



การพัฒนาสารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

**DEVELOPMENT OF *ANGELICA SINENSIS* EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**



โดย

สุกัญญา ทิราพงษ์

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

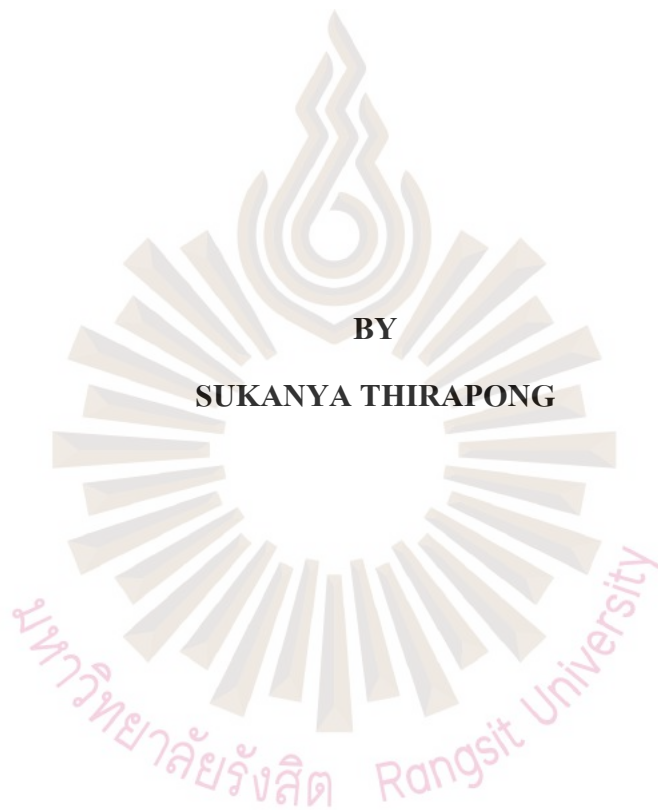
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2561



**DEVELOPMENT OF *ANGELICA SINENSIS* EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**

**BY
SUKANYA THIRAPONG**



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

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2018**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การพัฒนาสารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

โดย

สุกัญญา ทิราพงษ์

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2561

รศ.ดร.พิมล เรียนวัฒนา
ประธานกรรมการสอบ

ดร.สุพรรณิ รัชญะภู
กรรมการ

ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ.ร.ต.หญิง ดร.วรรณิ์ สุขสาคร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

29 มิถุนายน 2561

Thesis entitled

**DEVELOPMENT OF *ANGELICA SINENSIS* EXTRACT
IN NANOEMULSION FORM**

by

SUKANYA THIRAPONG

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

Rangsit University
Academic Year 2018

Assoc.Prof.Pimol Rienvatana, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Suphannee Thanyaphoo, Ph.D.
Member

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

Approved by Graduate School

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

Dean of Graduate School

June 29, 2018

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ทุกท่าน โดยเฉพาะอาจารย์ที่ปรึกษา ปรีก ษา ผศ.ดร. ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา ที่ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ตลอดช่วงการทำวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน และเป็นกำลังใจมาโดยตลอดจนจบการศึกษา

และขอขอบคุณเพื่อนร่วมคณะการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยบูรพาทุกท่านที่ร่วมให้กำลังใจ ให้คำแนะนำเกี่ยวกับงานวิทยานิพนธ์นี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุกัญญา ทิราพงษ์
ผู้วิจัย



5806862 : MAJOR: ORIENTAL MEDICINE; M.Sc. (ORIENTAL MEDICINE)

KEYWORDS : *ANGELICA SINENSIS*, FERULIC ACID, NANOEMULSION, SURFACTANT

SUKANYA THIRAPONG: DEVELOPMENT OF *ANGELICA SINENSIS* EXTRACT NANOEMULSION FORM. THESIS ADVISOR: ASST.PROF. PRASAN TANGYUENYONGWATANA, PH.D., 95 p.

