



การพัฒนาสารสกัดจากรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

**DEVELOPMENT OF LICORICE ROOT EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**



วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต
ปีการศึกษา 2562



**DEVELOPMENT OF LICORICE ROOT EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**

BY

NUTCHANAT KONGTRAB



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ORIENTAL MEDICINE
COLLAGE OF ORIENTAL MEDICINE**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2019**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การพัฒนาสารสกัดจากรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

โดย

นุชนารถ คงทรัพย์

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
มหาวิทยาลัยรังสิต
ปีการศึกษา 2562

รศ.ดร.พิมล เรียนวัฒนา
ประธานกรรมการสอบ

ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา
กรรมการ

ดร.นันทพงศ์ จำทอง
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ.ร.ต.หญิง ดร.วรรณิ์ สุขสาตร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
6 กันยายน 2562

Thesis entitled

**DEVELOPMENT OF LICORICE ROOT EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**

by

NUTCHANAT KONGTRAB

was submitted in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Master of Science in Oriental Medicine

Rangsit University

Academic Year 2019

Assoc. Prof. Pimon Rienwatana, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Asst. Prof. Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D.
Member

Nanthaphong Khamthong, Ph.D.
Member and Advisor

Approved by Graduate School

(Asst.Prof.Plt.Off. Vanee Sooksatra, D.Eng.)

Dean of Graduate School

September 6, 2019

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา และดร.นันทพงศ์ จำทองวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และให้ข้อคิดเห็นต่าง ๆ ในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการชี้แนะแนวทางแก้ไขจุดบกพร่องเพื่อให้ผลงานการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงและมีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยรังสิตที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเครื่องมือ อุปกรณ์ในการทำงานวิจัย และคำแนะนำต่าง ๆ ในการใช้เครื่องมือการทดสอบต่าง ๆ

และขอขอบคุณมหาบัณฑิตเพื่อนร่วมวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออกทุก ๆ คน ที่ให้คำแนะนำและกำลังใจเกี่ยวกับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจทั่วไปที่จะนำองค์ความรู้ในงานวิจัยนี้ไปพัฒนาต่อเพื่อให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

นุชนารถ คงทรัพย์

ผู้วิจัย

6006372 : MAJOR: ORIENTAL MEDICINE; M.Sc. (ORIENTAL MEDICINE)

KEYWORDS : NANOEMULSION, LICORICE ROOT EXTRACT, SURFACTANT

**NUTCHANAT KONGTRAB: DEVELOPMENT OF LICORICE ROOT
EXTRACT IN NANOEMULSION FORM. THESIS ADVISOR: NANTHAPHONG
KHAMTHONG, Ph.D., 62 p.**

The objective of this research was to develop licorice root extract in nanoemulsion form. The research process was started with the preparation of basic formulation which was composed of surfactants (Tween20 and Tween80), co-surfactants (ethanol and propanol), essential oils (tea tree oil and orange oil) and water. After that, licorice root extract with a concentration of 2 % w/w was added to each formula using ternary phase diagrams. Then, the particle size of the emulsion was reduced with a sonicator. Next, particle size, polydispersity index (PDI) and zeta potential of each formula were measured. From the results, it was found that the particle sizes were in the range of 191.40 to 1412.33 nm while the PDIs were observed between 0.265 and 0.539. In addition, the zeta potentials were in the range of -1.31 to 2.34 mV. In summary, the best formulation was the formula containing tea tree oil : Tween80 + ethanol : water in a ratio of 6 : 3 : 1 with the particle size of 241.70 nm, PDI of 0.265 and zeta potential of -3.69 mV.

6006372 : สาขาวิชาเอก: การแพทย์แผนตะวันออก; วท.ม. (การแพทย์แผนตะวันออก)

คำสำคัญ : นาโนอิมัลชัน, สารสกัดรากชะเอมเทศ, สารลดแรงตึงผิว

นุชนารถ คงทรัพย์: การพัฒนาสารสกัดจากรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน
(DEVELOPMENT OF LICORICE ROOT EXTRACT IN NANOEMULSION FORM)

อาจารย์ที่ปรึกษา: ดร.นันทพงศ์ จำทอง, 62 หน้า.

การวิจัยนี้มีเป้าหมายในการพัฒนาสารสกัดจากรากชะเอมเทศให้อยู่ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน โดยขั้นตอนการวิจัยเริ่มจากการเตรียมสูตรตำรับพืชนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิว (Tween20 และ Tween80) สารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol และ Propanol) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil และ Orange Oil) และน้ำ เติมสารสกัดรากชะเอม 2% w/w ลงไปในอัตราส่วนที่ได้จากการศึกษาเฟสไดอะแกรม นำไปลดขนาดด้วยเครื่อง Sonicator จากนั้นนำไปวัดขนาดอนุภาค ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PDI) และค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา ซึ่งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 191.40 ถึง 1412.33 nm ค่าการกระจายตัวของอนุภาค อยู่ในช่วง 0.265 ถึง 0.539 และมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาอยู่ในช่วง -1.31 ถึง 2.34 mV พบว่า สูตรที่ดีที่สุดคือ สูตร Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water ในอัตราส่วน 6 : 3 : 1 ซึ่งมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 241.70 nm ค่าการกระจายตัวของอนุภาค เท่ากับ 0.265 และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -3.69mV

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1	
บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 สมมติฐานงานวิจัย	2
1.3 คำถามงานวิจัย	2
1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.7 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.8. นิยามศัพท์	4
บทที่ 2	
ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ชะเอมเทศ	5
2.2 ผิวหนัง	9
2.3 นาโนอิมัลชัน	11
2.4 TernaryPhase Diagram	16
2.5 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)	16
2.6 การทดสอบการซึมผ่าน	18
2.7 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation of Analytical Procedures)	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	23
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	23
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	24
3.3 การวิเคราะห์สารสกัดชะเอมเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)	25
3.4 การเตรียมสูตรตำรับ	25
3.5 การเพิ่มสารสกัดรากชะเอมเทศลงในสูตรตำรับ	26
3.6 การวัดขนาดอนุภาคและค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา	26
3.7 การทดสอบการซึมผ่านตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสารสกัดรากชะเอมเทศด้วยPhosphate Buffer (PBS) pH. 7.4	26
3.8 การเตรียมเครื่อง Franz diffusion cell	27
3.9 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร Glycyrrhizic Acid ในตำรับนาโนอิมัลชันด้วยวิธี Reversed Phase HPLC Chromatography	27
บทที่ 4 ผลการวิจัย	29
4.1 การพัฒนาสูตรตำรับที่เหมาะสมในรูปแบบนาโนอิมัลชัน	29
4.2 การวัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค Polydispersity Index (PDI)และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential)	31
4.3 การทดสอบการซึมผ่านของสารGlycyrrhizic Acid ที่อยู่ในตำรับนาโนอิมัลชันด้วยวิธี Franz Diffusion Cells	35
4.4 การวิเคราะห์สารGlycyrrhizic Acidด้วยวิธี HPLC	37
บทที่ 5 การอภิปราย สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	42
5.1 การอภิปรายผล	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.2 สรุปผลการวิจัย	43
5.3 ข้อเสนอแนะ	45
บรรณานุกรม	46
ภาคผนวก	49
ประวัติผู้วิจัย	62



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95:5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95:5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ)	31
4.2 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ)	32
4.3 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w)	33
4.4 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w)	34
4.5 ผลทดสอบการซึมผ่านด้วยวิธี Franz Diffusion Cells	36
4.6 แสดงค่าเฉลี่ยของ Peak Area ที่มีความเข้มข้นของสาร Glycyrrhizic Acid ตั้งแต่ 0.2-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	38
4.7 ผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision จำนวน 6 ครั้ง	39
4.8 ผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision จำนวน 12 ครั้ง	40

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
2.1 ลักษณะของชะเอมเทศ	5
2.2 ขั้นตอนสังเคราะห์และโครงสร้างทางเคมี Glycyrrhizic Acid จากชะเอมเทศ	6
2.3 โครงสร้างผิวหน้า	9
2.4 ลักษณะของนาโนอิมัลชัน	12
2.5 Ternary Phase Diagram	16
2.6 ส่วนประกอบของ DLS	18
2.7 Franz Diffusion Cell	19
2.8 HPLC	21
4.1 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Tea Tree Oil : Tween20 : Water	29
4.2 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Orange Oil : Tween20 : Water	30
4.3 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Tea Tree Oil : Tween80 : Water	30
4.4 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Orange Oil : Tween80 : Water	31
4.5 กราฟแสดงปริมาณการสะสมของสาร Glycyrrhizic Acid ที่สามารถซึมผ่านแผ่น เซลลูโลส อะซิเตทของสูตรตำรับ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6: 3: 1)	36
4.6 กราฟแสดงปริมาณการสะสมของสาร Glycyrrhizic Acid ที่สามารถซึมผ่านแผ่น เซลลูโลส อะซิเตทของสูตรตำรับ Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4: 4: 2)	37
4.7 แสดง HPLC Chromatogram ของสาร Glycyrrhizic Acid	38
4.8 แสดง Calibration Curve ของสาร Glycyrrhizic Acid ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.2-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	39
4.9 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำการวิเคราะห์ของสาร Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision	40
4.10 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำการวิเคราะห์ของสาร Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision	41

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันมนุษย์ให้ความสำคัญกับร่างกายและความงามมากกว่าในอดีตทั้งเพศหญิงและเพศชาย ทำให้เครื่องสำอางเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันมากขึ้น จึงส่งผลให้อุตสาหกรรมเครื่องสำอางของประเทศไทยเจริญเติบโตขึ้นเฉลี่ย 10-20 % ต่อปี และยังมีการพัฒนาเทคโนโลยีและส่วนผสมในการผลิตอีกด้วย (Krungsri guru, 2017) รวมทั้งกระแสความนิยมสมุนไพรก็เพิ่มขึ้น โดยการนำสมุนไพรต่าง ๆ มาใช้เป็นยารักษาโรค ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง เนื่องจากสมุนไพรจะให้ความรู้สึกที่ปลอดภัยต่อร่างกาย ไม่เป็นอันตราย และสามารถใช้นatural ได้ (รพีพร จันทูมา, 2556) ทั้งนี้ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra* L.) เป็นสมุนไพรที่น่าสนใจ เพราะมีคุณสมบัติในหลาย ๆ ด้าน ซึ่งชะเอมเทศเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 1-2 เมตร มีรสหวานและมีสรรพคุณ แก้ไอ ขับเสมหะ ทำให้ชุ่มคอ ขับเลือดเน่า บำรุงหัวใจให้ชุ่มชื้น แก้กามโรคให้เป็นปกติ (Specialty Natural Products, 1999) และในรากชะเอมเทศมีสารเคมีหลายชนิด เช่น Glabridin และ Glycyrrhizic Acid ที่มีฤทธิ์ช่วยต้านอนุมูลอิสระฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบของผิว จึงช่วยลดจุดด่างดำ ฝ้า กระได้ดี และยังมีงานวิจัยจากสถาบันโรคมะเร็งแห่งชาติในสหรัฐ พบว่าสารสกัดจากชะเอมเทศช่วยป้องกันการทำลายของรังสียูวี ลดผลกระทบจากแดดเผาได้ (Greenclinic, 2018)

ในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับสมุนไพรในหลายรูปแบบ เพื่อให้การนำส่งหรือการซึมของสารไปยังเซลล์เป้าหมายได้ผลดีที่สุด ซึ่งการนำเทคโนโลยีมาใช้กับวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์สุขภาพและความงาม สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสารสำคัญ ความคงตัว และการดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง (วรารักษ์ ชัยนฤมล, 2560) จึงมีการใช้นาโนเทคโนโลยีกันอย่างแพร่หลาย และจากข้อมูลที่ได้ศึกษามานี้ทำให้ผู้ศึกษาที่มีความสนใจที่จะเตรียมนาโนอิมัลชันที่มีส่วนผสมของสารสกัดรากชะเอมเทศ เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อ และวิเคราะห์สารเพื่อนำไปใช้อุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางต่อไป

1.2 สมมติฐานงานวิจัย

ความคงตัวของนาโนอิมัลชันในสูตรตำรับจากสารสกัดรากชะเอมเทศที่มีขนาดเล็ก ระดับนาโนเมตรและมีศักย์ไฟฟ้าซีตาที่เสถียร การกระจายตัวดี มีความสามารถในการปลดปล่อย สารสำคัญและสามารถซึมผ่านทางผิวหนังได้ดี สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตยาและ เครื่องสำอางที่มีประสิทธิภาพการนำพาสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ได้

1.3 คำถามงานวิจัย

การศึกษาครั้งนี้สามารถเตรียมสารสกัดจากรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชันได้หรือไม่

1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.4.1 เพื่อศึกษาการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดรากชะเอมเทศ
- 1.4.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการซึมผ่านเนื้อเยื่อสังเคราะห์ของสารสกัดรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน
- 1.4.3 เพื่อวิเคราะห์สารสกัดรากชะเอมเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบของเหลว สมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)
- 1.4.4 เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ชะเอมเทศ และเพื่อเป็นแนวทางให้ผู้ที่สนใจนำผลการศึกษาไปพัฒนาต่อไป

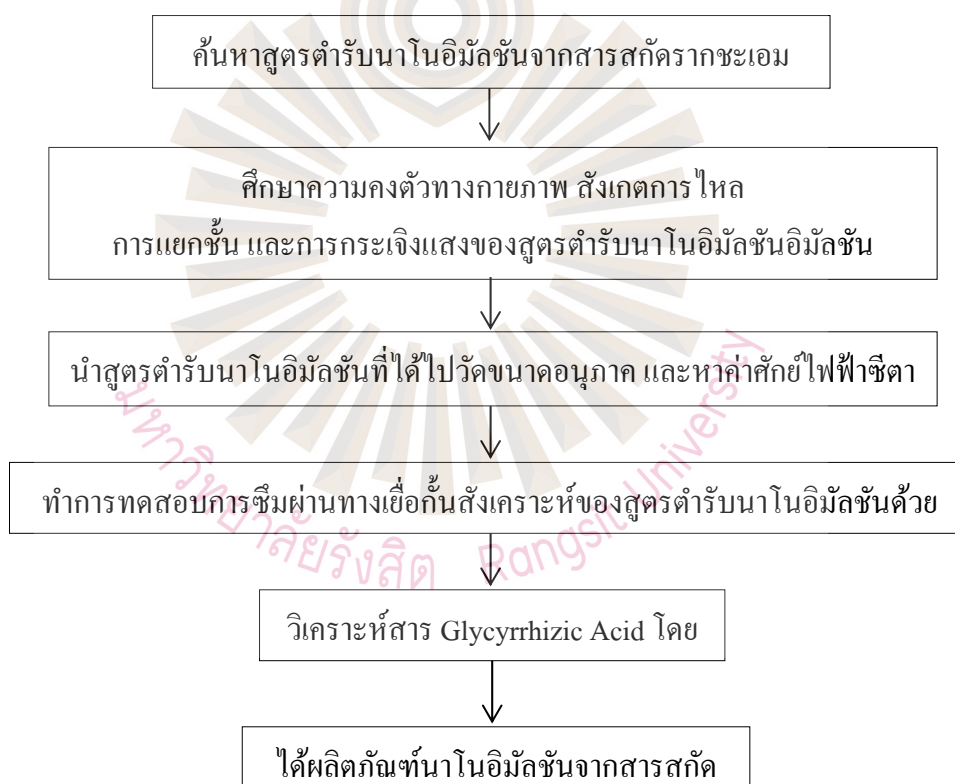
1.5 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้ เพื่อพัฒนาสารสกัดจากรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (Tween20 และ Tween80) สารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol และ Propanol) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil และ Orange Oil) และน้ำ จากนั้นนำมาวัดขนาดอนุภาคการกระจายขนาดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา ทดสอบการซึมผ่านผิวหนังด้วยวิธี Franz Diffusion Cells วิเคราะห์สารสำคัญด้วยวิธี HPLC

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.6.1 ได้พัฒนาสารสกัดรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชัน
- 1.6.2 ได้สารสกัดรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่มีประสิทธิภาพในการซึมผ่านผิวหนังที่ดี
- 1.6.3 ได้ทราบวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Glycyrrhizic Acid ด้วยวิธี HPLC
- 1.6.4 ได้พัฒนาสารสกัดรากชะเอมเทศในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

1.7 กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.8. นิยามศัพท์

สารสกัดรากชะเอมเทศ นำรากชะเอมเทศสดหยาบ 100 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ จากนั้นใส่ตัวทำละลายเอทานอล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 100 มิลลิลิตร ลงไป คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ คนส่วนผสมทั้งหมดทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เมื่อครบกำหนดแล้วกรองสารละลายและนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator เทสารสกัดที่ระเหยได้แล้วลงใน Evaporating Dish นำไปตั้งไฟให้ความร้อน เพื่อระเหยตัวทำละลายที่เหลือออก

นาโนอิมัลชัน ระบบการกระจายตัวของน้ำมันในน้ำที่มีขนาดเล็กกว่าไมครอน โดยขนาดของหยดอนุภาคอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตร มีลักษณะโปร่งใสหรือค่อนข้างใสจนมีสีออกฟ้า และทำให้มีความคงตัวโดยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจัดเรียงตัวเป็นชั้นเดียว ห่อหุ้มน้ำมันที่เป็นของเหลวไว้ตรงกลาง

สารลดแรงตึงผิว สารที่เมื่อละลายน้ำแล้วจะช่วยลดแรงตึงผิวของน้ำ มีคุณลักษณะที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนหัวเป็น Hydrophilic เป็นส่วนที่ชอบน้ำ สามารถรวมกับน้ำได้ดี และส่วนหางเป็น Hydrophobic ไม่สามารถรวมกับน้ำได้แต่สามารถรวมกับน้ำมันได้ดี

