลิกที่ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (FC) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดด้วยเทคนิค SC-CO₂ พนว่ามีมากกว่าสารสกัดจากเทคนิค soxhlet โดยสำหรับเทคนิคการสกัดด้วย soxhlet พนว่าตัวทำละลายที่สกัดสารประกอบฟีโนลิกได้สูงคือ 70% methanol และตัวทำละลายที่สกัดสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง คือ 100% aqueous ตามลำดับ

Bajerová *et al.*, 2014 ได้ศึกษาเปรียบเทียบทεcnik การสกัดสำหรับวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพืช ได้แก่ เทคนิค supercritical fluid extraction, pressurized liquid extraction, การสกัดด้วยอุปกรณ์ soxhlet, ultrasonic extraction ใน ultrasonic bath และ ultrasonic probe สารที่สกัดได้แต่ละเทคนิคนำไปตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ผลการเปรียบเทียบพบว่า การใช้ ultrasonic probe ช่วยในการสกัดด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ในน้ำ (30%, v/v) เป็นเวลา 25 นาทีที่อุณหภูมิห้องด้วยการใช้ amplitude 60% (เท่ากับ 90 W) ให้ผลเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดสูงสุดและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay

Sultana *et al.*, 2009 ได้เปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ absolute methanol, absolute ethanol และสารละลายของตัวทำละลายอินทรีย์ (aqueous solvent) ได้แก่ aqueous 80% methanol, aqueous 80% ethanol ใน การสกัดสารจากพืชที่ใช้ในการรักษาโรค เทคนิคที่ใช้สกัดเปรียบเทียบระหว่างการให้ความร้อนต่อเนื่องด้วยการ reflux และวิธีการเร撼 (shake) และทดสอบ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay รวมถึงปริมาณฟีโนลิก ผลการตรวจสอบพบว่าตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดแสดงค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงคือ aqueous solvent ที่เตรียมหั่นจากสองวิธี อย่างไรก็ตามถ้าเปรียบเทียบเฉพาะเทคนิคการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายผสมเหมือนกันพบว่าการสกัดด้วยวิธี reflux สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด 80.6% รวมถึงได้เปอร์เซ็นต์สารสกัดสูงมากกว่าถึง 46.6%

Ghasemzadeh *et al.*, 2015 ได้ศึกษาการสกัดสารจากรากข้าวคั่วเทคนิคการสกัดต่าง ๆ และทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า เทคนิคที่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์จากการรากข้าว ได้มากตามลำดับมีดังนี้คือ เทคนิคที่ 1 การใช้เทคนิค ultrasonic ด้วยตัวทำละลายผสม ethanol-water (50:50 v/v) เทคนิคที่ 2 การใช้เทคนิค maceration ด้วยตัวทำละลายของ ethanol-water (50:50 v/v) เทคนิคที่ 3 การใช้เทคนิค ultrasonic ด้วยตัวทำละลาย ethanol และเทคนิคที่ 4 การใช้เทคนิค maceration ด้วยตัวทำละลาย ethanol ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเทคนิคที่ 1 พนั่นว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยเทคนิควิธี DPPH assay สูงสุดที่ 84.21% รวมถึงมีปริมาณฟีโนลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ สูงที่สุดเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ

ในการทดลองนี้ได้ใช้เทคนิคการสกัดสารจากสาหร่ายโดยคัดแปลงจากวิธีการของ Ghasemzadeh *et al.*, 2015; Bajerová *et al.*, 2014 และ Sultana *et al.*, 2009 และนำสารสกัด A B และ C ตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงพบว่า เทคนิคที่ใช้ในการสกัดได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตในระดับปานกลางเมื่อเทียบกับเทคนิคที่ใช้ในการสกัดสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้ขึ้นกับแหล่งของสาหร่ายเช่น สาหร่ายน้ำจืดหรือสาหร่ายน้ำเค็ม ชนิดขนาดใหญ่หรือขนาดเล็ก และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดทั้งนี้เนื่องจากความมุ่งหมายในการวิจัยมุ่งเน้นเตรียมเครื่องสำอางจึงเลือกใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิเศษเช่น น้ำอ่อน นมอ่อน เป็นต้น ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตอาจน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่น ๆ เช่น ในการวิจัยของ Martins *et al.*, 2013, Marijana *et al.*, 2014; Ghasemzadeh *et al.*, 2015; Bajerová *et al.*, 2014 และ Sultana *et al.*, 2009 เป็นต้น ลักษณะเช่นนี้ให้ผลเช่นเดียวกันกับวิธีการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แสดงด้วยค่า total antioxidant ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค DPPH assay และ FRAP assay เป็นต้น