The objective of this research was to develop *Angelica sinensis* extract in nanoemulsion form. The *Angelica sinensis* extract was prepared by maceration in ethanol 95%. The biological activities of *Angelica sinensis* extract included the ability to keep blood flow smoothly and prevent the incident of atherosclerosis. In this study, the basic nanoemulsion formulas composed of surfactant (Tween20, Tween80, and Span80) mixed with essential oil (Avocado oil and Rosemary oil) and distilled water. After that *Angelica sinensis* extract 1% w/w was added to each formula in appropriate ratio follow phase diagrams ratio. And the particle size was reduced with sonicator. The nanoemulsion was selected by the transparent in physical characteristic. The particle size was measured in nanometer scale and zeta potential was found to be small amount of charges. The best ratios composed of Avocado oil : Tween80 : H₂O (3 : 5 : 2) and Rosemary oil : Tween80 : H₂O (2 : 5 : 3) were 161.1 ± 9.89 and 125.2 ± 0.98 nm and zeta potentials were -3.18 ± 1.46 and -2.60 ± 1.30 mV, respectively. For HPTLC method validation, the coefficient (r^2) of linearity has good linear relationship between peak area and concentrations ($r^2 = 0.9933$ and $Y = 874.935 + 3.966X$). The result of intraday precision and interday precision of the assay method was equal to 1.90% and 2.09% respectively. The recovery of the accuracy assay method was $101.01 \pm 6.44\%$. LOD and LOQ were also evaluated which were 90 and 30 ng/ μ L, respectively. The research prepared nanoemulsion of *Angelica sinensis* extract in a good appearance and good stability. They can be applied in pharmaceutical preparation and cosmetics preparation.

Student's Signature Thesis Advisor's Signature

5806862 : สาขาวิชาเอก: การแพทย์แผนตะวันออก; วท.ม.(การแพทย์แผนตะวันออก)

คำสำคัญ : โกงฐเชียง, กรดเฟอรูลิก, นาโนอิมัลชัน, สารลดแรงตึงผิว

สุกัญญา ทิราพงษ์ : การพัฒนาสารสกัดโกงฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

(DEVELOPMENT OF *ANGELICA SINENSIS* EXTRACT IN NANOEMULSION FORM)

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา, 95 หน้า.

การวิจัยนี้มีเป้าหมายในการพัฒนาสารสกัดโกงฐเชียงในรูปแบบของนาโนอิมัลชัน ซึ่งสารสกัดโกงฐเชียงได้ถูกเตรียมขึ้นด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95% สารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติช่วยให้การไหลเวียนของเลือดสะดวกและป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด ในการเตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน เพื่อพัฒนาสารสกัดโกงฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชันโดยการเตรียม สารลดแรงตึงผิว (Tween20, Tween80, และ Span80) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Avocado oil และ Rosemary oil) และน้ำกลั่น จากนั้นนำมาเติมสารสกัดโกงฐเชียง 1% w/w เป็นสารสำคัญลงไปในส่วนต่างๆ ตามเฟสโคเอเรม นำไปลดขนาดด้วยเครื่อง Sonicator เลือกอัตราส่วนที่มีลักษณะทางกายภาพที่โปร่งแสง ไม่แยกชั้น ไปวัดขนาดอนุภาคและความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nano Plus พบว่าอัตราส่วนที่มีขนาดอนุภาคเล็กที่สุดเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ คือ (Avocado oil: Tween80: H₂O) (3 : 5 : 2) และ (Rosemary oil: Tween80: H₂O) (2 : 5 : 3) มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 161.1 ± 9.89 และ 125.2 ± 0.98 นาโนเมตร ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -3.18 ± 1.46 และ -2.60 ± 1.30 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอรูลิกด้วยเทคนิค HPTLC พบว่า ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของสาร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9933 และสมการที่ได้คือ $Y = 874.935 + 3.966X$ ผลการวิเคราะห์ความแม่นยำในแบบ intraday precision และ interday precision พบว่า ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 1.90 และ 2.09 ตามลำดับ การวิเคราะห์ความถูกต้อง พบว่าค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) มีค่าเท่ากับ 101.01 ± 6.44 ผลการวิเคราะห์ค่า LOD และ LOQ มีค่าเท่ากับ 90 และ 30 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรตามลำดับ จากการวิจัยครั้งนี้ทำให้ได้ตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกงฐเชียงที่ดี และมีความคงตัวดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทั้งทางด้านเภสัชกรรมและด้านเวชสำอางได้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 เหตุผลและความจำเป็นที่ต้องทำงานวิจัย	4
1.3 วัตถุประสงค์	4
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
1.6 กรอบแนวคิดการวิจัย	6
1.7 นิยามคำศัพท์เฉพาะที่ใช้ในงานวิจัย	6
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	8
2.1 โกลูเซียง	8
2.2 กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic Acid)	11
2.3 นาโนอิมัลชันในระบบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง	15
2.4 ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแบบสมรรถนะสูง (High Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC)	43
บทที่ 3 วิธีดำเนินวิจัย	47
3.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี	47