Sonication วิธีการที่ทำให้อนุภาคโมเลกุลแตกสลายหรือมีขนาดเล็กลง โดยใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่มากกว่า 20 kHz

HPLC วิธีการที่ใช้ในการแยกสารผสมที่อยู่ในสถานะของของเหลวที่อาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่ผ่านในคอลัมน์ (เฟสที่อยู่กับที่) โดยการชะหรือการพาของเฟสที่เคลื่อนที่

Franz Diffusion Cell วิธีการทดสอบความสามารถในการซึมผ่านหรือการปลดปล่อยสารสำคัญทางยา และเครื่องสำอางผ่านผิวหนังสิ่งมีชีวิตหรือผิวหนังสังเคราะห์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชะเอมเทศ



รูปที่ 2.1 ลักษณะของชะเอมเทศ

ที่มา : Intiponcheme, 2010

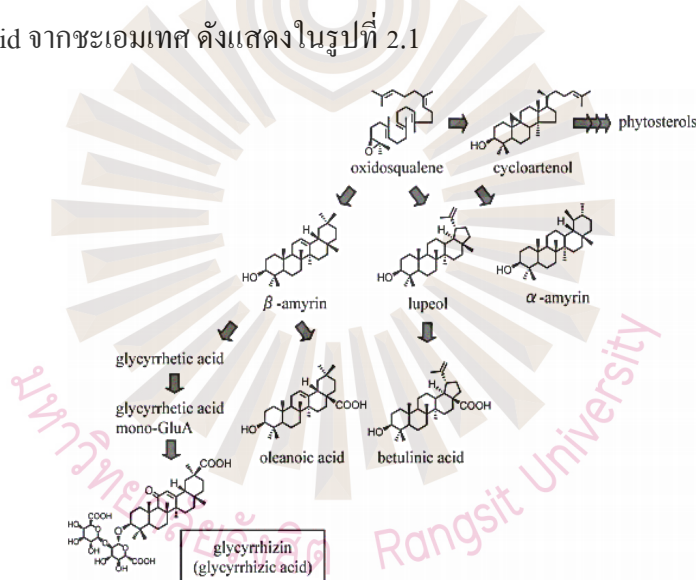
ชื่อสมุนไพร	ชะเอมเทศ
ชื่ออื่น ๆ	กำเช่า กำเช่า (จีน-แต้จิ๋ว), ก้นเผ้า (จีนกลาง), ชะเอมจีน
ชื่อสามัญ	Licorice, Chinese Licorice, Russian Licorice, Spanish Licorice
ชื่อวิทยาศาสตร์	Glycyrrhiza glabra L.
วงศ์	FABACEAE หรือ LEGUMINOSAE

2.1.1 ลักษณะของชะเอมเทศ

ชะเอมเทศเป็นไม้พุ่มล้มลุก ลำต้นสูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นและก้านใบมีขนปกคลุม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกเรียงสลับกัน มีใบย่อยประมาณ 9-17 ใบ ก้านใบย่อยจะสั้นมาก มีสีเขียวอมเหลือง ช่อดอกยาว กลีบดอกเป็นสีน้ำเงินอ่อนถึงสีม่วง ผลมีลักษณะเป็นฝักแบนคล้ายถั่ว ผิวภายนอกมีลักษณะเรียบเกลี้ยงหรือมีขนแข็ง ฝักอ่อนจะมีสีเขียวเมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแตกออกเมล็ดมีลักษณะกลมสีน้ำตาลแก่ (Kaijeaw, 2016)

2.1.2 สารพืชมของชะเอมเทศ

ชะเอมเทศเป็นสมุนไพรที่นำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยสรรพคุณพื้นบ้านใช้รากเป็นยาขับเสมหะทำให้ชุ่มคอ แก้ไอ แก่น้ำลายเหนียว แก้คอแห้ง ขับลม แก้คัน บำรุงร่างกาย ขับเลือดเน่า และเจริญซึ่งหทัยวาตะให้สดชื่น เนื่องจากรากของชะเอมเทศพบสารสำคัญคือ สาร Glycyrrhizin (หรือ Glycyrrhizic Acid หรือ Glycyrrhizinic Acid) และ 24-Hydroxyglycyrrhizin ซึ่งสารเหล่านี้สามารถให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลทราย 50-100 เท่า รากชะเอมจึงถูกนำไปแต่งรสอาหารปรุงยาสมุนไพร หรือใช้แต่งรสหวานในขนมและลูกอม (มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2554) นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญอื่น ๆ นับร้อยชนิด เช่น สารไฟโตเอสโตรเจน และฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้านการอักเสบของผิว จึงช่วยลดจุดด่างดำ ฝ้า กระ บนใบหน้าได้ดี โดยมีขั้นตอนสังเคราะห์และโครงสร้างทางเคมี Glycyrrhizic Acid จากชะเอมเทศ ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนสังเคราะห์และ โครงสร้างทางเคมี Glycyrrhizic Acid จากชะเอมเทศ

ที่มา: Kojoma et al., 2010

2.1.3ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของชะเอมเทศ

ตำรับยาที่ประกอบด้วยสารสกัดรากชะเอมเทศกับสารสกัดหนอนตายหยา และน้ำมันกานพลู จืดเข้าช่องท้องหนูขาว พบว่าสามารถระงับการไอได้ อีกทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia* และ β -*Streptococcus* Group B และเมื่อทดสอบตำรับที่มีชะเอมเทศเป็นส่วนประกอบ ขนาด 1 ก./กก. ทดสอบในหนูตะเภาที่ได้รับควินบุรี่ซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำให้

เกิดอาการไอลด้วย Capsaicin พบว่า สามารถระงับอาการไอลได้ (มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2554)

รากชะเอมเทศไม่ระบุขนาดรับประทาน สามารถลดการอักเสบในคน และหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วย Carrageenan หรือ α -Chymotrypsin ส่วนสารสกัดบิวทานอล อีเทอร์ และน้ำต้มจากรากขนาด 20 ก./กก. และไม่ระบุขนาด ทำการทดสอบโดยให้น้ำต้มชะเอมเทศทางสายยางเข้าสู่กระเพาะอาหารหนูขาวซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยฟอร์มัลลิน และทดสอบด้วยวิธี Albumin Stabilizing พบว่า สามารถลดการอักเสบได้

เมื่อนำยาชงจากตำรับที่มีชะเอมเทศเป็นส่วนประกอบ ไม่ระบุขนาดรับประทาน พบว่า สามารถลดการอักเสบในคนได้ และสารสกัดตำรับที่มีชะเอมเทศเป็นส่วนประกอบ ไม่ระบุขนาด ทดสอบในหนูขาวซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยอีสดามีน พบว่าสามารถต้านการอักเสบได้

นอกจากนี้ สารสกัดน้ำร้อนและเอทานอล 95% ขนาด 18 มก./กก., 180 และ 500 มก./กก., 100 และ 200 มก./กก., 1.1 ก./กก., 350 มก./กก. และไม่ระบุขนาด ทำการทดสอบในหนูขาว หนูถีบจักร และหนูเผือก โดยป้อนทางปากให้ทางสายยางเข้าสู่กระเพาะอาหาร และฉีดเข้าช่องท้อง ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วย Carrageenan, Dextran, Paw Immersion ในน้ำร้อน, ก้อนสำลีและ Adjuvant พบว่า สามารถลดการอักเสบได้ และเมื่อให้ยาชงกับสารสกัดน้ำร้อนจากตำรับที่มีชะเอมเทศเป็นส่วนประกอบ ขนาด 100 มก./กก. ทางสายยางเข้ากระเพาะอาหารของหนูขาวหรือหนูถีบจักร ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วย Carrageenan, Dextran, Paw Immersion ในน้ำร้อน, Adjuvant ก้อนสำลี และ Mustard พบว่า ไม่สามารถลดการอักเสบได้

สารสกัดเอทานอล 95% จากเหง้าแห้งและราก ความเข้มข้น 25 มก./หลุม ทดสอบในจานเพาะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis* และ *Streptococcus pyogenes* พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ แต่ก็พบว่าบางการทดลอง เมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* สามารถต้านเชื้อได้เพียงเล็กน้อย

และยังมีรายงานผลการทดลองว่าควรระมัดระวังการรับประทานชะเอมเทศในผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูง หรือภาวะโพแทสเซียมต่ำ ไม่ควรใช้ชะเอมเทศในขนาดที่มากกว่า 50 กรัมต่อวัน เกิน 6 สัปดาห์ ทำให้เกิดน้ำในร่างกาย เกิดอาการบวมที่มือและเท้า สารโซเดียมถูกขับออกน้อย ขณะที่สารโพแทสเซียมถูกขับมากขึ้น ส่งผลให้ความดันโลหิตสูงขึ้น และไม่ควรรใช้ชะเอมเทศ

ร่วมกับยาขับปัสสาวะ (กลุ่ม Thiazide) หรือยากกลุ่ม Cardiac Glycoside เพราะชะเอมเทศจะมีผลทำให้สารโพแทสเซียมถูกขับออกมาขึ้น และหลีกเลี่ยงการใช้ร่วมกับยาขับปัสสาวะ Spironolactone หรือ Amiloride เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพการรักษาโรคความดันโลหิตลดลง (มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2554)

นอกจากนี้เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์จากชะเอมเทศติดต่อกันนานๆ มีผลต่อความดันโลหิต โดยมีรายงานว่าหญิงอายุ 31 ปีรับประทานฝรั่งจิมผงชะเอมเทศ (Asam Boi) ครั้งละน้อยๆ จนถึง 3 ขอนโต๊ะ อย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกันนาน 6 สัปดาห์ ชายสูงอายุวัย 70 ปี ที่รับประทานลูกอมชะเอมเทศวันละ 60-100 ก. (เม็ดละ 2.5 ก. พบ Glycyrrhizic Acid 0.3% ต่อเม็ด) ทุกวันเป็นเวลา 4-5 ปี หญิงสูงอายุที่รับประทานยาระบายที่มีส่วนผสมของชะเอมเทศ วันละ 2 ครั้ง (ได้รับ Glycyrrhizic Acid 94 มก./วัน) และหญิง 2 รายที่รับประทานหมากฝรั่งที่มีส่วนผสมของชะเอมเทศ ติดต่อกันทุกวัน (รับประทาน Glycyrrhizic Acid เฉลี่ยวันละ 50 มก.) ทุกรายถูกนำส่งโรงพยาบาลเนื่องจากมีค่าความดันโลหิตสูง (190-200/120 มม.ปรอท) ร่วมกับมีอาการปวดหัว อ่อนแรงตามข้อต่อ และเมื่อตรวจเลือดพบว่า ทุกรายมีปริมาณโพแทสเซียมต่ำ (Hypokalemia) เกิดภาวะ Hypermineralocorticoidism ทำให้ระดับ Aldosterone เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร่างกายกักเก็บโซเดียมไว้มากขึ้น จนร่างกายมีน้ำเกิน เกิดอาการบวมและเพิ่มความดันโลหิต) และมีรายงานในอาสาสมัคร 37 คน ที่รับประทานยาสมุนไพรในประเทศญี่ปุ่น Shakuyaku-kanzo-To (SKT) หรือ Shosaiko-To (SST) ซึ่งมีส่วนผสมของชะเอมเทศขนาด 6 ก. และ 1.5 ก. ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่รับประทาน SKT เกิดภาวะ Pseudoaldosteronism (ภาวะที่มีปริมาณฮอร์โมน Aldosterone สูงกว่าปกติ) เฉลี่ยในวันที่ 35 หลังจากรับประทาน ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ SST ผลจะแสดงออกในวันที่ 45 และเมื่อเทียบกับการรับประทานผลิตภัณฑ์อื่นจากชะเอมเทศที่มี Glycyrrhizin พบว่าจะมีผลในวันที่ 210 โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Glycyrrhizin กับการเกิด Pseudoaldosteronism อย่างมีนัยสำคัญ และพบว่ามากกว่า 80% ของผู้ที่รับประทาน SKT ติดต่อกันนาน 30 วัน มีผลโพแทสเซียมในเลือดต่ำ เป็นผู้สูงอายุที่มีอายุเกิน 60 ปี จึงอาจสรุปได้ว่าผู้สูงอายุที่รับประทาน SKT เกิน 30 วัน เสี่ยงต่อการเกิดโพแทสเซียมในเลือดต่ำได้ (มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2554)

และการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ที่เจริญแบบอิสระจากสารสกัดชะเอมเทศในตัวทำละลายเอทานอลด้วยวิธี Disc Diffusion Method พบว่าที่ความเข้มข้น ≥ 0.78 มก./มล. เกิดโซนยับยั้งเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 6.15 ± 0.05 มม. ขณะที่ยา Vancomycin ที่ความเข้มข้น 0.03 มก./มล. เกิดโซนขนาด 10.43 ± 0.23 มม. มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง (Minimal Inhibitory

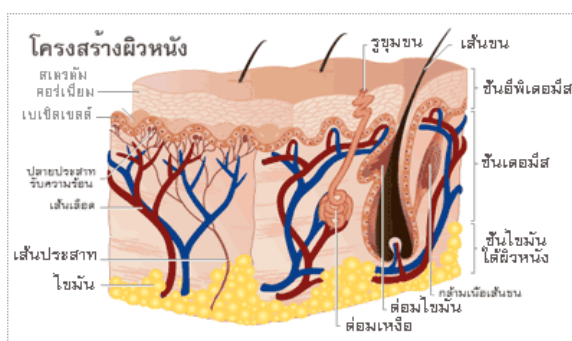
Concentration; MIC)และฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration; MBC)เท่ากับ 0.78 มก./มล. และ 1.56 มก./มล. ตามลำดับ โดยที่สารสกัดชะเอมเทศที่ความเข้มข้น 2 เท่าของค่า MBC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ภายในเวลา 30 นาที ขณะที่ยา Vancomycin ที่ความเข้มข้น 0.03 มก./มล. สามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมด และค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*แบบไบโอฟิล์มคือ 0.78 มก./มล.ขึ้นไป การทดสอบการทำลายเชื้อ *S. aureus*ที่เจริญเป็นไบโอฟิล์มอายุ 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดชะเอมเทศและยา Vancomycin ไม่สามารถกำจัดเชื้อ *S. aureus*ในไบโอฟิล์มได้ทั้งหมด แต่สารสกัดชะเอมเทศที่ความเข้มข้น 50 มก./มล. ให้ผลเทียบเท่ากับการใช้ยา Vancomycin ที่ความเข้มข้น 0.03 มก./มล. (สุทธิพลินทร์ สุวรรณกุล และคณะ, 2557)

2.1.4 ข้อมูลทางคลินิกของชะเอมเทศ

ประเทศญี่ปุ่นมีการศึกษาทางคลินิก พบว่ารากชะเอมเทศช่วยลดระดับเอนไซม์ตับ ทำให้ดีขึ้น รักษาโรคไวรัสตับอักเสบ และรักษาอาการอักเสบได้ทุกประเภท ส่วนนักวิจัยของมหาวิทยาลัยแห่งแคลิฟอร์เนียของสหรัฐอเมริกา ได้พบสารประกอบ 2 ชนิด ในสารสกัดจากรากชะเอมเทศ มีสรรพคุณป้องกันฟันผุจากแบคทีเรีย สเตรปโตคอกคัส มิวแทนส์ได้ อีกทั้งสถาบันโรคมะเร็งแห่งชาติในสหรัฐ พบว่าสารสกัดจากชะเอมเทศช่วยป้องกันการทำลายของรังสียูวี สามารถลดผลกระทบจากแดดเผาได้ และที่สำนักงานวิจัยโรคมะเร็งของอังกฤษเชื่อว่าชะเอมเทศสามารถป้องกันมะเร็งผิวหนังได้ (Nerya et al., 2006)

2.2 ผิวหนัง

2.2.1 โครงสร้างผิวหนัง



รูปที่ 2.3 โครงสร้างผิวหนัง

ที่มา : Plengt, 2015

ผิวหนัง แบ่งได้เป็น 3 ชั้น คือ

1) หนังกำพร้า (Epidermis) เป็นชั้นผิวหนังที่ปกคลุมอยู่บนสุด ประกอบด้วยเซลล์ที่มีการเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ และเกิดใหม่ โดยเซลล์ใหม่จะถูกสร้างจากชั้นล่างสุดติดกับหนังแท้และเจริญเติบโตขึ้นแล้วค่อยๆ เคลื่อนตัวมาทดแทนเซลล์ที่อยู่ชั้นบนจนถึงชั้นบนสุดแล้วกลายเป็นขี้ไคล (Keratin) หลุดลอกไป นอกจากนี้ในชั้นหนังกำพร้ายังมีเซลล์ที่เรียกว่า เมลานิน ปะปนอยู่ด้วย ซึ่งเมลานินจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับบุคคลและเชื้อชาติ จึงทำให้สีผิวของคนแตกต่างกันไป ในชั้นของหนังกำพร้าไม่มีหลอดเลือด เส้นประสาท และต่อมต่างๆ แต่เป็นทางผ่านของรูเหงื่อ เส้นขน และไขมัน

2) หนังแท้ (Dermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นล่างถัดจากหนังกำพร้า แต่หนากว่าหนังกำพร้าและประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิด คือ Collagen และ Elastin ซึ่ง Collagen จะช่วยสร้างความแข็งแรงแก่ผิวหนัง และช่วยในการซ่อมแซมผิวหนังที่บาดเจ็บ หากสร้างในปริมาณมากก็ทำให้เกิดเป็นแผลเป็น ส่วน Elastin จะช่วยสร้างความยืดหยุ่นให้กับผิวหนัง และผิวหนังชั้นนี้เป็นที่อยู่ของหลอดเลือด เส้นประสาท กล้ามเนื้อเกาะเส้นขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และขุมขนกระจายอยู่ทั่วไป

3) ชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Tissue) หรือ ชั้นไขมัน (Subcutaneous) ประกอบด้วยเซลล์ไขมันเป็นหลัก ความหนาขึ้นกับปริมาณไขมันของแต่ละบุคคล ชั้นนี้ทำหน้าที่ให้ความอบอุ่นแก่ร่างกาย คล้ายฉนวนกันความร้อนช่วยลดแรงกระทบกระแทกจากภายนอก และชั้นไขมันที่มีมากโดยเฉพาะบริเวณสะโพก เอว ต้นขา ที่เรียกว่า Cellulite คือไขมันที่มีเนื้อเยื่อคล้ายพังผืดแทรกอยู่ทำให้เกิดการดึงรั้งผิวหนังเห็นเป็นลอนๆ จากภายนอก และการเกิด Cellulite ไม่ขึ้นกับปริมาณของไขมันในร่างกายคนพอมก็มี Cellulite เช่นกัน

2.2.2 หน้าที่ของผิวหนัง

ผิวหนังมีหน้าที่หลัก 3หน้าที่ ได้แก่

- 1) ปกคลุมร่างกาย โดยป้องกันหรือจำกัดการผ่านของสิ่งแวดล้อมภายนอกไม่ให้เข้าสู่ร่างกาย ได้แก่ สารเคมี สารพิษ ความร้อน ความเย็น แสง และรังสีต่างๆ เป็นต้น
- 2) รักษาสมดุลของร่างกาย ได้แก่ ควบคุมอุณหภูมิและความดันภายในร่างกาย เมตาบอลิซึมของเสีย สังเคราะห์สารชีวเคมี แสดงลักษณะเฉพาะบุคคล สีผิว สีผม กลิ่นตัว และดึงดูดอารมณ์ทางเพศ

3) รับความรู้สึก โดยรับสัมผัสจากแรงกด แรงกระแทก ความรู้สึกร้อน-เย็น ความเจ็บปวด และยังแสดงออกถึงอารมณ์ เช่น หน้าแดง เหงื่อตก เป็นต้น

2.2.3 ช่องทางการซึมผ่านผิวหนัง

ช่องทางการซึมผ่านยาหรือสารเคมีเข้าสู่ผิวหนัง มี 3 ช่องทาง คือ

1) ช่องทางผ่านเข้าเซลล์ (Transcellular Route) คือ การที่ยาผ่านเข้าผิวหนังโดยทางเซลล์คอร์นีโอไซต์ในชั้นสตราตัมคอร์เนียมแล้วถูกดูดซึมผ่านเซลล์ชั้นต่างๆ และต้องผ่านทั้งส่วนที่ขอบน้ำและขอบน้ำมันสลับกันไป โดยยาที่ละลายในไขมันจะซึมผ่านโปรตีนประเภทเคราติน

2) ช่องทางผ่านท่อและต่อม (Appendageal Route) คือ การซึมผ่านของสารผ่านท่อและต่อม ประกอบด้วย ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน และทางท่อเปิดของรูขุมขน ช่องทางนี้ยาสามารถซึมผ่านได้สูง แต่พื้นที่ซึมผ่านคิดเป็น 0.1% ของผิวหนังทั้งหมดเท่านั้น ช่องทางนี้จึงเหมาะสำหรับไอออนและสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่

3) ช่องทางผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ (Intracellular Route) คือ การซึมผ่านทางช่องว่างระหว่างเซลล์ในชั้นสตราตัมคอร์เนียมซึ่งมีไขมันที่มีขั้วหลายชนิดเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ และมีน้ำเก็บอยู่ภายใน สารที่ซึมผ่านจะต้องไม่ละลายดีจนเกินไป ดังนั้นยาที่ผ่านช่องทางนี้ควรมีความสมดุลระหว่างการละลายในน้ำและน้ำมัน ซึ่งค่าที่ซึมผ่านดีควรมีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาคระหว่างน้ำและน้ำมันประมาณ 1 (กัทธิดา เมฆจรสกุณ, ม.ป.ป.)

2.3 นาโนอิมัลชัน

นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) เป็นระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันน้ำและสารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูงมีลักษณะโปร่งใสหรือค่อนข้างใสจนมีสีฟ้า และมีความคงตัวสูงขนาดของหยดไขมันอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตรและนาโนอิมัลชันมีชื่อเรียกต่างๆ เช่น มินิอิมัลชัน (Miniemulsions) อัลตราไฟน์อิมัลชัน (Ultrafinemulsions) ซับไมครอนอิมัลชัน (Sub-micron Emulsions) อิมัลชันเนื้อเดียว (Homogeneous Emulsions) ไมโครอิมัลชันไม่คงตัว (Unstable Microemulsions) และอิมัลชันโปร่งแสง (Translucent Emulsions) เป็นต้น ซึ่งนาโนอิมัลชันสามารถคงรูปอยู่ได้จากผิวฟิล์มของสารลดแรงตึงผิวดังแสดงในรูปที่ 4 โดยสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้คือกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (Nonionic Surfactants) และกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบ (Zwitterionic

Surfactants) ตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำ สามารถนำส่งด้วยระบบนี้ได้ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวในตำรับสามารถทำปฏิกิริยากับไขมันที่อยู่ระหว่างเซลล์ของผิวหนังทำให้สามารถเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญผ่านผิวหนังและในส่วนของวัฏภาคไขมันสามารถทำให้เกิดการปกคลุมผิวเมื่อทาลงบนผิวหนังโดยทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นขึ้น ส่วนอนุภาคอิมัลชันจะยุบตัวไปกับส่วนประกอบของผิวหนัง ทั้งนี้ นาโนอิมัลชันมีข้อดีกว่าอิมัลชันทั่วไปคือเป็นอิมัลชันที่มีความคงตัวทางจลนศาสตร์ (Kinetically Stable) ทำให้ไม่พบการรวมตัวกันของอนุภาคแบบโคแอกกูเลชัน (Coagulation) และฟลอคคูเลชัน (Flocculation) เนื่องจากขนาดหยดที่เล็กของนาโนอิมัลชันจึงมีการเคลื่อนไหวแบบบราวน์เนียนทำให้เกิดอัตราการแพร่ที่สูงกว่าอัตราการตกตะกอนหรืออัตราการเกิดคริมที่เกิดโดยแรงโน้มถ่วงโดยระบบนาโนอิมัลชันเป็นระบบที่มีอนุภาคในระดับนาโนเช่นเดียวกับไมโครอิมัลชันแต่จะมีความแตกต่างกันในด้านความคงตัวทางอุณหภูมิวัตเนื่องจากนาโนอิมัลชันมีความคงตัวทางอุณหภูมิวัตต่ำและเกิดขึ้นเองไม่ได้ต้องใช้พลังงานในการเตรียม



รูปที่ 2.4 ลักษณะของนาโนอิมัลชัน

ที่มา : คัดแปลงมาจาก Venugaranti & Perumal., 2009

Puglia และคณะได้ทำการศึกษา นาโนอิมัลชัน ในการนำส่ง Glycyrrhetic Acid ซึ่งมีฤทธิ์ลดการระคายเคืองลดอาการแดงของผิวหนังและมีฤทธิ์ต้านการอักเสบใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยาและเครื่องสำอางผลการศึกษาพบว่านาโนอิมัลชันสามารถเพิ่มการนำส่ง Glycyrrhetic Acid ผ่านผิวหนังได้ดีกว่าตำรับที่เป็น O/W อิมัลชัน (Puglia et al. 2010)

2.3.1 การเตรียมนาโนอิมัลชัน

นาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ไม่สมดุลจึงไม่สามารถเกิดขึ้นเองได้ดังนั้นในกระบวนการเกิดอิมัลชันต้องอาศัยพลังงานจากเครื่องมือกลหรือศักย์ทางไฟฟ้าของสารประกอบ โดยการเตรียมโดยใช้พลังงานระดับสูง (High Energy) ซึ่งการเตรียมโดยใช้พลังงานระดับสูงทำให้เกิดนาโนอิมัลชันได้ด้วยการปั่นด้วยแรงเฉือนอย่างสูงหรือการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยแรงดันสูง (High-Pressure Homogenization) และการใช้เครื่องกำเนิดคลื่นเหนือเสียง (Ultrasound Generator) เครื่องมือเหล่านี้สามารถให้พลังงานในช่วงเวลาอันสั้นและทำให้อิมัลชันมีการไหลที่สม่ำเสมอ และการปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยแรงดันสูงเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการเตรียมนาโนอิมัลชัน โดยการใช้เครื่องปั่นผสมแรงดันสูง (High-Pressure Homogenizer Pistonhomogenizer) พารามิเตอร์ที่สำคัญคืออุณหภูมิความดันและจำนวนรอบของการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยการกระจายวัฏภาคน้ำมันและวัฏภาคน้ำด้วยการใช้แรงทำให้ผสมเข้าด้วยกันด้วยการผ่านเข้าไปในรูเปิด (Inlet Orifice) ขนาดเล็กด้วยแรงดันสูงมาก (500-5000 psi) ทำให้ได้อิมัลชันที่มีอนุภาคนาโนขนาดเล็กและเป็นของเหลวที่ส่วนแกนของไขมัน (Lipophilic Core) แยกจากส่วนที่เป็นวัฏภาคน้ำจากการมีฟอสโฟลิปิดเรียงตัวเป็นชั้นเดี่ยวล้อมรอบไว้ซึ่งข้อดีของเทคนิคนี้คือเตรียมนาโนอิมัลชันขนาดเล็กมากได้และการกระจายขนาดแคบ (Narrow Size Distribution) รวมถึงมีอัตราการเกิดปรากฏการณ์ที่น้ำมันแพร่ออกจากอนุภาคน้ำมันที่มีขนาดเล็กไปสู่อนุภาคน้ำมันที่มีขนาดใหญ่กว่าต่ำหรือมีอัตราการเกิดออกตวลต์ไรเฟนนิ่ง (Ostwald Ripening rate) ต่ำการเพิ่มปริมาณการผลิตทำได้ง่ายและมีความแปรปรวนในแต่ละครั้งของการผลิตน้อยอีกทั้งมีประสิทธิภาพในการใช้กับสารไม่ทนความร้อน

2.3.2 การประเมินคุณลักษณะของนาโนอิมัลชัน

คุณลักษณะเฉพาะของนาโนอิมัลชันที่นิยมศึกษาได้แก่การศึกษาลักษณะเบื้องต้น (Preliminary Characterization) เช่นการสังเกตด้วยตาเปล่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมงการทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน (Freeze-Thaw Cycling test) ทำอย่างน้อย 5 รอบต่อเนื่องกันและการปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (High Speed Centrifugation) ด้วยความเร็วเริ่มต้นจาก 2000 ไปจนถึง 25,000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีโดยนาโนอิมัลชันต้องมีความคงตัวดีไม่เกิดปัญหาความไม่คงตัวระหว่างการทดสอบการวัดขนาดอนุภาคและการกระจายขนาดอนุภาคเป็นการประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่มีความสำคัญต่อการรับโดยใช้เครื่องมือหลายชนิดเช่นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

(Transmission Electron Microscopy, TEM) เครื่อง Photon Correlation Spectroscopy หรือเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic Light Scattering) โดยทั่วไปขนาดอนุภาคเฉลี่ยของนาโนอิมัลชันจะอยู่ระหว่าง 20-200 nm เนื่องจากขนาดหยดที่เล็กทำให้มีความคงตัวดีและมีประสิทธิภาพในการนำส่งยาผ่านผิวหนังได้ด้วยส่วนค่าดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity Index, PDI) ของหยดนาโนอิมัลชันจากเครื่อง Photon correlation Spectroscopy ทำการวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสซึ่งนาโนอิมัลชันควรจะให้ขนาดหยดที่ใกล้เคียงกันคือมีการกระจายของขนาดแคบ (Narrow Size Distribution) ให้ค่า PDI ไม่เกิน 0.2

การตรวจสอบสัณฐานวิทยา (Morphology) และ โครงสร้าง (Structure) ของนาโนอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านรูปร่างของนาโนอิมัลชันเป็นทรงกลม (Spherical Shape) และมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร

การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ใช้วัดคุณสมบัติของประจุไฟฟ้าที่ผิวอนุภาคและบอกถึงความคงสภาพในระยะยาวของนาโนอิมัลชันเครื่องมือที่ใช้วัดประจุที่ผิวเช่นเครื่อง Photon Correlation Spectroscopy (ZetaPALS) ซึ่งวัดค่าได้โดยไม่ต้องเจือจางสารตัวอย่างค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วงสูงกว่า ± 20 mV

การวัดความหนืด (Viscosity Determination) เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและใช้ควบคุมให้นาโนอิมัลชันมีความคงตัวโดยใช้เครื่อง Brookfield Viscometer ซึ่งนาโนอิมัลชันที่เหมาะสมควรมีความหนืดต่ำ

การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังในหลอดทดลอง (*In vitro* Skin Permeation Studies) ทำการศึกษาโดยใช้ Franz Diffusion Cell หรือ Keshary-Chien Diffusion Cell โดยเมมเบรนที่ใช้ศึกษาการซึมผ่านอาจใช้จากผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมของสัตว์ทดลองเช่นหนังหมูหนังหมูหนังงูหรือผิวหนังมนุษย์เป็นเมมเบรนที่อยู่ระหว่าง Donor และ Receiver ของ Franz Diffusion Cell และใช้ Receiver Fluid เป็น Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.4 ที่มีการกวนตลอดเวลาด้วย Magnetic Rotor (100rpm) และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียสจากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ นำมาวิเคราะห์ปริมาณด้วย (วรนนท์ รังสิมาวงศ์ และธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557)

2.3.3 การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันทางเวชสำอาง

1) การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนังหยาบของเหลวที่มีขนาดเล็กของนาโนอิมัลชันทำให้มีพื้นที่ผิวที่มากและเกิดการสะสมบนผิวอย่างสม่ำเสมอจึงทำให้กระบวนการแทรกซึมของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ

Kong, Chen, Kweon, & Park (2011) พัฒนานาโนอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil in Water Emulsion) จาก Hyaluronic Acid เพื่อนำส่งสารสำคัญที่ชอบละลายในน้ำมัน (Lipophilic Ingredient) ผ่านผิวหนังโดยใช้วิตามินอีเป็นสารต้นแบบพบว่านาโนอิมัลชันที่เตรียมได้มีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังชั้น Stratum Corneum ไปยังผิวหนังชั้น Dermis ได้เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายของวิตามินอีในเอธานอลโดยไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง

2) การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยกักเก็บน้ำในผิวหนังการสร้างฟิล์มปกคลุมบนผิวหนังของนาโนอิมัลชันช่วยลดการสูญเสียน้ำจากผิวหนังชั้นนอกทำให้ผิวมีความชุ่มชื้นเพิ่มการเกิดไฮเดรชัน (Hydration) จึงเพิ่มการแทรกผ่านของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนัง

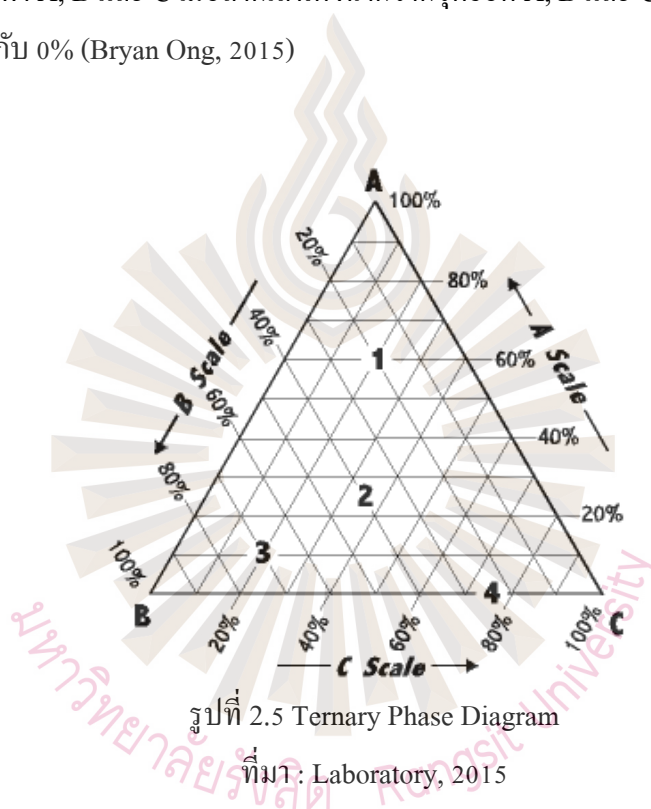
3) การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์นำใช้และให้ความรู้สึกที่ดีบนผิวจากคุณสมบัติของนาโนอิมัลชันที่ไม่เป็นอันตรายไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองไม่อุดตันรูขุมขนยอมให้อากาศและน้ำไหลผ่านได้ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของนาโนอิมัลชันนำใช้และให้ความรู้สึกที่ดี

2.3.4 ข้อดีของนาโนอิมัลชัน

- 1) สามารถเตรียมได้หลายรูปแบบ เช่น ครีม โลชัน สเปรย์ และโฟม
- 2) มีพื้นที่ผิวสัมผัสมากกว่าแมคโครอิมัลชัน จึงทำให้นาโนอิมัลชันมีประสิทธิภาพในการส่งผ่านสารสำคัญได้ดี
- 3) มีโอกาสเกิด Creaming, Flocculation และ Coalescence น้อยกว่าแมคโครอิมัลชัน
- 4) ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังหรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย รวมทั้งในเซลล์สัตว์ ดังนั้นจึงสามารถนำนาโนอิมัลชันมาใช้กับมนุษย์และสัตว์ได้ (Puglia et al, 2010)