เนื่องด้วยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีของสารสกัด C สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ และความงาม แต่เนื่องด้วยเหตุผลโอกาสเกิดความไม่คงตัวของสาร และต้องการเพิ่มความสามารถในการแทรกซึมของสารสกัดสู่ผิวหนังได้ดียิ่งขึ้น จึงนำเทคนิคการเตรียมอนุภาค ไอนัมเบ็งขนาดนาโน มาประยุกต์ใช้กับสารสกัดทั้งสามชนิด คือ A, B และ C และเตรียมอนุภาค ไอนัมเบ็งขนาดนาโนสามชนิด เรียกชื่อว่า A-NLC, B-NLC และ C-NLC ตามลำดับ จากนั้นนำมาศึกษาลักษณะทางกายภาพเบื้องต้นด้วยการวัดขนาดอนุภาคไอนัมเบ็งทั้งสามชนิด ผลการทดลองพบว่ามีขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 115-1200 nm ค่าการกระจายอนุภาคอยู่

ในช่วง 0.150-0.165 และประจุบนผิวอนุภาคมีค่าเฉลี่ย -18.5 ถึง -24 mV โดยพบว่า C-NLC มีค่าอนุภาคเฉลี่ย ค่าการกระจายอนุภาค และค่าประจุบนผิวอนุภาคสูงสุด เมื่อเทียบกับ A-NLC และ B-NLC ตามลำดับ และพบว่าอนุภาคมีลักษณะค่อนข้างกลม เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TEM และในการวิเคราะห์ค่าการปักคลุมผิวของอนุภาค ไขมันแข็งนาโนด้วยค่าการปักคลุม (*F*) ของ NLC dispersion โดยการเพิ่มปริมาณ ไขมันแข็งทั้งหมดจาก 10 %, 15 %, 20 % และ 30 % (w/w) ตามลำดับ และเพิ่มระยะเวลาศึกษาการปักคลุมที่เวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ของอนุภาค ไขมันแข็ง A-NLC, B-NLC, C-NLC ผลการทดสอบพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณ ไขมันที่เป็นของแข็งจาก 10 % ถึง 30 % (w/w) นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปักคลุม (*F*) และเมื่อเวลามากขึ้นจะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของค่าการปักคลุมด้วยตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าค่าการกระจายอนุภาคเมื่อเพิ่มปริมาณ ไขมันแข็งจาก 10-30 (%w/w) ขนาดอนุภาคเฉลี่ยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น การที่ค่าการกระจายของอนุภาคเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องด้วยเมื่อเพิ่มปริมาณ ไขมันแข็งในตารับ โดยที่มีปริมาณสารลดแรงดึงผิวคงที่ ทำให้ปริมาณสารลดแรงดึงผิวไม่พอที่จะใช้ในการก่อให้เกิดอนุภาค ผลจากการศึกษาการเตรียมอนุภาค ไขมันแข็งนาโน และศึกษาลักษณะทางกายภาพพบว่า ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาค ค่าการกระจายอนุภาค ให้ค่าวิเคราะห์สอดคล้องและเป็นไปตามทฤษฎีที่รายงานจากการตรวจสอบเอกสาร ออย่างไรก็ตาม ในส่วนของประจุบนผิวอนุภาคผลการทดสอบพบว่าเฉพาะ C-NLC ที่ให้ค่าประจุบนผิวอนุภาคมากกว่า -20 mV ขณะที่ค่าประจุบนผิวของ A-NLC และ B-NLC ให้ค่าต่ำกว่า ซึ่งสะท้อนถึงลักษณะค่าความคงตัวประจุที่เสถียรปราฏที่อนุภาค C-NLC