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 การเตรียมสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง	49
3.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเฟรุลิก (Ferulic Acid) ในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC)	50
บทที่ 4 ผลการวิจัย	53
4.1 ผลของการเตรียมสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง	53
4.2 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเฟรุลิกในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)	58
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	65
5.1 วิจัยและสรุปผลการทดลอง	65
5.2 ข้อเสนอแนะ	66
บรรณานุกรม	67
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก ก รูปขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย	76
ภาคผนวก ข รูปการวิเคราะห์และผลการวิจัย	89
ประวัติผู้วิจัย	95

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ลักษณะที่มองเห็นภายนอกของอิมัลชันและขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายใน	17
2.2	ข้อแตกต่างระหว่างอิมัลชัน (Emulsion) และนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion)	25
2.3	แสดงองค์ประกอบของนาโนอิมัลชัน	26
4.1	ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน	54
4.2	ลักษณะทางกายภาพขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาเมื่อเพิ่มสารสกัด โกฐเชียง 1% w/w	54
4.3	ผลค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของสารละลายมาตรฐานกรดฟูลิกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรและ Peak Area	59
4.4	ผลของการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายกรดฟูลิก แบบ Intraday Precision	60
4.5	ผลของการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดฟูลิก แบบ Interday Precision	61
4.6	ผลของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของการคืนกลับ (%Recovery) ที่ได้จากการตรวจวัดปริมาณกรดฟูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันในสารสกัด โกฐเชียง	63
4.7	ผลของการศึกษา LOD และ LOQ	64

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงถึงกรอบแนวคิดการวิจัย	6
2.1 แสดงภาพโกฐเชียง	8
2.2 แสดงถึงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ กรดเฟรุลิก (Ferulic Acid)	12
2.3 แสดงถึงชีวสังเคราะห์ของกรดเฟรุลิก	13
2.4 แสดงถึงอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันและอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ	19
2.5 แสดงถึงลักษณะของนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion)	24
2.6 แสดงถึงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนัง	35
2.7 แสดงถึงลักษณะโครงสร้างของชั้นหนังกำพร้า	37
2.8 แสดงถึงเส้นทางการซึมผ่านของสาร	40
2.9 แสดงถึงการแพร่ผ่านของต่อมเหงื่อและรูขุมขน	40
2.10 แสดงถึงลักษณะการดีเวลลอปแบบแซนด์วิช (Sandwich)	44
2.11 แสดงถึงส่วนประกอบของเครื่อง HPTLC	45
4.1 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชัน (ก.) และ แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชันเมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w (ข.)	55
4.2 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาของนาโนอิมัลชัน Avocado Oil : Tween80 : H ₂ O อัตราส่วน 3 : 5 : 2 เมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w	55
4.3 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาของนาโนอิมัลชัน Rosemary Oil: Tween80: H ₂ O อัตราส่วน 2 : 5 : 3 เมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w	56
4.4 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Avocado Oil: Tween80 : H ₂ O อัตราส่วน 3 : 5 : 2	56
4.5 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Rosemary Oil: Tween80 : H ₂ O อัตราส่วน 2 : 5 : 3	57
4.6 แสดงถึงลักษณะ HPTLC Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Ferulic Acid	58

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.7	แสดงถึงลักษณะ Standard Curve ของสารละลายมาตรฐานกรดฟลูอิกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร	59
4.8	แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดฟลูอิก แบบ Intraday Precision (Spot ซ้ำ 6 ครั้ง) เมื่อ Plot ความสัมพันธ์ระหว่าง Peak Area และ จำนวนครั้งการ Spot	61
4.9	แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดฟลูอิก แบบ Interday Precision (ทำซ้ำวันละ 6 ครั้ง) เมื่อ Plot กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Peak Area และ จำนวนครั้งของการ Spot	63



สัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์

ความหมาย

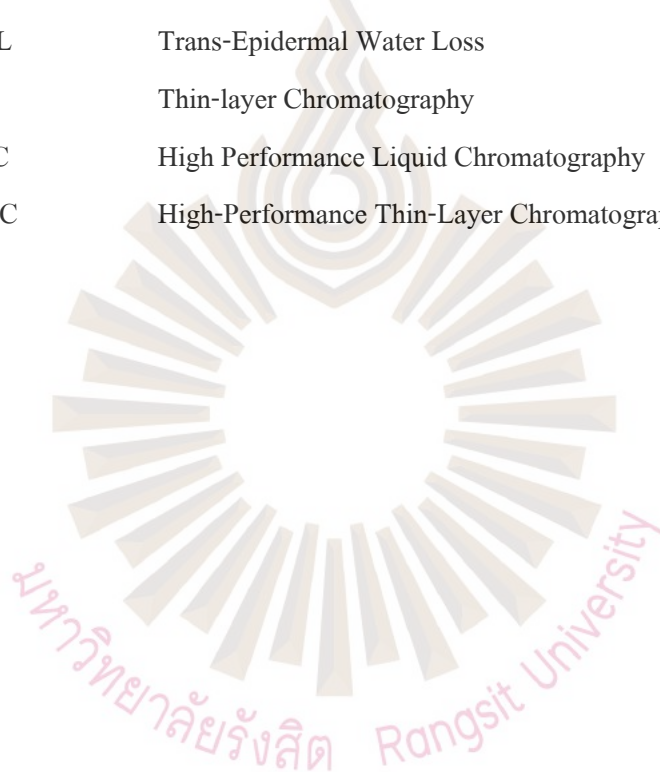
%	เปอร์เซ็นต์
%RH	ความชื้นสัมพัทธ์
%RSD	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
ρ	แรงดันลาปลาซ
°C	องศาเซลเซียส
r^2	coefficient of determination
X	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์
CV	coefficient of variation
mV	มิลลิโวลต์
nm	นาโนเมตร
μm	ไมโครเมตร
cm	เซนติเมตร
μg	ไมโครกรัม
mg	มิลลิกรัม
kg	กิโลกรัม
μl	ไมโครลิตร
ml	มิลลิลิตร
mm	มิลลิเมตร
mg/ml	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
$\mu\text{g/ml}$	ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร
ng/ml	นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร
ng/spot	นาโนกรัมต่อหยด
O/W	น้ำมันในน้ำ
W/O	น้ำในน้ำมัน
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantiation
WHO	World Health Organization

สัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

สัญลักษณ์

ความหมาย

SOD	Superoxide Dismutase
CAT	Catalase
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Reduced Glutathione
TEWL	Trans-Epidermal Water Loss
TLC	Thin-layer Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High-Performance Thin-Layer Chromatography



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปี พ.ศ. 2546 องค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานกระแสการใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรกำลังเป็นที่นิยมทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศที่กำลังพัฒนาและประเทศที่พัฒนาแล้วที่กำลังขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทั้งประเทศในทวีปแอฟริกา เอเชีย หรือลาตินอเมริกาประชาชนกว่าร้อยละ 80 ในทวีปแอฟริกาใช้ระบบการแพทย์พื้นบ้านเป็นหลักในการดูแลสุขภาพและการรักษาโรค องค์การอนามัยโลกประมาณการว่าตลาดยาจากสมุนไพรของโลกจะมีความต้องการสมุนไพรเพื่อเป็นส่วนประกอบของยา อาหาร ตลอดจนผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพิ่มขึ้นไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 ต่อปี ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขที่ได้ระบุว่า มูลค่าการตลาดของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในตลาดโลกปี พ.ศ. 2555 มีมูลค่าถึง 60,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเสริมความงาม ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เครื่องดื่มสมุนไพรและยาสมุนไพร ทั้งนี้ตลาดผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่สำคัญจะอยู่ในยุโรปและอเมริกาเหนือ โดยมีจีนและอินเดียเป็นผู้ครองตลาดการผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพร (กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก สำนักคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและสมุนไพร, 2560)

สำหรับประเทศไทยมีอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรขยายตัวสูงมากในแต่ละปีไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 ผู้บริโภคในประเทศไทยให้ความสนใจในผลิตภัณฑ์ที่พัฒนามาจากสมุนไพรและธรรมชาติเห็นได้จากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตรที่ระบุมูลค่าการใช้และส่งออกสมุนไพรในกลุ่มยาแผนโบราณตามภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยมีมูลค่าประมาณ 10,000 ล้านบาท กระแสการบริโภคผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ผู้บริโภคจำนวนมากได้หันมานิยมใช้ยาจากสมุนไพรทดแทนการใช้ยาจากการสังเคราะห์ทางเคมีที่อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อร่างกายได้ (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2557) การใช้ยาจากสมุนไพรรักษาผู้ป่วยในการแพทย์แผนไทยส่วนใหญ่จะอยู่ในลักษณะเป็นยาตำรับที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิดมากกว่าการใช้สมุนไพรชนิดเดียวเพื่อปรับระบบร่างกายตามธาตุบารุงโลหิตเจริญอาหาร ช่วยให้ชุ่มชื้นใจ ระบายท้องและช่วยทำให้