2.4 Ternary Phase Diagram

แผนภาพเฟสของระบบมีองค์ประกอบ 3 ชนิด มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมด้านเท่า และมียกประกอบทั้ง 3 ชนิด แสดงสภาพการละลายได้ของเฟสหนึ่งในอีกเฟสหนึ่งจนเป็นเนื้อเดียวกัน ในสภาวะสมดุลการสร้างแผนภาพจะช่วยทำให้เห็นสภาวะของระบบและอัตราส่วนของ 3 ตัวแปร การอ่านแผนภาพ Ternary Phase Diagram เมื่อให้สารบริสุทธิ์แต่ละตัวอยู่ที่มุมของ สามเหลี่ยมด้านเท่า A, B และ C เมื่อลากเส้นตั้งฉากจากจุดยอด A, B และ C ลงมาที่ฐาน ค่าที่ฐาน A, B และ C จะเท่ากับ 0% (Bryan Ong, 2015)



2.5 การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS)

อนุภาคนาโนที่แขวนลอยอยู่ในของเหลวมีการเคลื่อนที่แบบสุ่มอย่างสม่ำเสมอ หรือเรียกว่าการเคลื่อนที่แบบบราวน์ (Brownian Motion) อันเกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างอนุภาคกับ โมเลกุลของของเหลวตัวกลาง การเคลื่อนที่ของอนุภาคที่ความเข้มข้นต่ำสามารถคำนวณได้จากความหนืดของของเหลวตัวกลาง อุณหภูมิและขนาดของอนุภาค ตามสมการสโตกส์และไอน์สไตน์ (Stokes and Einstein) ดังนั้นหากทำการวัดการเคลื่อนที่ของอนุภาคในของเหลวที่รู้อุณหภูมิและความหนืดก็สามารถคำนวณขนาดของอนุภาคได้ ขนาดอนุภาคที่ความเข้มข้นต่ำจะเป็นขนาดอนุภาค

แบบไฮโดรไดนามิก (Hydrodynamic Particle Size) เมื่อความเข้มข้นของอนุภาคในของเหลวมากขึ้น ทำให้การกระเจิงเป็นแบบทวิคูณ ทั้งนี้ขนาดอนุภาคที่วัดได้จะเป็นขนาดภายนอกอนุภาค (Apparent Particle Size) เทคนิคDLS อาศัยการวัดการเคลื่อนที่ของอนุภาคเชิงแสง โดยใช้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงอาพันธ์(Coherent Light Source) ฉายลงบนอนุภาคที่แขวนลอยในของเหลว แสงกระเจิงอันเนื่องจากการเคลื่อนที่ของอนุภาคนั้นมีเฟสที่ขึ้นกับเวลาเกิดการตำแหน่งที่สัมพันธ์กับเวลา และเฟสที่ขึ้นกับเวลาของแสงกระเจิงนี้สามารถพิจารณาเป็นการเลื่อนของเฟสหรือการเลื่อนของความถี่จากความถี่กลางของแสงจากแหล่งกำเนิดแสง เมื่อทำการวัดในช่วงเวลาหนึ่งการเคลื่อนที่แบบสุ่มของอนุภาคทำให้เกิดการกระจายตัวของการเลื่อนเฟสและการเลื่อนของความถี่แสง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2557)

2.5.1 องค์ประกอบของเครื่อง

1) เลเซอร์แสงเดียว (Monochromatic Laser) ทำหน้าที่ให้แสงที่โพลาไรซ์กับสนามไฟฟ้า ซึ่งตั้งฉากกับระนาบที่เกิดจากรังสีจากแหล่งกำเนิดแสง และรังสีที่ตรวจวัดได้ (โพลาไรซ์แนวตั้ง) เลเซอร์ที่ใช้ได้แก่ ฮีเลียม-นีออนเลเซอร์อาร์กอนเลเซอร์โซลิดสเตทเลเซอร์ไดโอดปั๊มโซลิดสเตทเลเซอร์และไดโอดเลเซอร์

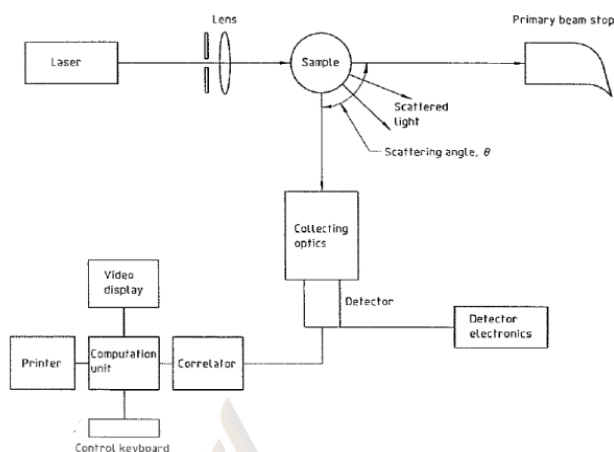
2) องค์ประกอบเชิงแสง (Optics) เลนส์และอุปกรณ์รวมแสงจากแหล่งกำเนิดเพื่อส่งไปยังปริมาตรการกระเจิงของแสง และตัวตรวจวัดแสงกระเจิง นิยมใช้เส้นใยนำแสงในระบบตรวจวัด และนำส่งแสง

3) ซองใส่ตัวอย่าง (Test Sample Holder) ต้องสามารถวัดและควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ภายใน ± 0.3 องศาเซลเซียส

4) ตัวจับโฟตอน (Photon Detector) นิยมใช้ตัวตรวจวัดแสงทวิคูณ และแอสแตนด์โฟโตไดโอด หรือโฟโตไดโอดในการตรวจจับโฟตอนซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มของแสงกระเจิง

5) หน่วยประมวลผล ประมวลผลสัญญาณความเข้มที่สัมพันธ์กับเวลา แล้วแสดงผลสหสัมพันธ์อัตโนมัติ (Autocorrelation) สหสัมพันธ์ข้าม (Cross-correlation) หรือสเปกตรัมของกำลังของสัญญาณ

6) คอมพิวเตอร์ ประมวลผลสัญญาณเพื่อคำนวณขนาดอนุภาคและการกระจายของขนาดอนุภาค บางครั้งทำหน้าที่เป็นหน่วยประมวลผลด้วย (ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2557)



รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบของ DLS

ที่มา: ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2557

2.6 การทดสอบการซึมผ่าน

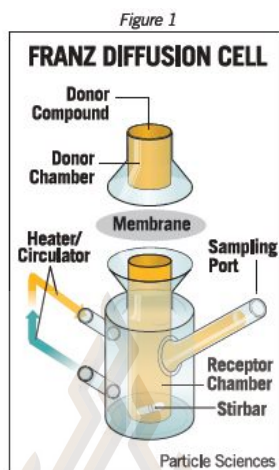
2.6.1 Franz Diffusion Cell

Franz Diffusion Cell เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบการซึมผ่าน หรือการปลดปล่อยของสารสำคัญทางยา เครื่องสำอาง ผ่านผิวหนังสิ่งมีชีวิตหรือผิวหนังสังเคราะห์โดยจำลองระบบการทำงานของผิวหนังและของเหลวภายในร่างกายที่ทำการทดลองภายนอกร่างกาย

2.6.2 อุปกรณ์ของ Franz Diffusion Cell

- 1) ส่วนบรรจุตัวยาที่ต้องการทดสอบ (Donor Chamber)
- 2) ส่วนบรรจุตัวทำละลาย (Receptor Chamber)
- 3) เยื่อแผ่นกั้น (Semipermeable Membrane) หรือผิวหนัง เช่น ผิวหนังธรรมชาติ ผิวหนังเทียม (Simulated Skin Membrane)
- 4) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Temperature Control Water Jacket)
- 5) ช่องเก็บตัวอย่าง (Sampling Port)
- 6) เครื่องกวนสารละลายชนิดแม่เหล็กและแท่งกวนแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer and Magnetic Bar)
- 7) ปั๊มน้ำหมุนเวียน (Water Recirculating Pump)

8) ตัวทำละลายใน Receptor Chamber ได้แก่ Phosphate Buffer pH 7.4



รูปที่ 2.7 Franz Diffusion Cell

ที่มา : Particle Sciences, 2009

2.6.3 หลักการทำงานของ Franz Diffusion Cell

หลักในการบรรจุยาหรือสารเคมีลงบน Donor Chamber ตัวยาจะถูกปลดปล่อยและซึมผ่าน Membrane ไปยัง Receptor Chamber ที่มีตัวทำละลาย Phosphate Buffer pH 7.4 ซึ่งเลียนแบบของเหลวในร่างกายที่มาหล่อเลี้ยงผิวหนังภายใต้อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ควบคุมการหมุนเวียนด้วยปั๊ม น้ำหมุนเวียนและใส่สารละลายตกตะกอนโดยที่ชุดอุปกรณ์ Franz Diffusion Cell ตั้งอยู่บนเครื่องกวนสารละลายชนิดแม่เหล็ก แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างจาก Receptor Chamber ในช่วงเวลาต่าง ๆ เพื่อตรวจสอบวิเคราะห์ปริมาณยาหรือสารที่ได้ผ่านผิวหนังลงมา (สุปริดีสังวรวิทย์, ม.ป.ป.)

2.7 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเครื่องมือที่ใช้เทคนิคในการแยกและวิเคราะห์สารที่สนใจ ซึ่งละลายอยู่ในสารละลายผสมในสถานะของของเหลว สารที่สนใจต้องมีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในตัวทำละลาย โดยกระบวนการแยกสารจะเกิดขึ้นระหว่างตัวกลาง 2 ชนิดคือตัวกลางที่อยู่กับที่ (Stationary Phase หรือ Column) กับตัวกลางที่เคลื่อนที่ได้ (Mobile Phase) โดยสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่หรือเฟสอยู่กับที่

สารตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อนส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลังและสารที่ถูกแยกออกมาได้นั้นจะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดชนิดต่างๆแล้วจะแปรผลออกมาในรูปแบบกราฟที่เรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram)

2.7.1 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC

1) Mobile Phase / Solvent หรือตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ Stationary Phase (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์

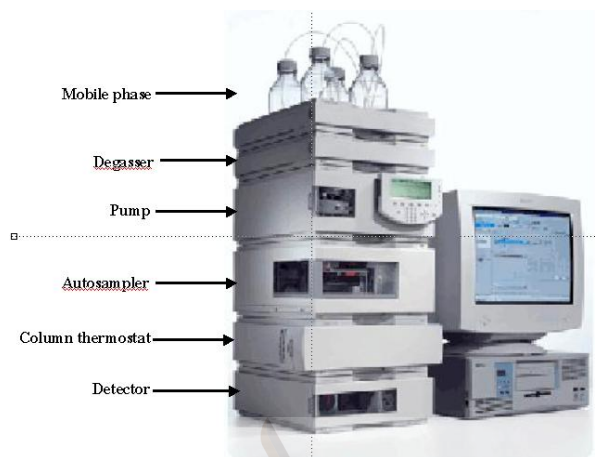
2) Degaser ทำหน้าที่กำจัดฟองอากาศ อากาศที่มีอยู่ใน Mobile Phase เพื่อไม่ให้ฟองอากาศเข้าสู่ Column และ Detector

3) Pump ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลาย (Mobile Phase) เข้าสู่ระบบ HPLC เนื่องจากในการแยกสารผสมในเทคนิค HPLC จะอาศัยหลักการไหลของเฟสเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ ที่มีขนาดอนุภาคเล็กมาก จึงทำให้เกิดความต้านทานการไหล ระบบปั๊มจึงมีความสำคัญมากในการที่จะทำให้ความดันสูงเพื่อที่จะเอาชนะแรงต้านทาน

4) Injector / Autosampler ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC

5) Column หรือจะเรียกว่า Stationary Phase มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจ โดยการบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่าง Mobile Phase กับ Stationary Phase

6) Detector คือ ตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก มีหลายชนิดด้วยกัน การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่สนใจว่าสามารถตอบสนองกับ Detector ชนิดไหนได้ดี (ศูนย์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา, 2554)



รูปที่ 2.8 HPLC

ที่มา : ชุมชนเครื่องมือวิทยาศาสตร์ มอ., 2549

2.8 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation of Analytical Procedures)

เป็นวิธีการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ เพื่อแสดงว่าเหมาะสมสำหรับวิธีนั้นๆ ซึ่งการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ประกอบด้วย

1) ความจำเพาะ (Specificity) หมายถึง ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่วิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยสารนั้นเป็นส่วนประกอบหนึ่งในสารละลายนั้นๆ หรือวิธีวิเคราะห์ที่มีความสามารถในการเลือกวัดเฉพาะสารที่ต้องการวัด

2) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) หมายถึง ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ทำให้การวิเคราะห์ออกมาแล้วได้ผลที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด การหาความเป็นเส้นตรงควรหาอย่างน้อยที่สุด 5 ความเข้มข้น ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จะแสดงผลเป็นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient :r)

3) ความเที่ยงตรง (Accuracy) หมายถึง ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่วัดค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีค่าความถูกต้องสูง (High Accuracy) ได้แก่ การหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%Recovery) โดยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่าง (Spike Sample) ทำ 3 ระดับความเข้มข้น

4) ความแม่นยำ (Precision) หมายถึง ความแม่นยำของการวิเคราะห์ซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ที่ได้จะแสดงเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation : SD) หรือค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation : CV) (กรกนก สุวรรณราช และคณะ, 2561)

2.8.1 Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

Limit of Detection (LOD) หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้

Limit of Quantitation (LOQ) หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้หรือรายงานได้ โดยมี Accuracy และ Precision ที่ยอมรับได้ (ฉัตรภาพ พันชน, 2558)



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบสารเคมี

- 1) Licorices Root (บริษัท เวชพงศ์ไอสถ จำกัด, กรุงเทพฯ)
- 2) Glycyrrhizic Acid Standard (บริษัท ทีทีเค ซายเอนซ์ จำกัด, กรุงเทพฯ)
- 3) Tween20 (บริษัท สงฮวด จำกัด, ปทุมธานี)
- 4) Tween80 (บริษัท สงฮวด จำกัด, ปทุมธานี)
- 5) Orange Oil (บริษัท สงฮวด จำกัด, ปทุมธานี)
- 6) Tea tree Oil (บริษัท สงฮวด จำกัด, ปทุมธานี)
- 7) Ethanol (RCI Labscan, Germany)
- 8) Propanol (RCI Labscan, Germany)
- 9) Double Distill Water (RCI Labscan, Germany)
- 10) Acetic Acid (RCI Labscan, Germany)
- 11) HPLC Water (RCI Labscan, Germany)
- 12) Absolute Methanol (RCI Labscan, Germany)
- 13) Acetonitrile (RCI Labscan, Germany)
- 14) KH_2PO_4 (Ajax Finechem, Austria)
- 15) K_2HPO_4 (Ajax Finechem, Austria)
- 16) Parafilm M (Sigma Aldrich, USA)
- 17) Membrane Filter (Whatmam, USA)
- 18) Filter Papers (Whatmam, USA)

3.1.2 วัสดุอุปกรณ์

- 1) Particle Size and Zeta Potential by Nanoplus-3 (Micrometrics Instrument Corporation, USA)
- 2) Ternary Phase Diagram and Triplot Program
- 3) Beaker (Corning International K.K., Japan)
- 4) HPLC (Shimazu, Japan)
- 5) Franz Diffusion Cell (Perm Gear, Inc.USA)
- 6) Vortex Mixer (Scientific Industries, USA)
- 7) Viscometer (Cisco Star Plus)
- 8) pH Meter (Germany)
- 9) Test Tube (Corning International K.K., Japan)
- 10) Hotplate Stirrer (Daihan Labtech, Korea)
- 11) Dropper (Corning International K.K., Japan)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การสกัดสารสำคัญจากรากชะเอมเทศ

ซึ่งรากชะเอมเทศสดหยาบ 100 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ จากนั้นใส่ตัวทำละลายเอทานอล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 100 มิลลิลิตร ลงไป คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ คนส่วนผสมทั้งหมดทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เมื่อครบกำหนดแล้วกรองสารละลายและนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator เติสารสกัดที่ระเหยได้แล้วลงใน Evaporating Dish นำไปตั้งไฟให้ความร้อน เพื่อระเหยตัวทำละลายที่เหลือออก

3.3 การวิเคราะห์สารสกัดชะเอมเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)

เป็นการเปรียบเทียบสารสกัดชะเอมเทศกับสารมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid โดยสารที่มีค่า R_f ใกล้เคียงกัน จะเป็นสารตัวเดียวกับสารมาตรฐาน โดยใช้โครมาโทเพลต 3 แผ่น แต่ละแผ่นหยด (plot) สาร 2 จุด โดยจุดหนึ่งเป็นสารมาตรฐาน และอีกจุดเป็นสารสกัด จากนั้นนำโครมาโทเพลตไปลงใน โถตัวทำละลายเคลื่อนที่ ภายใน โถบรรจุซึ่งมีตัวทำละลาย $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1:3 โดยปริมาตร ปิดฝาโถ และตั้งทิ้งไว้จนตัวทำละลายสูงขึ้นประมาณ 3 ใน 4 ของโครมาโทเพลต จากนั้นนำออกมาทำเครื่องหมายที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่มาถึง (Solvent Front) ทิ้งไว้ให้แห้ง นำมาอ่าน โครมาโทเพลตภายใต้แสง UV ซึ่งต้องใช้ตัวดูดซับที่ผสมอินดิเคเตอร์ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Indicator) เมื่อแผ่นโครมาโทเพลตกระทบแสง UV ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จะสะท้อนแสงออกมาเป็นสีเขียว ดังนั้นเมื่อสารตัวอย่างที่สามารถดูดซับแสงยูวีได้ตรงจุดใด ก็จะเกิดเป็นจุดสีม่วงขึ้นที่จุดนั้นๆ แล้วนำมาวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยการวัดระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปถึง และวัดระยะทางที่สารเคลื่อนที่ด้วยเช่นกัน โดยหาค่า R_f ดังสมการ และมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