ในการศึกษาด้านปริมาณของสารลดแรงดึงผิว lipoid s75 โดยกำหนดให้ร้อยละของ lipoid S75 โดยน้ำหนัก ได้แก่ 3.5, 5.5, 7.0 (% w/w) ตามลำดับ ทำการทดสอบในอนุภาคทั้งสามชนิด ผลการทดสอบพบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของอนุภาคทั้งสามชนิดให้ผลการทดสอบที่คล้ายคลึงกัน โดยเมื่อสารลดแรงดึงผิวมีสัดส่วนโดยน้ำหนักสูงขึ้นส่งผลต่อนาคdonuภาคเฉลี่ยที่มีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้สารลดแรงดึงผิวที่ให้ในสัดส่วนมากขึ้นจะช่วยลดแรงดึงผิวมากขึ้นด้วย ทำให้ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดเล็กลงและค่าการกระจายของอนุภาคทั้งสองชนิดมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน ใน การศึกษาปริมาณของสารสกัดจากสาหร่ายที่เตรียมอนุภาค พบว่าเมื่อใช้ปริมาณสารสกัดที่สูงขึ้น ส่งผลต่อนาคdonuภาคที่ใหญ่มากขึ้น ปัจจัยที่ส่งผลต่อนาคdonuภาคที่ใหญ่มากขึ้นอาจเนื่องจาก โอกาสการจับตัววนริเวณภายในออกพื้นผิวอนุภาคร่วมด้วย ดังนั้นมีสัดส่วนสารสกัดมีมากขึ้น จึง ส่งผลต่อนาคdonuภาคที่ใหญ่ขึ้นตามลำดับ

การศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดสาหร่ายต้องคำนึงในหลายปัจจัยโดยสรุป จากการทดสอบว่าปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการตั้งตารับจากสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบ อนุภาค ได้แก่ 1) ส่วนไขมันเหลวที่มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บได้ดีคือ Lexol 2) ปริมาณ ไขมันแข็งที่เหมาะสมคือที่ 20% w/w 3) ปริมาณสารลดแรงดึงผิวที่เหมาะสมคือ 7.0 % w/w และ 4) ปริมาณของสารสกัดที่ 0.5 %w/w โดยปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อค่าเบอร์เซ็นต์การกักเก็บสอดคล้องและ

เป็นไปในทิศทางเดียวกันในรูปแบบอนุภาคทั้งสามชนิดคือ A-NLC, B-NLC และ C-NLC ซึ่งถือว่า ปัจจัยทั้งหลายดังกล่าวมีความเหมาะสมที่จะใช้ในการเตรียม载体 สำหรับเครื่องสำอาง ได้ในเบื้องต้นและ ใช้เตรียม载体 สำหรับครีมเครื่องสำอาง สำหรับการศึกษารูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดในตัวอย่างครีม ระหว่างสารสกัดที่บรรจุในครีมโดยตรงโดยไม่ได้เตรียมในรูปอนุภาค และสารสกัดที่เตรียม รูปแบบอนุภาคทั้งสามชนิดพร้อมบรรจุลงในสูตรครีม ผลการศึกษาพบว่าครีมที่บรรจุสารสกัดที่ เตรียมในรูปแบบอนุภาคทั้งสามชนิดมีรูปแบบการปลดปล่อยสารสกัดที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งรูปแบบการ ปลดปล่อยสารสกัดมีรูปแบบการปลดปล่อยสารตัวอย่างในอัตราเร็วที่ในช่วงแรกและมีการ ปลดปล่อยอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นลักษณะการปลดปล่อยที่สำคัญของสารสกัดในการเตรียม เครื่องสำอางรูปแบบหนึ่ง

ในการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดทำได้โดยเตรียมเครื่องสำอาง ในรูปแบบครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่เตรียมในรูปแบบอนุภาคได้แก่ A-NLC, B-NLC, C-NLC และเปรียบเทียบกับครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัด A, B, C ตามลำดับ พนว่าลักษณะครีมที่ได้ มีลักษณะทางกายภาพใกล้เคียงกันมีความคงตัวทางเคมีในสภาพเร่ง และเมื่อทดสอบสารสกัดที่ คงเหลืออยู่ในครีมนูตริต่าง ๆ พนว่าระบบนำส่งสารในรูปแบบ NLCs มีแนวโน้มในการเพิ่มความ คงตัวให้กับสารสกัดสาหร่ายที่เตรียมด้วยอนุภาคไขมัน nano ทั้งสามชนิด ได้ดีกว่าการผสมสารสกัด สาหร่ายโดยตรงในการเตรียมครีม ทั้งนี้การใช้เทคนิค NLCs เพื่อเป็นระบบนำส่งยาหรือสารสำคัญ รวมถึงในการผลิตเครื่องสำอางชนิดต่าง ๆ มีตัวอย่างและรูปแบบการวิเคราะห์ดังนี้

Pokharkar *et al.*, 2011 ได้เตรียมและพัฒนาระบบนำส่ง eugenol ช่วยรักษาโรคเหงือก อักเสบด้วยการเตรียมตัวอย่าง eugenol ด้วยเทคนิค Nanostructured lipid carrier ด้วยการเตรียมด้วย วิธี Hot homogenization โดยการออกแบบสัดส่วนผสมของการเตรียมด้วยการวิเคราะห์ องค์ประกอบของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเตรียม NLC คือ เปอร์เซ็นต์ของไขมันและปริมาณของ สารลดแรงตึงผิว อนุภาค NLC ที่เตรียมนำไปวิเคราะห์ ขนาดอนุภาค ค่า PI และประสิทธิภาพการ กักเก็บ ผลการทดลองพบว่า ขนาดอนุภาคแต่ละสูตรการเตรียมอยู่ที่ 197-228 นาโนเมตรและต่ำกว่า 400 นาโนเมตร ค่า PI อยู่ระหว่าง 0.607-0.621 ค่าประสิทธิภาพการกักเก็บมีค่าอยู่ระหว่าง 71.53- 97.43% ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงจะเกี่ยวข้องกับความไม่ เป็นระเบียบในผลึกของอนุภาคช่วยเพิ่มพื้นที่การกักเก็บสารและตัวยาได้ชัดเจน เมื่อได้สำรองยาที่ดี ที่สุดนำมาเข้ารูปแบบ gel และนำไปวิเคราะห์การปลดปล่อยสารจาก gel เพื่อสรุปว่ารูปแบบการ ปลดปล่อยสารเป็นแบบควบคุมการปลดปล่อยยา โดยเจลที่เตรียมจากอนุภาค NLC ของ eugenol มี การปลดปล่อยเร็วในช่วงเวลาสองชั่วโมงแรกจากนั้นในช่วงเวลา 2-8 ชั่วโมง เป็นการปลดปล่อยยา แบบคงที่และช้าลงซึ่งเป็นรูปแบบการปลดปล่อยแบบ biphasic ที่ช่วงแรกจะมีการปลดปล่อยสาร รวมเร็วถึง 25% จากนั้นทดสอบความเสถียรของอนุภาค NLC และ gel ที่เตรียมได้เป็นเวลา 6 เดือน และพบว่าตัวอย่างที่เตรียมทั้งหมดมีความคงตัวดี

Joshi *et al.*, 2008 ได้เตรียมอนุภาค NLC ที่บรรจุยา Celecoxib เป็นยาด้านอักเสบขั้ดอยู่ในกลุ่ม COX-2 inhibitors ซึ่งเป็นยาด้านนี้ที่อยู่ในกลุ่มยาด้านการอักเสบชนิดไม่ใช่สเตียรอยด์ โดยการเตรียมด้วยเทคนิค microemulsion template และวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 160-185 นาโนเมตรค่า PI เท่ากับ 0.624 แสดงถึงอนุภาคมีการกระจายตัวโดยแสดงค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ถ้าค่า PI เท่ากับ 0 แสดงถึง homology ระหว่างอนุภาคสูงมากขึ้น และลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค SEM พบว่าอนุภาค NLC เป็นทรงกลม จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพการกัดเก็บและพบร่วมค่า 35% ซึ่งพบร่วมค่าการกัดเก็บที่น้อยเนื่องด้วยปัจจัยการกระจายตัวของยาระหว่างวัฏภานัมมันและวัฏภาน้ำ โดยยานิดนี้จะละลายได้ในสารลดแรงตึงผิวและดึงส่วนองค์ประกอบยาไปในส่วนวัฏภานัมมันได้มากกว่า การปลดปล่อยตัวยา และการทดสอบการซึมผ่านผิวนังหนู เมรี่ยนเทียบกับ micellar gel ที่มีสูตรผสมเดียวกันกับ NLC gel ของยา Celecoxib ผลการทดลองพบร่วมเมื่อเตรียมยาในรูปแบบอนุภาค NLC พบร่วมยาในรูปแบบการปลดปล่อยยารวดเร็วหรือยาออกฤทธิ์เร็วในช่วง 15 นาทีแรกในลักษณะเรียกว่า burst release และมีการปลดปล่อยยาแบบช้าๆ ที่เรียกว่า sustained release ในช่วง 24 ชั่วโมงที่ทดสอบ