ถ้า R_f เท่ากันและสีเหมือนกัน แสดงว่าอาจเป็นสารเดียวกัน

3.4 การเตรียมสูตรตำรับ

เตรียมตำรับพืชนาโนอิมัลชันโดยใช้สารลดแรงดึงผิว คือ Tween20 และ Tween80 และสารลดแรงดึงผิวร่วม คือ Ethanol และ Propanol ผสมกับน้ำมันหอมระเหย Tea Tree Oil และ Orange Oil และน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ โดยเตรียมทั้งหมด 36 อัตราส่วน ในแต่ละชนิดของสารลดแรงดึงผิวและน้ำมันหอมระเหย โดยการนำส่วนประกอบทั้งหมดมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex Mixer เพื่อดูลักษณะทางกายภาพเบื้องต้น จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่อง Sonicator เพื่อลดขนาดให้เล็กลงมากขึ้น และทำการแยกประเภทของอิมัลชันโดยการสังเกตลักษณะทางกายภาพของแต่ละอัตราส่วน แล้วนำมา Plot ลงใน Ternary Phase Diagram และเลือกอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชัน ซึ่งจะมีลักษณะโปร่งแสง มีความเสถียรทางกายภาพ จากนั้นนำไปวัดขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nanoplus

3.5 การเพิ่มสารสกัดรากชะเอมเทศลงในสูตรตำรับ

เลือกอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชัน นำอัตราส่วนที่ได้เติมสารสกัดรากชะเอมเทศ (2% w/w) ลงไป แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่อง Sonicator จากนั้นนำไปวัดขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nanoplus

3.6 การวัดขนาดอนุภาคและค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา

3.6.1 การวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Nanoplus

นำตำรับนาโนอิมัลชันที่จะทำการวัดขนาด ปริมาตร 1 มิลลิตรมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 3 มิลลิตร จากนั้นเทลงใน Cuvette และทำการวัดขนาดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยวัดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.6.2 การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา

ใช้กระบอกฉีดดูดตำรับนาโนอิมัลชันที่เจือจางในข้อ 3.6.1 ประมาณ 1 มิลลิตรลงไปในเซลล์สำหรับวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาแล้ววัดด้วยเครื่อง Nanoplus โดยวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.7 การทดสอบการซึมผ่านตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสารสกัดรากชะเอมเทศด้วย Phosphate Buffer (PBS) pH. 7.4

ชั่ง KH_2PO_4 (Potassium Dihydrogen Orthophosphate) 8.709 กรัม ลงในบีกเกอร์ที่ 1 และชั่ง K_2HPO_4 (Dipotassium Hydrogen Orthophosphate) 6.804 กรัม ลงในบีกเกอร์ที่ 2 แล้วเทน้ำปริมาตร 50 มิลลิตร ลงไปทั้งสองบีกเกอร์ คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเทสารละลาย KH_2PO_4 ให้เหลือ 40.1 มิลลิตร และสารละลาย K_2HPO_4 9.9 มิลลิตร เตรียมบีกเกอร์ที่ 3 ใส่ น้ำ 500 มิลลิตร เทสารละลายบีกเกอร์ที่ 1 และบีกเกอร์ที่ 2 ลงไปผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทสารละลาย

ทั้งหมดลงในบีกเกอร์แล้วใส่แผ่น Membrane ลงในบีกเกอร์ ปิดปากบีกเกอร์ด้วยฟอยล์ ทิ้งไว้ 1 คืน
เติม Tween20 ลงไป 2% คนให้เข้ากัน

3.8 การเตรียมเครื่อง Franz diffusion cell

เตรียมเครื่อง Franz Diffusion Cell ด้วยการเติมน้ำในระบบหมุนเวียนน้ำ เปิดเครื่องปั้มน้ำหมุนเวียนประมาณ 30 นาที เพื่อให้ น้ำมีอุณหภูมิที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส และจัดฟองอากาศออกจาก Jacket และ Saving Media จากนั้นใส่ Magnetic Bar ใน Jacket แล้วเปิดเครื่อง Magnetic Stirrer ให้ Magnetic Bar หมุนของเหลวภายใน Receptor Chamber ด้วยความเร็ว 770 รอบต่อนาที นำ Membrane ที่เตรียมไว้มาประกบระหว่าง Donor Chamber และ Receptor Chamber ผูกด้วย Paraffin Tape และรัดด้วย Pinch Clamp จากนั้นเติม PBS pH 7.4 ลงใน Receiving chamber โดยใช้ Syringe แบบเข็มยาวจนได้รับระดับเดียวกับ Membrane แล้วเติมตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดรากชะเอมเทศลงในส่วนของ Donor chamber เพื่อให้ส่วนของ Membrane ได้สัมผัสกับ pH 7.4 และสูตรตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่องและด้วยการไหลเวียนของ PBS pH 7.4 ใน Receptor Chamber ที่ถูกรักษาอุณหภูมิให้อยู่ที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส จะถูกหมุนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่อง Magnetic Stirrer จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาณ 5 มิลลิลิตร และในตัวอย่างจะมีการเติม PBS pH 7.4 ลงไป เพื่อแทนที่ตัวอย่างที่ถูกเก็บออกมาในปริมาณที่เท่ากัน โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 30 นาที, 1, 2, 3, 4, 5, และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยวิธี HPLC

3.9 การวิเคราะห์ปริมาณของสาร Glycyrrhizic Acid ในตำรับนาโนอิมัลชันด้วยวิธี Reversed Phase HPLC Chromatography

Column : ACE Generix 5 C18, Batch: GEN-6975, Dimensions: 150 x 4.6 mm id

Mobile Phase : 1% (v/v) Acetic Acid in Water / Acetonitrile

Flow Rate : 1.0 mL/min

Detector : 254 nm

Injective Volume : 10 μ L

3.9.1 การเตรียม Standard Stock Solution

ชั่ง Glycyrrhizic Acid 0.5 มิลลิกรัม ใส่ใน Volumetric Flask 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารมาตรฐานเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.9.2 การวิเคราะห์ Linearity

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid จำนวน 5 ความเข้มข้น โดยนำ Standard Stock Solution 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร 0.1, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Methanol แล้วนำมากรองผ่าน Membrane Filter 0.20 μm และทำการฉีด 20 μL ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง จากนั้น Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นกับ Peak Area ที่ได้ คำนวณค่า Correlation Coefficient, r^2 โดยที่ r^2 จะต้องอยู่ในช่วง 0.9995-0.999

3.9.3 การวิเคราะห์ Injection precision

Intraday Precision คือการทดลองซ้ำๆ ในเวลาเดียวกัน โดยผู้ทำการทดลอง สภาวะการทดลองรวมทั้งห้องปฏิบัติการเดียวกัน โดยเลือกสารละลายมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid จำนวน 1 ความเข้มข้น คือความเข้มข้น 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณ %RSD ของ Peak Area โดยค่าที่ได้จะต้องไม่เกินร้อยละ 2

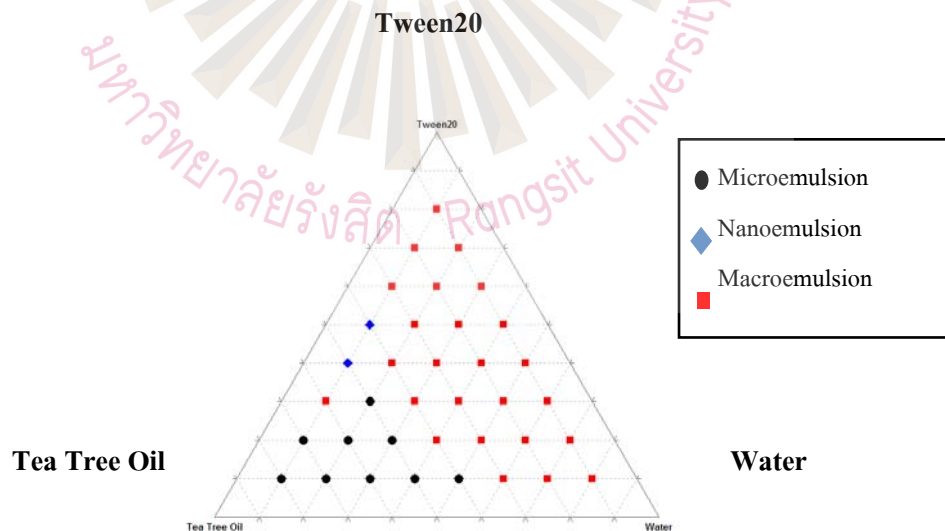
Interday Precision คือการทดลองซ้ำแตกต่างกัน 1 วัน 2 วัน โดยการเตรียม Mobile Phase และเครื่องมือในการทดลองใหม่ โดยเลือกสารละลายมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid จำนวน 1 ความเข้มข้น คือความเข้มข้น 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณ %RSD ของ Peak Area ของทั้ง 2 วัน ค่าที่ได้จะต้องไม่เกินร้อยละ 2

บทที่ 4

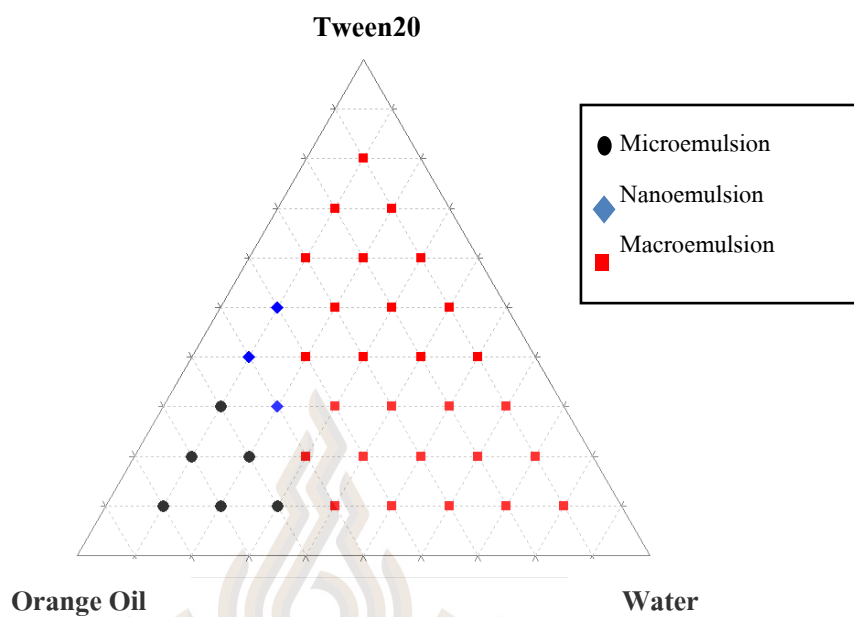
ผลการวิจัย

4.1 การพัฒนาสูตรตำรับที่เหมาะสมในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

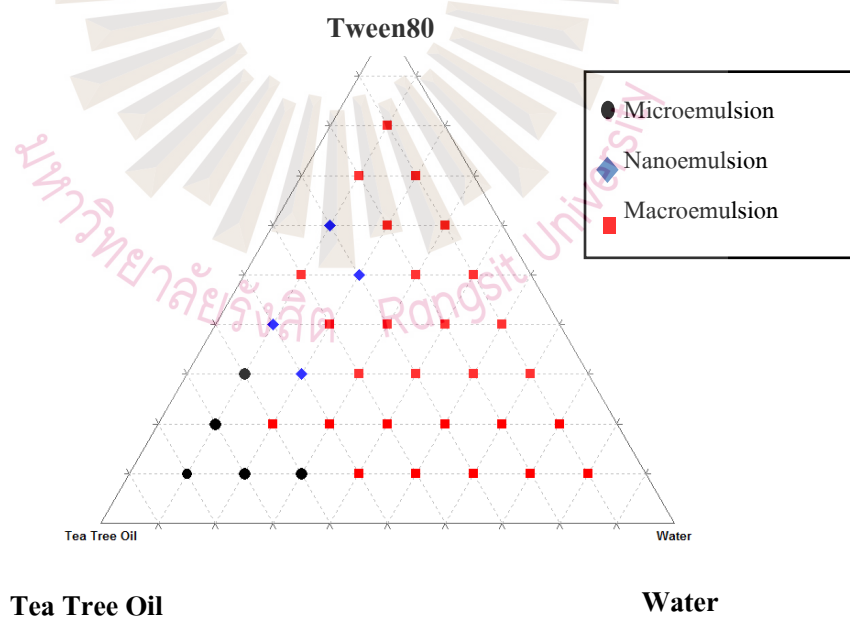
จากการศึกษาตำรับพืชนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว (Tween20 และ Tween80) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil และ Orange Oil) และน้ำ ในอัตราส่วนตามเฟสไดอะแกรม (Ternary Phase Diagram) ดังแสดงในรูปที่ 9-12 เพื่อหาอัตราส่วนที่เกิดเป็นนาโนอิมัลชัน และนำอัตราส่วนที่เกิดเป็นนาโนอิมัลชันเติมสารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol และ Propanol) ลงไป นำไปวัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค (Polydispersity Index, PDI) และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nanoplus ดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.2 จากนั้นนำตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิวร่วมเติมสารสกัดรากชะเอมเทศ (2% w/w) ลงไป นำไปวัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nanoplus อีกครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 4.3-4.4



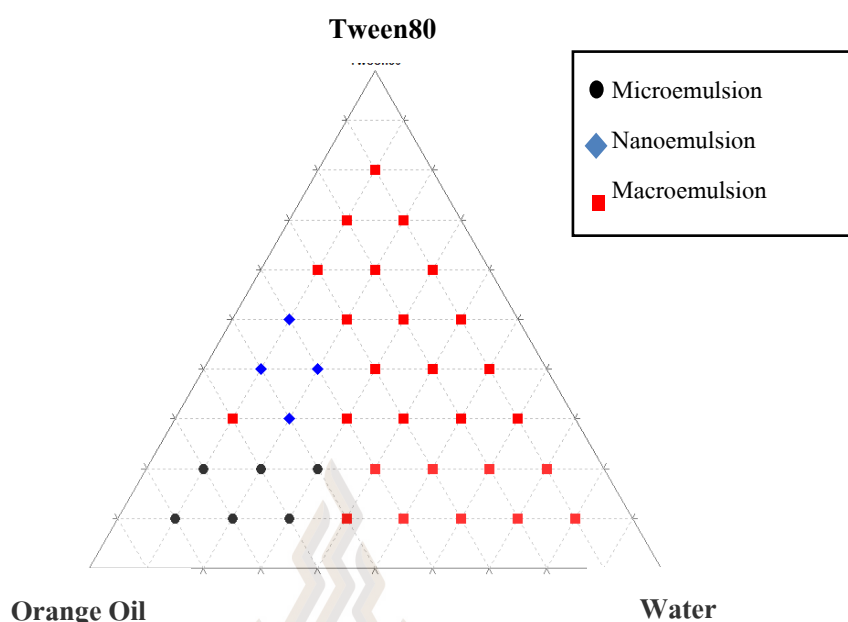
รูปที่ 4.1 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Tea Tree Oil : Tween20 : Water



รูปที่ 4.2 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Orange Oil : Tween20 : Water



รูปที่ 4.3 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Tea Tree Oil : Tween80 : Water



รูปที่ 4.4 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Orange Oil : Tween80 : Water

4.2 การวัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาค Polydispersity Index (PDI) และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential)

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใช้สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95:5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95:5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
Tea Tree Oil : Tween20 + Ethanol : Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	512.60 ± 7.60	0.289 ± 0.017	-5.02 ± 0.30
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	634.63 ± 44.91	0.301 ± 0.011	-4.35 ± 0.16
Orange Oil : Tween20 + Ethanol: Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	507.83 ± 61.36	0.223 ± 0.138	-9.13 ± 0.25
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	377.67 ± 2.09	0.287 ± 0.006	-2.41 ± 1.34
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	373.67 ± 6.38	0.267 ± 0.014	-7.42 ± 0.48
Tea Tree Oil : Tween20 + Propanol : Water				

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95:5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95:5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ) (ต่อ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
5: 4:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	309.73 ± 5.91	0.328±0.024	-6.37±0.62
4:5: 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	291.63±3.38	0.267±0.007	-1.78±1.11
Orange Oil : Tween20 + Propanol : Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	326.00± 20.80	0.810±0.304	-4.83 ± 1.37
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	390.77±4.89	0.296±0.013	-5.62±0.38
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	255.70± 1.20	0.364±0.007	-2.32±0.47

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water				
6: 3:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	144.40 ± 3.53	0.265 ± 0.016	-5.07 ± 0.61
5:3: 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	144.73 ± 2.76	0.329 ± 0.004	-4.76±0.47
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	308.10 ± 7.60	0.264 ± 0.008	-1.20 ± 0.35
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	422.63 ± 7.71	0.266 ± 0.015	-1.54 ± 0.69
Orange Oil : Tween80 + Ethanol: Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	258.73± 2.89	0.338±0.010	-3.11±0.50
4 : 4 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	218.30±6.67	0.509±0.024	-4.10±1.46
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	370.03±4.78	0.325±0.003	0.33±0.68
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	674.50 ± 17.40	0.484 ± 0.004	-2.20 ± 0.18
Tea Tree Oil : Tween80 + Propanol : Water				