Montenegro *et al.*, 2014 ได้กล่าวถึงความสำคัญของการใช้สารชะลอความแก่หรือสารด้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติที่มีความสำคัญมากในการนำมาผลิตเครื่องสำอางที่ปลดปล่อยและเป็นที่นิยมในปัจจุบัน โดยสารด้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติมีหลากหลายเช่น วิตามินซี วิตามินอี โคเอนไซม์ Q10 สารกลุ่ม phytoantioxidants ที่เป็นสารด้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติทั้งกลุ่ม terpenes และ polyphenols เหล่านี้ล้วนเป็นสารด้านอนุมูลอิสระที่ผสมในเครื่องสำอาง อย่างไรก็ตามสารธรรมชาติเหล่านี้จะพบปัญหาหลายด้านด้านนำ้ไปผสมในเครื่องสำอาง โดยตรง เช่น บางชนิดละลายได้ในน้ำ บางชนิดละลายได้ในไขมัน ปัญหาเครื่องความเสียหายรือคงตัวของสารธรรมชาติ ปัญหาความสามารถในการซึมผ่านผิวนังหนู ดังนั้นการพัฒนาระบวนการนำส่งสารธรรมชาติเหล่านี้จึงมีการคิดค้นและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ เทคนิค nanocarriers แบบต่างๆ เช่น liposomes, niosomes, microemulsions และ nanoparticles (SLN และ NLC) เป็นต้น (Müller *et al.*, 2002) จากความรู้เหล่านี้และเทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นทำให้นำมาผลิตเป็นตำรับเครื่องสำอางที่หลากหลายที่พนในตลาดเครื่องสำอางทั้งในและต่างประเทศมากมาย (Chaudhri *et al.*, 2015) เช่น ชุดยารักษาสิว ครีมทาหลังตากแดด ครีมลดริ้วรอย ครีมบำรุงรอบดวงตา ครีมกระชับผิว ครีมอาบน้ำและคลีนซิ่ง ครีมล้างหน้า ครีมเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ใบหน้าและลำคอ ครีมบำรุงริมฝีปาก ครีมน้ำนม บำรุงเล็บ ครีมกันแดด ครีมลดการหลุดร่วงของเส้นผม เป็นต้น (Dubey *et al.*, 2012)

ผลจากการวิจัยการเตรียมสารสกัดในรูปแบบอนุภาค NLC เพื่อผสมในครีมพิว และได้ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี พบร่วมค่าการวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ เช่น ค่าอนุภาคเฉลี่ยค่า PI ค่าศักย์ชีดี ลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคที่เป็นทรงกลม และปัจจัยการเตรียมอนุภาคอื่นๆ มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกับรูปแบบการเตรียมอนุภาค NLC ในตัวอย่างยาหลายชนิดรวมถึงการ

ปรับปรุงเทคนิคการเตรียมให้เหมาะสมกับพิสูจน์การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง หลากหลายรูปแบบ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงเป็นแนวทางศึกษาและสามารถต่อยอดสู่การผลิตเพื่อเป็นเวชสำอางหรือเครื่องสำอางได้ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

1. ได้เตรียมสารสกัดสาหร่ายที่เหมาะสมและมีคุณภาพดีได้จากสารสกัดอ่อนลอร์สารสกัด C ซึ่งสกัดโดยระบบสกัดด้วยตัวทำละลายอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่อง soxhlet ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงสุดที่ร้อยละ 58.12 และมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเขียวเข้ม โดยที่สารสกัด C ให้ค่า total antioxidant สูงกว่าสารสกัด A และ B เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ความสามารถด้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และวิธี FRAP assay
2. ในการเตรียมอนุภาค NLC มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงหลายประการ เช่น ปริมาณไขมันแข็ง ปริมาณและชนิดไขมันเหลว ปริมาณสารลดแรงดึงดูดที่เหมาะสม ปริมาณของสารสกัด ที่จะช่วยให้มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสกัดและอนุภาคสารสกัดที่ดี ส่งผลต่ออัตราเร็วในการปลดปล่อยสาร และความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของอนุภาคและตัวรับ沁ที่เตรียมได้

เอกสารอ้างอิง

วิจิกานต์ ปัญโญใหญ่. 2551. กิจกรรมด้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta*

(Hassall) Kützing. วิทยานิพนธ์การค้นคว้าแบบอิสระ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.

ดวงพร อมรเลิศพิศาล กฤณณา ดวงจันทร์ ดวงตา กาญจน์โพธิ์ ธรรม แต้ไสตถิกุล และยุวดี พิรพรพิศาล. 2555. ฤทธิ์ปอกป่องแพลงในกระเพาะอาหารของสาหร่ายเตา. *KKU. Sci. J.* 40(1): 236-241.

ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.

Aburjai, T., F.M. Natsheh. 2003. Plants used in cosmetics. *Phytother. Res.* 17: 987-1000.

Ahshawat, M.S., S. Saraf, S. Saraf. 2008. Preparation and characterization of herbal creams for improvement of skin viscoelastic properties. **Inter. J. Cos. Sci.** 30: 183-193.

Anaelle, T., E.S. Leon, V. Laurent, I. Elena, J.A. Mendiola, C. Stephane, K. Nelly, L.B. Stephane, M. Luc, S.-P. Valeria. 2013. Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model. **Talanta.** 104: 44-52.

Apak, R.M., Ozyurek, K.Guclu, and E. Capanoglu. 2016. Antioxidant activity/capacity measurement. 3. reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) scavenging assays, oxidative stress biomarkers, and chromatographic/chemometric assays. **J. Agric. Food. Chem.** 64: 1046-1070.

Bajerova, P., M. Adam, T. Bajer, K. Ventura. 2014. Comparison of various techniques for the extraction and determination of antioxidants in plants. **Sep. Sci.** 37(7): 835-844.

Bhalekar, M.R., V. Pokharkar, A. Madgulkar, N. Patil and N. Patil. 2009. Preparation and evaluation of miconazole nitrate-loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery. **AAPS. Pharm. Sci. Tech.** 10(1): 289-296.

Phansawan, B. 2013. Free radicals, antioxidants and antioxidant activity determination. **Thai Sci. Tech J.** 21(3): 275-286.

Chai, T.-T., M.-T. Kwek, N.I. Mohd Ismail, J.L. Sim Ooi, A.Y. Amri, F.A. Manan, Y.-C. Law, F.-C. Wong. 2015. Antioxidant Activities of Methanol Extract and Solvent Fractions of Marine Macroalga, *Avrainvillea erecta* (Berkeley) A. Gepp and E.S. Gepp (Dichotomosiphonaceae). **Trop. J. Pharm. Res.** 14(3): 503-509.

Chaudhri, N., G.C. Soni, S. K. Prajapati. 2015. Nanotechnology: an advance tool for nano-cosmetics preparation. **Inter. J. Phar. Res. & Rev.** 4(4): 28-40.

- Chimsook, T. 2014. Preparation and characterization of nanostructured lipid carriers loaded *Spirogyra* spp. Extract. **Adv. Mat. Res.** 894: 323-327.
- Dubey, A., P. Prabhu, and J.V. Kamath. 2012. Nano structured lipid carriers: A novel topical drug delivery system. **Int. J. Pharm. Tech. Res.** 4(2): 705-714.
- Farasata, M., R.-A. Khavari-Nejada, S.M.B. Nabavib and F. Namjooyanc. 2014. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from northern coasts of the Persian gulf. **Iran J Pharm Res.** 13(1): 163-170.
- Gasco, M.R. and M. Trotta. 1986. Nanoparticles from microemulsions. **Int. J. Pharm.** 29: 267-268.
- Ghasemzadeh A., H.Z.E. Jaafar, A.S. Juraimi and A.T.-Meigooni. 2015. Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of Hashemi Rice Bran. **Molecules.** 20: 10822-10838.
- Gouda, S., R.R. Moharana, G. Das, J.K. Patra. 2013. Free radical scavenging potential of extracts of *Gracilaria verrucosa* (L) (Harvey): An economically important seaweed from Chilika lake, India. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci.** 6(1): 707-710.
- Hasmida, M.N., A.R. Nur Syukriah, M.S. Liza, and C.Y. Mohd Azizi. 2014. Effect of different extraction techniques on total phenolic content and antioxidant activity of *Quercus infectoria* galls. **Int. Food. Res. J.** 21(3): 1075-1079.
- Hu, F.Q., S.P. Jiang, Y.Z. Du, H. Yuan, Y.Q. Ye and S. Zeng. 2006. Preparation and characteristics of monostearin nanostructured lipid carriers. **Int. J. Pharm.** 314(1): 83-89.
- Joshi, M., V. Patravale. 2008. Nanostructured lipid carrier (NLC) based gel of celecoxib. **Int. J. Pharm.** 346: 124–132.