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ก่อนใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ) (ต่อ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
6: 3:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	168.27 ± 3.42	0.286±0.008	-0.82±0.42
5:3: 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	139.47±3.71	0.338±0.015	-6.54± 3.44
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	356.80 ± 4.33	0.248 ± 0.010	-4.527 ± 0.21
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	471.83 ± 5.82	0.184 ± 0.027	-3.24 ± 2.57
Orange Oil : Tween80+ Propanol : Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	273.20± 1.93	0.321±0.008	-5.57 ± 0.50
4 : 4 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	222.47±5.56	0.390±0.016	-0.01±0.58
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	375.70± 0.33	0.331±0.007	-1.85±0.62
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	584.77 ± 28.91	0.299 ± 0.151	-7.26 ± 1.62

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
Tea Tree Oil : Tween20 + Ethanol : Water				
5: 4:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	614.00± 32.33	0.283± 0.027	-5.22± 0.40
4: 5: 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	2205.20± 55.20	0.427± 0.030	-2.19±0.46
Orange Oil : Tween20 +Ethanol: Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	331.77± 6.69	0.291±0.005	2.82±9.78
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	435.93±5.31	0.293±0.006	-1.88±1.39
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	431.77±7.44	0.316±0.008	-2.09±0.34
Tea Tree Oil : Tween20 +Propanol : Water				

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween20 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween20 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w) (ต่อ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
5: 4:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	1412.33± 146.78	0.509±0.447	-2.64±1.20
4:5:	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	2847.13±811.71	0.398±0.730	-2.04±1.90
Orange Oil : Tween20 + Propanol : Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	363.23± 4.56	0.280±0.009	-1.31± 0.12
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	502.60±5.13	0.325±0.007	-4.76±0.77
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	447.73 ± 3.84	0.253±0.011	-3.58±0.23

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water				
6: 3:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	241.70 ± 1.87	0.265 ± 0.008	-3.69 ± 1.02
5:3: 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	303.13 ± 3.82	0.316 ± 0.013	-6.21 ± 0.25
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	654.77 ± 10.36	0.250 ± 0.020	-2.40 ± 0.21
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	1041.30 ±62.07	0.371 ± 0.032	-0.80 ± 0.18
Orange Oil : Tween80 + Ethanol: Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	309.80± 3.73	0.117 ± 0.029	-1.40 ± 0.21
4 : 4 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	191.43 ± 8.38	0.539 ± 0.073	2.34 ± 0.21
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	586.30 ± 35.13	0.537 ± 0.023	0.09 ± 0.43
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	693.47 ± 461.51	0.485 ± 0.323	0.45 ± 0.26
Tea Tree Oil : Tween80 + Propanol : Water				

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน โดยใส่สารลดแรงตึงผิวร่วม Tween80 : Ethanol เท่ากับ 95 : 5 และ Tween80 : Propanol เท่ากับ 95 : 5 (ใส่สารสกัดรากชะเอมเทศ 2% w/w) (ต่อ)

สูตรตำรับ อิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทาง กายภาพ	ขนาดอนุภาค (nm)	ดัชนีการ กระจายตัว	ศักย์ไฟฟ้าซีตา (mV)
6: 3:1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	253.50 ± 1.78	0.272 ± 0.004	-6.90 ± 0.40
5:3: 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	224.93 ± 3.18	0.322 ± 0.008	-11.00 ± 0.36
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	664.67 ± 4.78	0.249 ± 0.008	-0.87 ± 0.50
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	1479.60 ± 23.00	0.543 ± 0.061	34.05 ± 19.97
Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water				
5 : 4 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	282.60 ± 5.07	0.284 ± 0.010	-3.96 ± 0.57
4 : 4 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	248.47 ± 4.64	0.370 ± 0.009	-4.50 ± 0.07
4 : 5 : 1	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	483.03 ± 2.69	0.266 ± 0.017	-2.99 ± 0.27
3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	685.37 ± 89.04	0.564 ± 0.014	-2.96 ± 1.04

จากตารางที่ 4.3-4.4 ได้คัดเลือกตำรับนาโนอิมัลชันที่น่าสนใจที่สุดทั้งหมด 2 สูตร คือ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1) และ Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2) ซึ่งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 241.70 ถึง 248.47 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PI) อยู่ในช่วง 0.265 ถึง 0.370 และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาอยู่ในช่วง -3.69 ถึง -4.50 มิลลิโวลต์ จากนั้นนำไปทดสอบการซึมผ่านของสารด้วยวิธี Franz Diffusion Cells

4.3 การทดสอบการซึมผ่านของสาร Glycyrrhizic Acid ที่อยู่ในตำรับนาโนอิมัลชันด้วยวิธี Franz Diffusion Cells

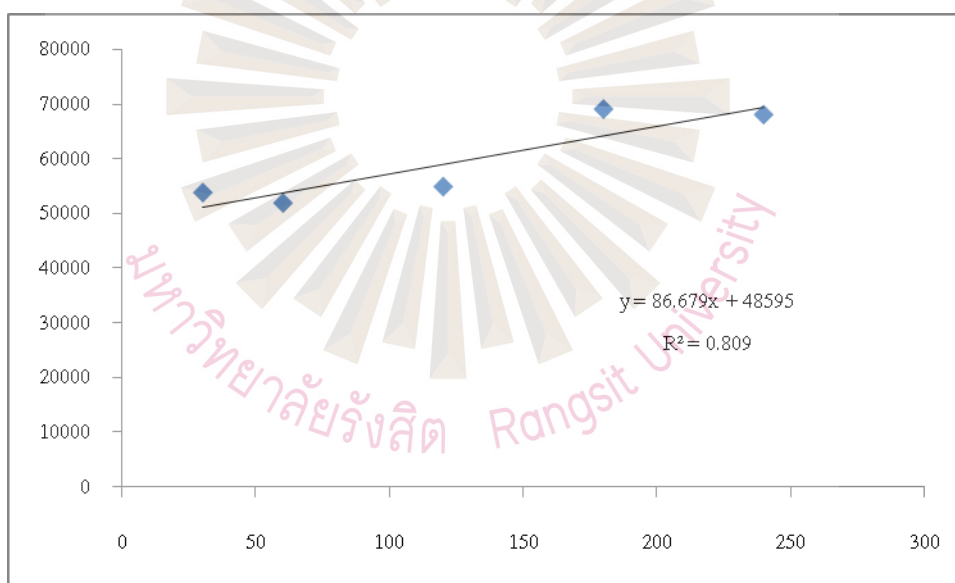
การคำนวณการซึมผ่านของสูตรตำรับทั้ง 2 สูตร คือ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1) และ Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2) โดยการคำนวณหาค่าปริมาณสารซึมผ่านแผ่นเซลลูโลส อะซิเตสต่อเวลา และค่าพื้นที่ตัดขวางของแผ่นเซลลูโลส อะซิเตสที่สารซึมผ่านคือ 1.767 cm² ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 13-14

โดยสูตรคำนวณ

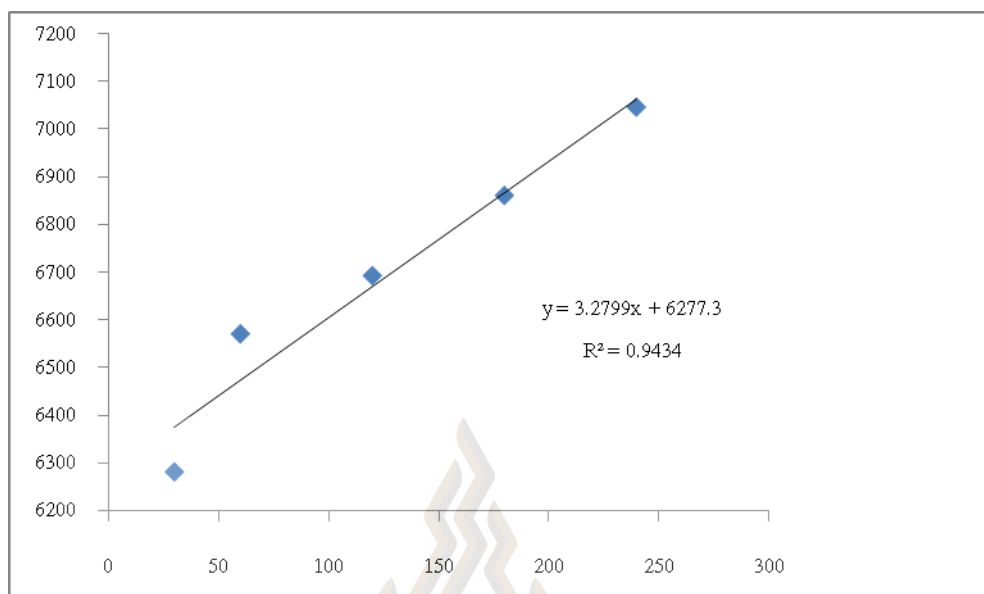
Flux (J)		$= Q/A * t$
เมื่อ	Q/t	$= \text{Slope}$
	A	$= \text{Area}$
ดังนั้น	Flux	$= \text{Slope}/1.767$

ตารางที่ 4.5 ผลทดสอบการซึมผ่านด้วยวิธี Franz Diffusion Cells

สูตรนาโนอิมัลชัน	ค่า Flux $\mu\text{g}/\text{min}.\text{cm}^2$	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)
Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1)	49.05	241.70
Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2)	1.86	248.47



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงปริมาณการสะสมของสารGlycyrrhizic Acidที่สามารถซึมผ่านแผ่นเซลล์โลส อะซิเตทของสูตรตำรับ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1)



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงปริมาณการสะสมของสารGlycyrrhizic Acidที่สามารถซึมผ่านแผ่นเซลล์โลส อะซิเตทของสูตรตำรับ Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2)

4.4 การวิเคราะห์สารGlycyrrhizic Acidด้วยวิธี HPLC

ผลการวิเคราะห์สารGlycyrrhizic Acid ในรูปแบบนาโนอิมัลชันด้วยเครื่อง HPLC พบว่า การวิเคราะห์สาร Glycyrrhizic Acid ในสภาวะที่เหมาะสมโดยมี Mobile Phase คือ ร้อยละ 1% v/v ของ Acetic Acid ในน้ำ และ Acetonitrile ซึ่งใช้ระบบ Gradient System โดยมีอัตราส่วน 90:10, 20:80, 90:10 ที่เวลา 0, 15, 20 โดยมีอัตราส่วนการเคลื่อนที่ของสารละลายเท่ากับ 0.80 มิลลิเมตรต่อนาที คอลัมน์ที่ใช้ คือ ACE Generix 5 C18, Batch: GEN-6975, ขนาด 150 x 4.6mm id และตรวจวัด UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่นแสง 254 นาโนเมตร ใช้ปริมาตรการฉีดเท่ากับ 10 ไมโครลิตร สามารถวิเคราะห์สารมาตรฐานGlycyrrhizic Acidโดยมีค่า Retention Time เท่ากับ 2.524 นาที



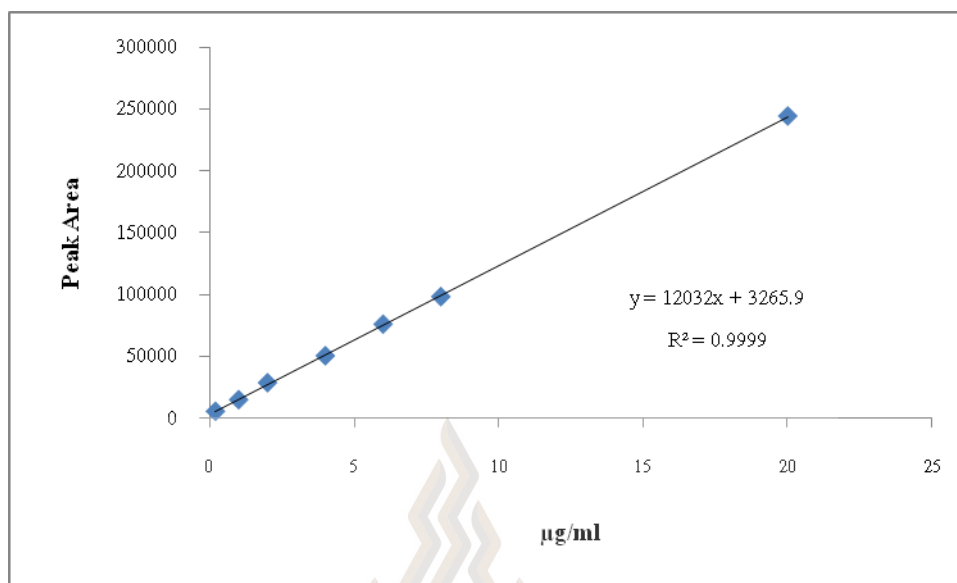
รูปที่ 4.7 แสดง HPLC Chromatogram ของสาร Glycyrrhizic Acid

4.4.1 Linearity of Method

เป็นการฉีดสารละลายมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid 7 ความเข้มข้น ซึ่งมีความเข้มข้น ได้แก่ 0.2, 1, 2, 4, 6, 8, 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เครื่องมือสภาพแวดล้อมวันเดียวกัน โดยนำ Standard Stock Solution Glycyrrhizic Acid ปิ่เปิดลงใน Volumetric Flask 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Methanol ทำการฉีดครั้งละ 10 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยของ Peak Area ที่มีความเข้มข้นของสาร Glycyrrhizic Acid ตั้งแต่ 0.2-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารกลีซิริซิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	Peak Area ครั้งที่ 1	Peak Area ครั้งที่ 2	Peak Area ครั้งที่ 3	Average
0.2	5616	5792	5478	5629
1	13870	14885	16414	15056
2	28908	28491	28800	28733
4	50530	50262	50890	50561
6	80297	77759	70071	76042
8	98656	97805	984477	98303
20	240472	240558	251746	244259



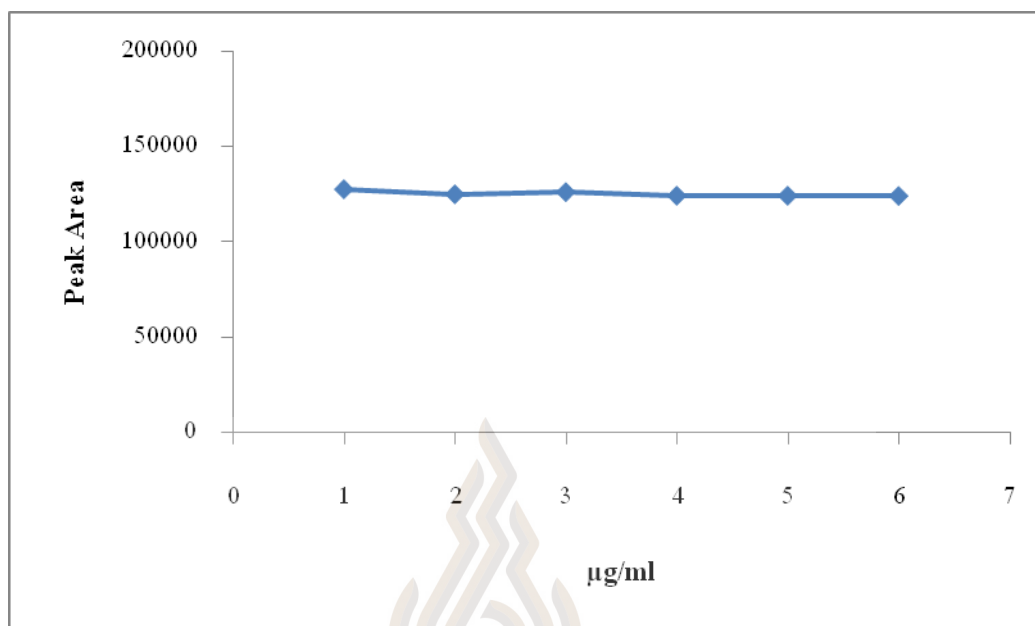
รูปที่ 4.8 แสดง Calibration Curve ของสาร Glycyrrhizic Acid ที่มีความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.2-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4.2 การศึกษาความแม่นยำของวิเคราะห์ (Precision)

Intraday Precision เป็นการวิเคราะห์สารมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำในช่วงเวลาเดียวกันโดยฉีดซ้ำจำนวน 6 ครั้ง

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision จำนวน 6 ครั้ง

Intraday	Peak Area
1	127366
2	124762
3	125901
4	124036
5	124038
6	123885
Average	124998
SD	1383.07
%RSD	1.11



รูปที่ 4.9 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำการวิเคราะห์ของสาร Glycyrrhizic Acid

แบบ Intraday Precision

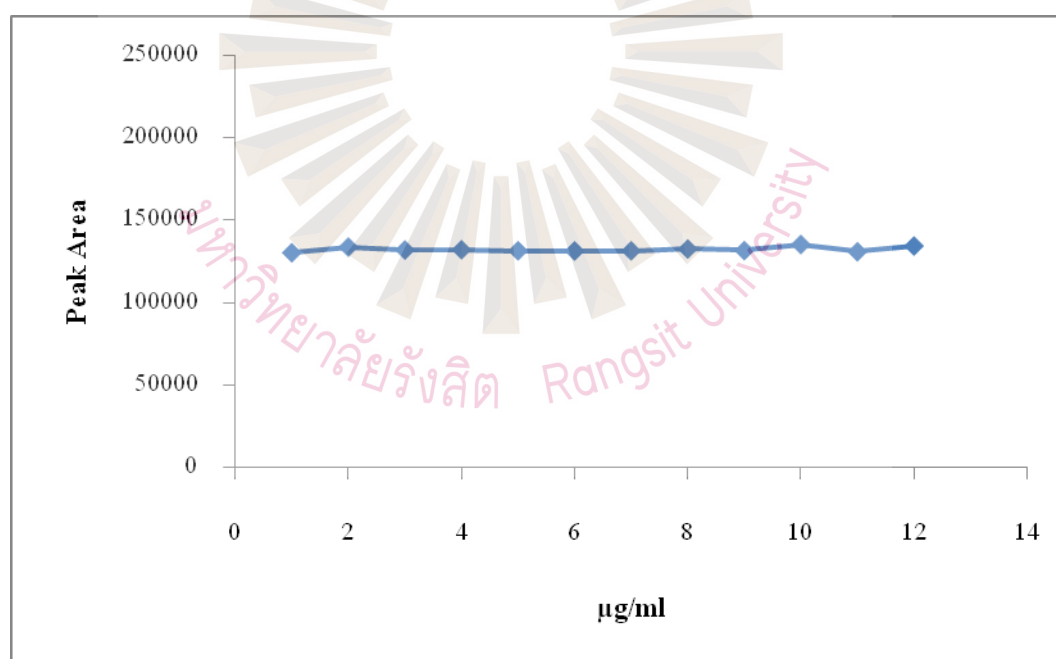
Intraday Precision เป็นการทดลองซ้ำแต่ต่างกัน 2 วัน โดยการเตรียม Mobile Phase ใหม่และเครื่องมือในการทดลองใหม่ทำการฉีดสารละลายมาตรฐาน Glycyrrhizic Acid คือ ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง) %RSD ของ Peak Area ของทั้ง 2 วันที่ได้ ต้องไม่เกินร้อยละ 2

ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision จำนวน 12 ครั้ง

Intraday	Peak Area (Day 1 - Day 2)
1	130232
2	133665
3	131929
4	132094
5	131423

ตารางที่ 4.8 ผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision จำนวน 12 ครั้ง (ต่อ)

Intraday	Peak Area (Day 1 - Day 2)
6	131345
7	131424
8	131467
9	131515
10	135226
11	130835
12	134324
Average	132206.6
SD	1480.54
%RSD	1.12



รูปที่ 4.10 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำการวิเคราะห์ของสาร Glycyrrhizic Acid แบบ Intraday Precision

บทที่ 5

การอภิปราย สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 การอภิปรายผล

จากผลการทดลองดาร์บนาโนอิมัลชันในสูตรดาร์บพื้นที่ประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิว (Tween20) สารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol, Propanol)ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil, Orange Oil)และน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าอัตราส่วนที่สามารถเกิดเป็นนาโนอิมัลชันได้มากที่สุดคือ อัตราส่วน 5 : 4 : 1 (น้ำมันหอมระเหย : สารลดแรงตึงผิว + สารลดแรงตึงผิวร่วม : น้ำ) มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 309.73 ถึง 512.60 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.223 ถึง 0.810 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -4.83 ถึง -9.13 มิลลิโวลต์ และอัตราส่วน 4 : 5 : 1 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 291.63 ถึง 634.63 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.267 ถึง 0.301 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -1.78 ถึง -6.37 มิลลิโวลต์ เมื่อเติมสารสกัดรากชะเอมเทศลงไป ดังแสดงในตารางที่ 3 อัตราส่วน 5 : 4 : 1 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 331.77 ถึง 1412.33 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.280 ถึง 0.590 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -1.31 ถึง 2.82 มิลลิโวลต์ และอัตราส่วน 4 : 5 : 1 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 435.93 ถึง 2847.13 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.293 ถึง 0.427 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -1.88 ถึง -4.76 มิลลิโวลต์ ส่วนดาร์บพื้นที่นาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว (Tween80) สารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol, Propanol) ผสมกับ น้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil, Orange Oil) และน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าอัตราส่วนที่สามารถเกิดเป็นนาโนอิมัลชันได้มากที่สุดคือ อัตราส่วน 4 : 5 : 1 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 308.10 ถึง 375.70 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.248 ถึง 0.331 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -1.20 ถึง 0.33 มิลลิโวลต์ และอัตราส่วน 3 : 5 : 2 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 422.63 ถึง 674.50 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.184 ถึง 0.484 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -1.54 ถึง -7.26 มิลลิโวลต์ และเมื่อเติมสารสกัดรากชะเอมเทศลงไป ดังแสดงในตารางที่ 4 อัตราส่วน 4 : 5 : 1 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 483.03 ถึง 664.67 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.249 ถึง 0.537 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -2.99 ถึง 0.99 มิลลิโวลต์ อัตราส่วน 3 : 5 : 2 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 685.37 ถึง 1479.60 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของ

อนุภาคเท่ากับ 0.371 ถึง 0.564 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -2.96 ถึง 34.05 มิลลิโวลต์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเติมสารสกัดรากชะเอมเทศลงไปในขนาดของอนุภาคก็จะใหญ่ขึ้น อาจจะเนื่องมาจากสารสกัดรากชะเอมเทศมีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ เพราะเป็นสารพวก Glycoside หรือ Glycyrram ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลทราย 50-100 เท่า และในส่วนของค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาจะเห็นได้ว่ามีทั้งค่าที่เป็นลบ และค่าที่เป็นบวก ซึ่งเกิดจากการดูดและปล่อยไฮดรอกซิลที่บริเวณผิวประจันของอนุภาคน้ำและอนุภาคน้ำมัน แต่โดยสรุปแล้วตำรับนาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วย Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol: Water (6 : 3 : 1) เป็นอัตราส่วนที่ดีที่สุด มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอน มีการกระจายตัวที่ดี มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 241.70 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.265 และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -3.69 มิลลิโวลต์ ซึ่งเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาที่มีค่าน้อย เพราะตามทฤษฎี ค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาที่มีความเสถียร จะมีค่ามากกว่า +30 มิลลิโวลต์ หรือ น้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ ดังนั้นจะนำสูตรตำรับนาโนอิมัลชันนี้ไปพัฒนาให้ดีขึ้นต่อไป

5.2 สรุปผลการวิจัย

จากการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันจากสารสกัดรากชะเอมเทศ โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (Tween 20 และ Tween 80) สารลดแรงตึงผิวร่วม (Ethanol และ Propanol) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Tea Tree Oil และ Orange Oil) และน้ำพบว่าสามารถเกิดเป็นนาโนอิมัลชันที่มีลักษณะโปร่งแสง มีความคงตัว ไม่พบการแยกชั้น ไม่ตกตะกอน ซึ่งเป็นลักษณะทางกายภาพที่ดี และจากการเตรียมนาโนอิมัลชันจากสารสกัดรากชะเอมเทศ ได้นาโนอิมัลชันทั้งหมด 26 สูตร ทั้งนี้ได้คัดเลือกสูตรที่น่าสนใจในแต่ละระบบได้ทั้งหมด 8 สูตร คือ Tea Tree Oil : Tween20 + Ethanol : Water (5 : 4 : 1), Orange Oil : Tween20 + Ethanol: Water (5 : 4 : 1), Tea Tree Oil : Tween20 + Propanol : Water (5 : 4 : 1), Orange Oil : Tween20 + Propanol : Water (5 : 4 : 1), Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1), Orange Oil : Tween80 + Ethanol: Water (4 : 4 : 2), Tea Tree Oil : Tween80 + Propanol : Water (5 : 3 : 2), Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2) ซึ่งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 191.40 ถึง 1412.33 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (PDI) อยู่ในช่วง 0.265 ถึง 0.539 และมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาอยู่ในช่วง -1.31 ถึง 2.34 มิลลิโวลต์ โดยสรุปสูตร Tea Tree oil : Tween80 + Ethanol: Water (6 : 3 : 1) เป็นอัตราส่วนที่ดีที่สุด มีความคงตัวดี ไม่แยกชั้น ไม่ตกตะกอน มีการกระจายตัวที่ดี มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 241.70 นาโนเมตร ค่าการกระจายตัวของอนุภาคเท่ากับ 0.265 และค่าศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -3.69 มิลลิโวลต์

การทดสอบการซึมผ่านแผ่นเซลล์ูโรส อะซิเตสด้วยวิธี Franz Diffusion Cells เพื่อวิเคราะห์ผลของค่าสัมประสิทธิ์การปลดปล่อย (Flux) ของสาร Glycyrrhizic Acid ในสูตรตำรับ นาโนอิมัลชันทั้ง 2 สูตร คือ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1) และ Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2) พบว่า Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1) เป็นสูตรที่ดี มีค่าสัมประสิทธิ์การปลดปล่อยเท่ากับ 49.05 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร. นาที และ Tea Tree Oil : Tween80 + Ethanol : Water (6 : 3 : 1) มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า Orange Oil : Tween80 + Propanol : Water (4 : 4 : 2) จึงสามารถซึมผ่านหรือปลดปล่อยสารได้มากกว่า

จากการวิเคราะห์สาร Glycyrrhizic Acid ด้วยวิธี HPLC โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 254 นาโนเมตร คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ ACE Generix 5 C18, Bath: GEN-6975, Dimension: 150 x 4.6 mm id อัตราการเคลื่อนตัวของสารละลาย 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ระบบ Gradient System 1% Acetic Acid ในน้ำ และ Acetonitrile เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งระบบ 20 นาที สามารถวิเคราะห์สาร Glycyrrhizic Acid เป็นการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของ Peak Area ที่มีความเข้มข้นของสารกลีซิริซิก 7 ระดับ คือ 0.2 - 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และวิเคราะห์ปริมาณสารที่ปลดปล่อย และนำมาวิเคราะห์การทดสอบความถูกต้องของวิธี และวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ พบว่า calibration Curve ของสาร Glycyrrhizic Acid มีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง Peak Area กับความเข้มข้นของสาร r^2 เท่ากับ 0.9999 สมการ คือ $y = 12032x + 3265.9$ โดยมีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.2 - 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์หาปริมาณสาร Glycyrrhizic Acid ด้วยวิธี HPLC พบว่า ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ความแม่นยำภายในหนึ่งวัน (Intraday Precision) มีค่า %RSD เท่ากับ 1.11 และความแม่นยำระหว่างวัน (Intraday Precision) มีค่า %RSD เท่ากับ 1.12

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ควรทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Glycyrrhizic Acid ด้วยวิธี HPLC เพิ่มเติมเพื่อหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy) ค่าเฉลี่ยค่าร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืน (%Recovery) ตรวจวัดความหนืด และตรวจวัดค่าความเป็นกรด - ด่างเพิ่มเติม เพื่อให้เกิดประสิทธิผลที่ดียิ่งขึ้น และยังสามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาสารสำคัญหรือ

น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ ได้ อีกทั้งนำสูตรตำรับนาโนอิมัลชันไปพัฒนาเพื่อให้ตรงกับ
วัตถุประสงค์ที่ต้องการ และสามารถพัฒนาต่อทั้งในรูปแบบของเครื่องสำอางและยา



บรรณานุกรม

- กรกนก สุวรรณราช และคณะ. (2561). การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแวนโคมัยซินในยาเตรียมเฉพาะคราวรูปแบบยาน้ำแขวนตะกอนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 14(4), 132-141
- กัทธิดา เมฆจรสกุล. (ม.ป.ป.). การดูดซึมทางผิวหนัง (*Percutaneous absorption*). สืบค้นจาก <https://ccpe.pharmacycouncil.org>
- ชุมชนเครื่องมือวิทยาศาสตร์ มอ. (2549). หลักการทำงานของ HPLC. สืบค้นจาก <http://www.sec.psu.ac.th>
- ณัฐภู พันธ์ชน. (2558). Validation and Verification of Analytical Procedure For Impurity. *วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม*, 22(2), 19-22.
- มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. (2554). *ชะเอมเทศกับความดันโลหิตสูง*. สืบค้นจาก <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th>
- รพีพร จันทูมา. (2556). การพัฒนาเพื่อการแข่งขันของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวหนังสมุนไพร : กรณีศึกษาจังหวัดขอนแก่น. Graduate Research Conference. สืบค้นจาก <https://gsbooks.gs.kku.ac.th>
- วรนนท์ รังสิมาวงศ์ และคณะเศรษฐี จ้าวหิรัญพัฒน์. (2557). นาโนอิมัลชันในระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง. นครปฐม : มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์.
- วราภรณ์ ชัยนฤมล. (2560). การพัฒนาสารไดไฮออกซีเรสเวอราทรอลในรูปแบบนาโนอิมัลชัน (Unpublished Master' thesis). มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.
- ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2557). แผ่นแปะสิวนาโน (*Q-Acnes*). สืบค้นจาก <https://www2.nanotec.or.th/th/?p=2900>.
- ศูนย์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. (2554). เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. สืบค้นจาก <http://science.skru.ac.th>
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2557). วิธีการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค *Dynamic light scattering*. กรุงเทพมหานคร : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- สุทธิพลินทร์ สุวรรณกุล, สุทธิมาส หยวกหยง, กรรณิการ์ มาลี, พชรวาลี นันบุญตา และภัทรวุฒิ บุร, S. (2557).ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดชะเอมเทศต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เจริญแบบอิสระและแบบไบโอฟิล์ม. Naresuan University Journal: Science And Technology (NUJST), 22(1), 80-90.
- สุปรีย์ดี ตั้งมรกษ์. (ม.ป.ป.) คู่มือการใช้เครื่อง Franz Diffusion Cell Hanson Model 57-6 M. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- Greenclinic. (2018). รากชะเอมเทศ, *Licorice Root*. สืบค้นจาก <https://www.greenclinic.in.th>
- Intiponcheme. (2010). สารสกัดชะเอมเทศ (*Licorice extract*). สืบค้นจาก <http://www.intiponcheme.com>
- Kaijeaw. (2016). ชะเอมเทศ..เป็นยาดี แก้อาไอ ช่วยขับเสมหะ!. สืบค้นจาก <https://kaijeaw.com>
- Kojima, T., Hirota, Y., Ema, M., Takahashi, S., Miyoshi, I., Okano, H. & Sawamoto, K.. (2010). Subventricular zone-derived neural progenitor cells migrate along a blood vessel scaffold toward the post-stroke striatum. *Stem Cells*, 28(3), 545-54. doi: 10.1002/stem.306.
- Kong, M., Chen, X.G., Kweon, D.K. & Park, H.J. (2011). Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier. *Carbohydr Polym*, 86(2), 837-43.
- Krungsri guru. (2017). เครื่องสำอางเมคอินไทยแลนด์ ธุรกิจนี้ยังสดใสท่ามกลาง “คู่แข่ง”. Retrieved from <https://www.krungsri.com>
- Laboratory. (2015). *LABORATORY REPORT: NFN1213 Set1 Sem 1 20152016 SIFAT FIZIKOKIMIA DADAH*. Retrieved from <http://lab2physiopharmacy2015.blogspot.com>
- Nerya, O., Ben-Arie, R., Luzzatto, T., Mussa, R., Khativ, T., & J. Vaya. (2006). Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors. *Postharvest Biol Technol*, 39, 272-277.
- Particle Sciences. (2009). *In Vitro Release Testing Methods for Semisolid Formulations*. Retrieved from <https://www.particlesciences.com>
- Plengt. (2015). *pH ของสารละลาย*. Retrieved from <https://plengt.wordpress.com>

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Puglia C., Rizza L., Drechsler M., Bonina F. (2010) .Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycyrrhetic acid: Characterization and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Deliv*, 17(3), 123-9.
- Specialty Natural Products. (1999). สารสกัดชะเอมเทศแบบน้ำ. Retrieved February 15, 2018, from <http://www.snpthai.com/th>
- Venugaranti, V.V., & Perumal, O.P. (2009). Chapter 9, Nanosystems for Dermal and Transdermal Drug Delivery, In: Pathak, Y. & Thassu, D. (Eds.). *Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization* (pp. 126-55) . New York: Informa Healthcare USA, Inc.