Junthip, R., D. Amornlerdpison and T. Chimsook. 2013. Phytochemical screening, antioxidant activity and total phenolic content of *Spirogyra* spp. **Adv. Mat. Res.** 699: 693-697.

Kosanic, M., B. Rankovic, T. Stanojkovic. (2015) Biological activities of two macroalgae from Adriatic coast of Montenegro. **Saudi. J. Biol. Sci.** 22(4): 390-397.

Lailerd, N., A. Pongchaidecha, D. Amornlerdpison and Y. Peerapornpisal. 2009. Beneficial effects of *Spirogyra neglecta* extract on glycemic and lipidemic status in streptozotocin-induced diabetic rats fed a diet enriched in fat. **Ann. Nutr. Metab.** 55(S1): 609.

Laungsuwon, R., W. Chulalaksananukul. 2013. Antioxidant and anticancer activities of freshwater green algae, *Cladophora glomerata* and *Microspora floccosa*, from Nan River in northern Thailand. **Maejo. Int. J. Sci. Technol.** 7(02), 181-188.

Martins, C.D.L., F. Ramlov, N.P.N. Carneiro, L.M. Gestinari, B.F. dos Santos, L.M. Bento, C.L. hullier, L. Gouvea, E. Bastos, P.A. Horta, A.R. Soares. 2013. Antioxidant properties and total phenolic contents of some tropical seaweeds of the Brazilian coast. **J. Appl. Phycol.** 25: 1179–1187.

Mitova, M.Iv., A.L. Usov, M.I. Bilan, K.L. Stefanov, S.D. Dimitrova-Konaklieva, D.P. Tonov and S.S. Popov. 1999. Sterols and polysaccharides in freshwater algae *Spirogyra* and *Mougeotia*. **Z. Naturforsch., C: J. Biosci.** 54(12): 1016-1020.

Montenegro, L. 2014. Nanocarriers for skin delivery of cosmetic antioxidants. **J. Pharm. Pharmacogn. Res.** 2(4): 73-92.

Moon, J.-K. and T. Shibamoto. 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. **J. Agric. Food Chem.** 57: 1655–1666.

Mudshinge, S.R., A.B. Deore, S. Patil and C.M. Bhalgat. 2011. Nanoparticles: emerging carriers for drug delivery. **Saudi. Pharm. J.** 19: 129-141.

Müller, RH., M. Radtke and S.A. Wissing. 2002. Solid lipid nanoparticles (SLN) and Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Adv. Drug. Del. Rev.** 54 (1): S131-S155.

Nair, S.S., S. Majeed, S. Sankar, J.M. Mathew. 2009. Formulation of some antioxidant herbal creams. **Hygeia** 1(1): 44-45.

Ontawong, A., P. Arjinajarn, A. Pongchaidecha, N. Saowakon, P. Vivithanaporn, A. Lungkapin, N. Lailerd, D. Amonlerdpison and C. Srimaroeng. 2012. *Spirogyra neglecta* effect attenuates hyperglycemia-induced oxidative stress in Type 2 diabetic rat kidneys, 1st ASEAN Plus Three Graduate Research Congress, Thailand. HS 351-356.

Oyaizu, M., 1986. Studied on product of browning reaction prepared from glucose amine. **Jpn. J. Nutr.** 44: 307-315.

Pardeike, J., A. Hommoss and R.H. Muller. 2009. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **Int. J. Pharm.** 366: 170-184.

Pardeike, J. and R.H. Müller. 2007. Coenzyme Q₁₀-loaded NLCs: preparation, occlusive properties and penetration enhancement. **Pharmaceut Tech Eur.** 19(7): 46-49.

Parveen, S., R. Misra and S.K. Sahoo. 2012. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. **Nanomed. Nanotech. Biol. Med.** 8: 147-166.

Pokharkar V.B., P.B. Shekhawat, V.V. Dhapte, L.P. Mandpe. 2011. Development and optimization of eugenol loaded nanostructured lipid carriers for periodontal delivery. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci.** 3(4): 138-143.

Prieto, P., M. Pineda and M. Aguilar. 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of phophomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem.** 1999: 337-341.

Purohit, D.K., T.D. Tanaji, S.S. Poddar. 2016. Nano-lipid Carriers for Topical Application: Current Scenario. **Asian j. pharm.** 9(5): S1-S9.

Qiu, L., L. Yang, H. Zhou, M. Long, W. Jiang, D. Wang and X. Zhang. 2012. Encapsulation of oxaliplatin in nanostructured lipid carriers-preparation, physicochemical characterization and *in vitro* evaluation. **Asian. J. Pharm. Sci.** 7(5): 352-358.

Radmer, R.J. and B.C. Parker. 1994. Commercial applications of algae: opportunities and constraints. **J. Appl. Phycol.** 6(2): 93-98.

Raja Kannan, R.R., R. Arumugam, P. Anantharaman. 2010. *In vitro* antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (L.F.) Royle. **Asian. Pac. J. Trop. Med.** 3(11): 898-901.

Roidaki, A., P.G. Zoumpoulakis, and C. Proestos. 2015. Comparison of extraction methods for the determination of antioxidant activity in extracts of *Hippophae Rhamnoides L.* and *Lippia Citriodora*. The effect of seasonal collection. **Austin. J. Nutri. Food. Sci.** 3(1): 01-08.

Sahu, A.N., S.B. Jha, S.D. Dubey. 2011. Formulation & evaluation of curcuminoid based herbal face cream. **Indo-Glo. J. Pharma. Sci.** 1(1): 77-84.

Satthanakul, P. and W. Khunkitti. 2011. Potential of clove oil on *in vitro* antioxidant activity and factors affecting oil encapsulation efficiency in solid lipid particles. **KKu. Res. J.** 16(5): 504-516.

Shahgaldian, P., L. Quattrocchi, J. Gualbert, A.W. Coleman and P. Goreloff. 2003. AFM imaging of calixarene based solid lipid nanoparticles in gel matrices. **Eur J Pharm Biopharm.** 55(1): 107-13.

Shanab, S.M.M., E.A. Shalaby, E.A. El-Fayoumy. 2011. *Enteromorpha compressa* exhibits potent antioxidant activity. **J. Biomed. Biotechnol.** 2011:1-12.

Shanmugam, J., K. Raman, S. Viswanathan, T. Nallamuthu. 2013. Antibacterial and antioxidant activity of red seaweeds from Kilakarai, Rameswaram, Tamilnadu, India. **J. Pharm. Biomed. Sci.** 32(32): 1386-1395.

Sivakumar, K., S.V. Rajagopal. 2011. Radical scavenging activity of green algal species. **J. Pharm. Res.** 4: 723-725.

Somanah, M.J., N. Abdoulraman, R. Bhagooli, O.I. Aruoma and T. Bahorun. 2012. Assessment of phenolic content and antioxidant activities of Shallow-Water nacroalgae from Mauritius. **Univ. Mau. Res. J.** 18A: 28-53.

Soo, J.H., S.H. Cha, K.W. Lee, Y.J. Jeon. 2006. Antioxidant activities of red algae from Jeju Island. **Algae.** 21(1): 149-156.

Souto, E.B., S.A. Wissing, C.M. Barbosa and R.H. Müller. 2004. Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel formulations. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 58(1): 83-90.

Sreenivasan, S., I. Darah, M.N. Kassim. 2007. Free radical scavenging activity and total phenolic compounds of *Gracilaria changii*. **Int. J. Nat. Eng. Sci.** 1(3): 115-117.

Stanley, N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan in McHugh, D.J. ed. **Production and utilization of products from commercial seaweeds.** FAO Fisheries Technical Paper (FAO). 288: 116-146.

Sudha, K., K. Mohana Priya, N.V. Kumari, V. Palanichamy. 2014. Screening of antioxidant potential of green alga *Codium adhaerens*. **Int. J. Drug Dev. & Res.** 6(4): 103-111.

Sultana, B. F. Anwar, and M. Ashraf. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. **Molecules.** 14: 2167-2180.