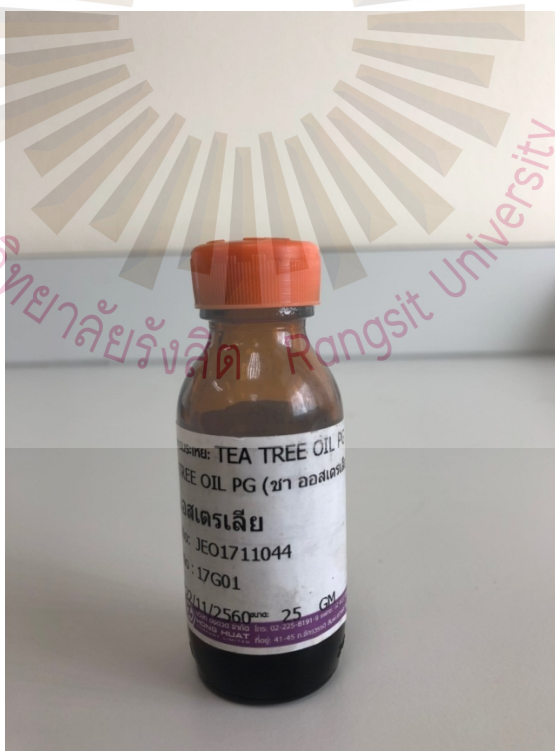


ภาคผนวก





รูปที่ 1 Orange Oil



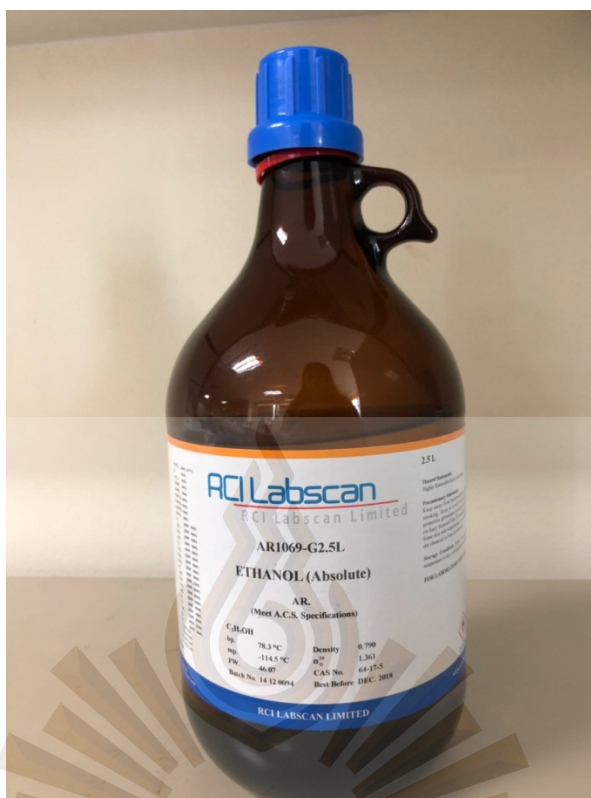
รูปที่ 2 Tea Tree Oil



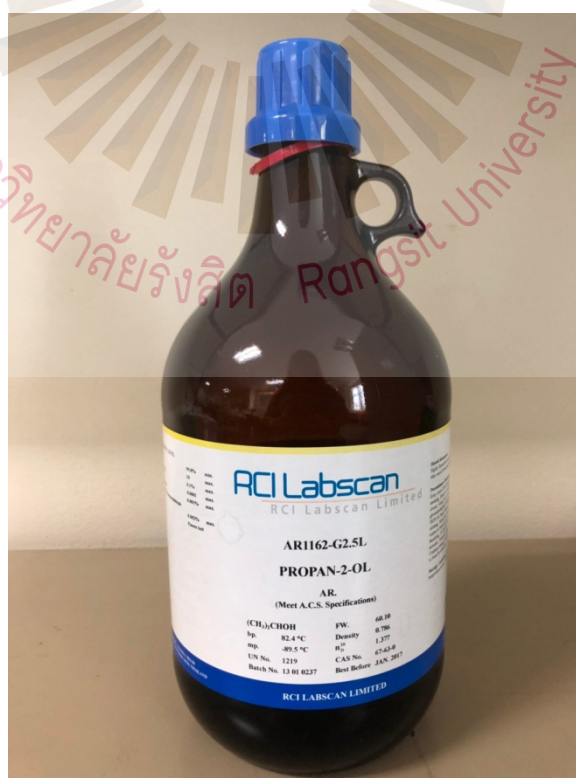
รูปที่ 3 Tween80



รูปที่ 4 Tween20



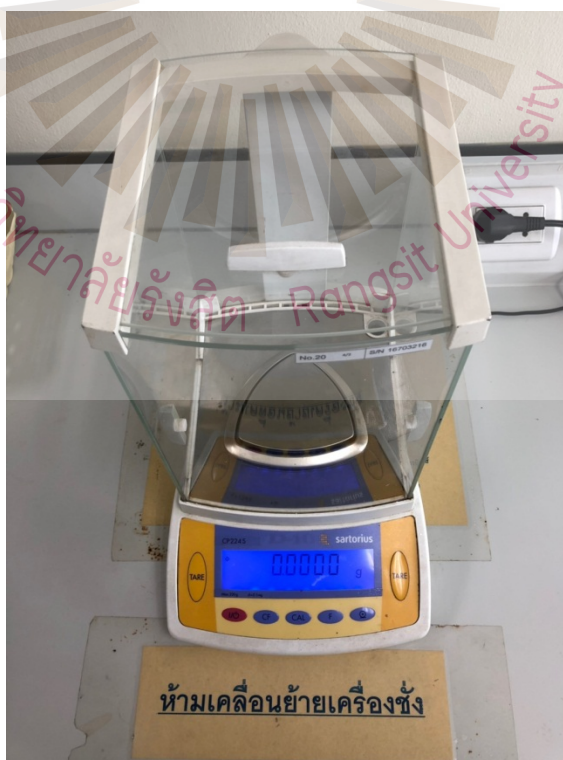
รูปที่ 5 Ethanol



รูปที่ 6 Propanol



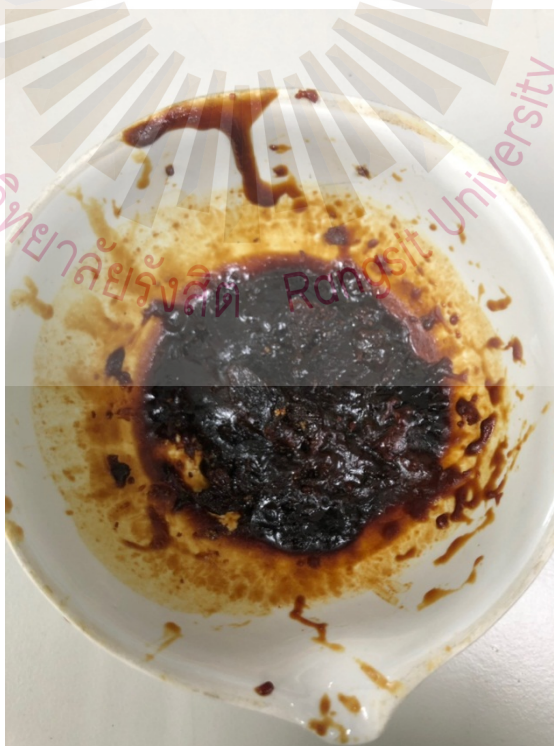
รูปที่ 7 เครื่อง Vortex Mixer



รูปที่ 8 เครื่องชั่ง



รูปที่ 9 สาร Glycyrrhizic Acid



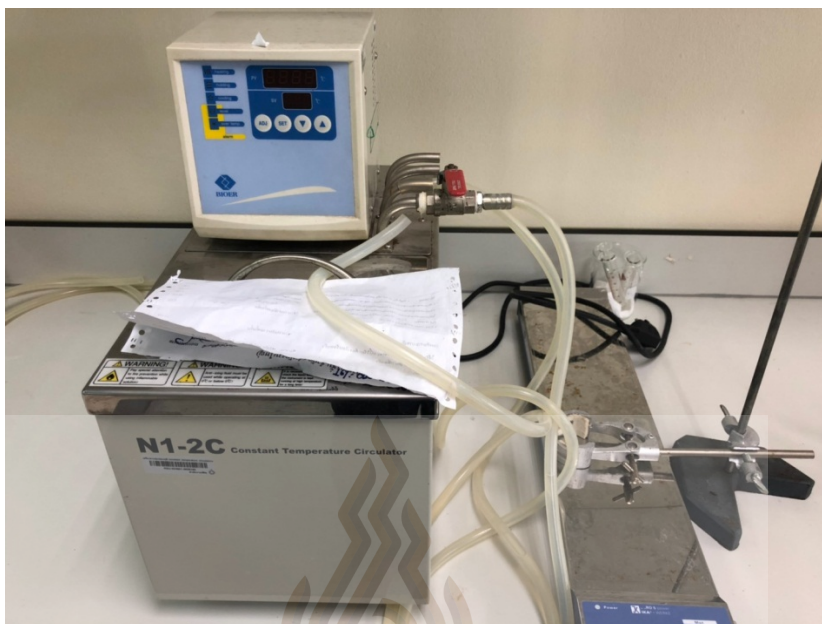
รูปที่ 10 สารสกัดรากชะเอมเทศ



รูปที่ 11 คอลัมน์



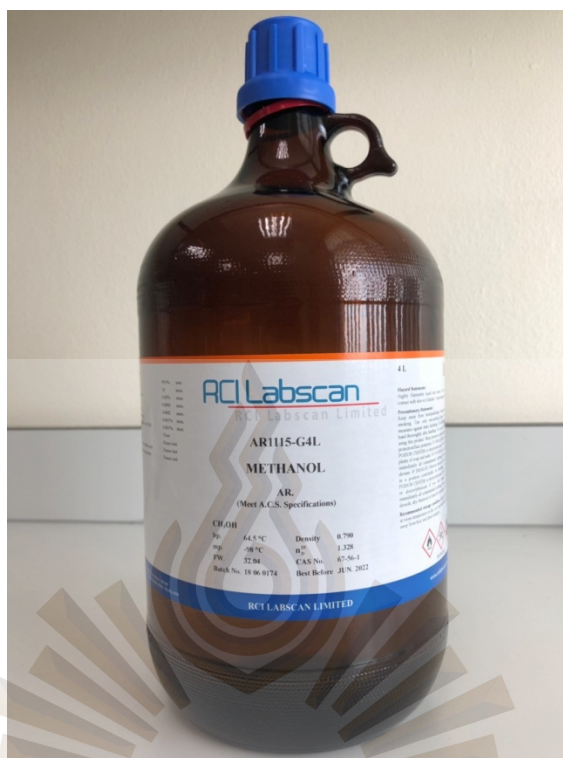
รูปที่ 12 เครื่อง HPLC



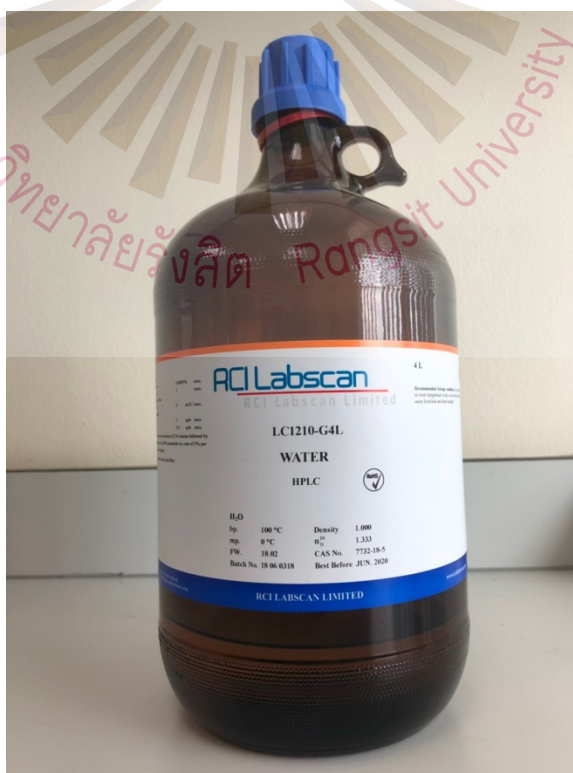
รูปที่ 13 เครื่อง Franz Diffusion Cells



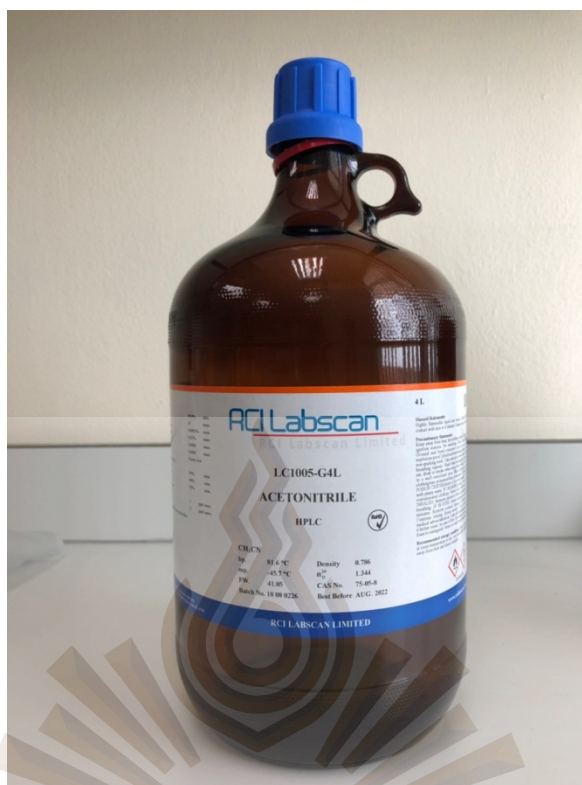
รูปที่ 14 เครื่องวัดขนาดอนุภาคนาโนและค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา



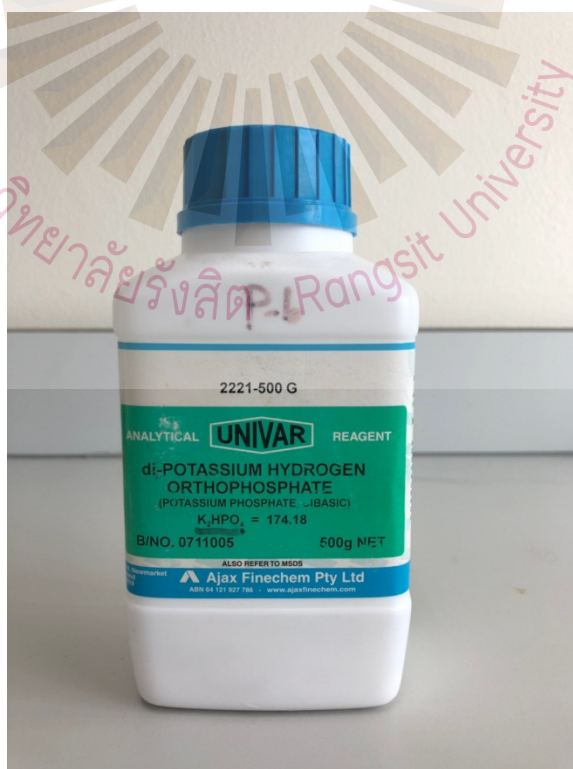
รูปที่ 15 Methanol



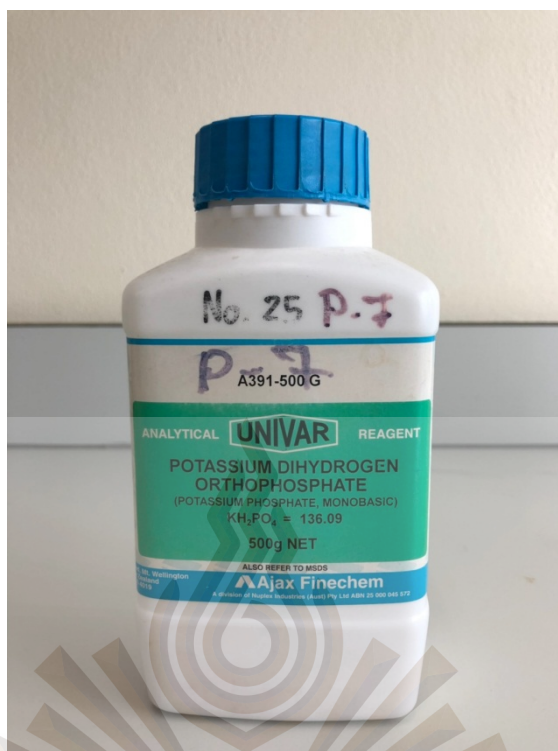
รูปที่ 14 น้ำ HPLC



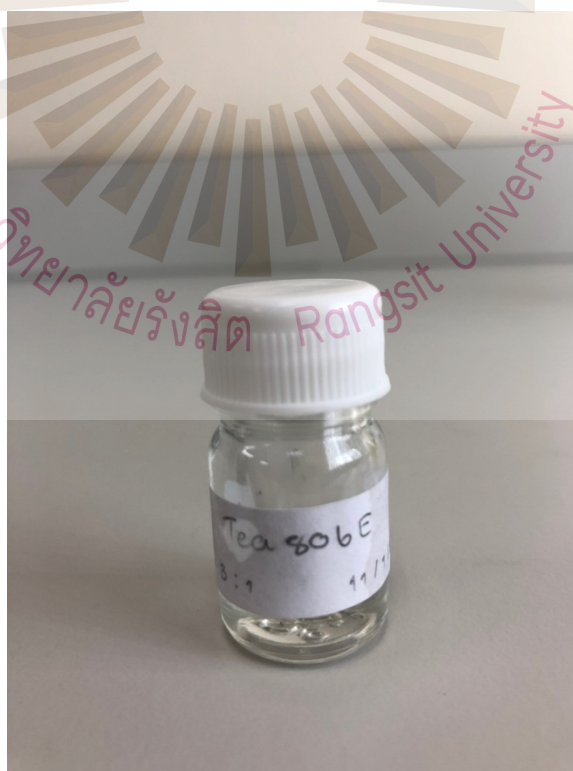
รูปที่ 15 Acetonitrile



รูปที่ 16 Dipotassium hydrogen orthophosphate



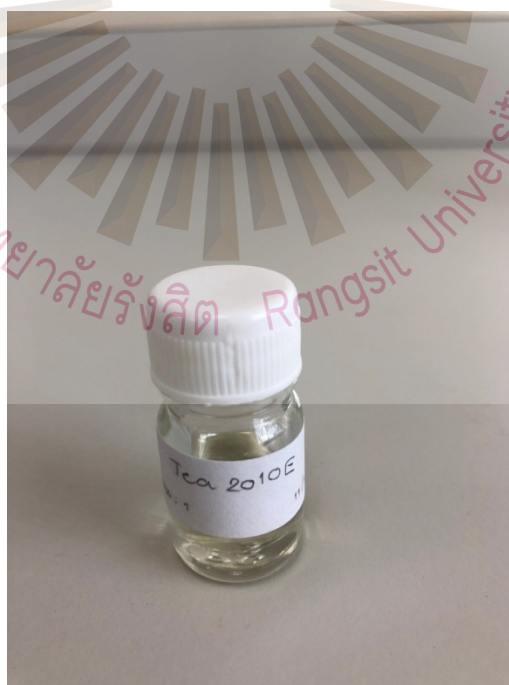
รูปที่ 17 Potassium dihydrogen orthophosphate



รูปที่ 18 ตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน



รูปที่ 19 ตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน



รูปที่ 20 ตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน



รูปที่ 21 ตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน



รูปที่ 22 ตัวอย่างสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นุชนารถ คงทรัพย์
วัน เดือน ปีเกิด	29 เมษายน 2538
สถานที่เกิด	จังหวัดสุราษฎร์ธานี ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาแพทยแผนไทยบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย, 2559 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผน ตะวันออก, 2562
ที่อยู่ปัจจุบัน	52/5 หมู่ที่ 5 ตำบลทุ่งเตา อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84120