นอนหลับสบายเป็นการช่วยเสริมให้ร่างกายปรับเข้าสู่ภาวะปกติได้เร็วขึ้นในปี พ.ศ. 2530 เป็นจุดเริ่มต้นการพัฒนาจากสมุนไพรโดยใช้กระบวนการผลิตที่ทันสมัยรวมทั้งการปรับเปลี่ยนรูปแบบยาให้อยู่ในรูปแบบสมัยใหม่โดยอุตสาหกรรมยาสามารถผลิตยาแผนโบราณโดยวิธีการดอกอัดเม็ดวิธีเคลือบ หรือวิธีอื่นๆ อันคล้ายกันและใช้เภสัชเคมีภัณฑ์หรือเภสัชเคมีภัณฑ์สำเร็จรูปในการผลิตยาแผนโบราณ ได้ส่งผลให้เกิดประโยชน์หลายประการทั้งในด้านการสืบทอดองค์ความรู้ด้านการบำบัดโรคที่มีมาแต่ดั้งเดิม ในขณะเดียวกันการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ในการผลิตยาซึ่งช่วยให้ได้ยาจากสมุนไพรที่มีรูปแบบทันสมัยใช้สะดวกและมีคุณภาพมาตรฐานในหลายปีต่อมาทางภาครัฐและเอกชนได้เพิ่มวิธีการผลิตยาสมุนไพร โดยวิธีการนำสารสกัดหยาบ (Crude Extract) จากสมุนไพรมาผลิตเป็นยาสำเร็จรูปในรูปแบบยาแผนปัจจุบันปัจจุบันยาสมุนไพรส่วนมากจะพบในรูปแบบของ ยาต้ม ยาขง ยาแคปซูล ยาขี้ผึ้งและยาน้ำ พบว่า ยาในรูปแบบต่างๆ เหล่านี้มักออกฤทธิ์ได้ไม่นานและไม่เฉพาะเจาะจง ปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาวิธีในการนำส่งยาเพื่อให้เข้าสู่อวัยวะเป้าหมายได้เฉพาะเจาะจงรวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ให้มากยิ่งขึ้นและจากการพัฒนานั้นพบว่านาโนเทคโนโลยีเป็นเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการเป็นระบบนำส่งยาต่างๆ

นาโนเทคโนโลยี (Nanotechnology) เป็นเทคนิคที่พัฒนาอนุภาคเล็กในระดับนาโนเมตรขนาดอนุภาคโดยทั่วไปอยู่ที่ 20-200 นาโนเมตรซึ่งการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ เวชสำอาง และเภสัชกรรมโดยเฉพาะการช่วยให้มีสุขภาพดีและสามารถรักษาโรคได้เริ่มเป็นที่น่าสนใจมากขึ้นการพัฒนาทางการแพทย์บนพื้นฐานของการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้เรียกว่า “NANO-MEDICINE” เป็นศาสตร์เกี่ยวกับการแพทย์หรือตัวยาหรือการบำบัดรักษาโดยใช้ยาที่เกี่ยวข้องกับระบบขนาดนาโนในส่วนของนาโนอิมัลชันเป็นระบบกระจายของน้ำมันในน้ำที่มีขนาดเล็กมากโดยทั่วไปขนาดของวัฏภาคการกระจายตัวอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตร ที่มีลักษณะโปร่งแสงและทำให้คงตัวโดยมีโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจัดเรียงตัวเป็นชั้นเดี่ยวห่อหุ้มน้ำมันที่เป็นของเหลวไว้ตรงกลาง ซึ่งนาโนอิมัลชันมีข้อดีกว่าอิมัลชันทั่วไปคือ เป็นอิมัลชันที่มีความคงตัวทางจลนศาสตร์ (Kinetically Stable) ทำให้ไม่พบการรวมตัวกันของอนุภาคแบบโคแอกกูเลชัน (Coagulation) และ แบบฟล็อกคูเลชัน (Flocculation) ด้วยเหตุนี้ระบบนาโนอิมัลชันจึงเป็นที่น่าสนใจต่อการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งสารสำคัญเพื่อที่จะควบคุมการปลดปล่อยและสามารถออกฤทธิ์ในบริเวณที่จำเพาะได้รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์ในทางการนำส่งสารสำคัญผ่านทางผิวหนังเพื่อเพิ่มการผ่านชั้นผิวหนังนอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการแพร่ผ่านชั้นน้ำและเพิ่มการซึมผ่านชั้นเยื่อต่างๆ ซึ่งในด้านการผลิตระบบนาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ง่ายต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตมีความคงตัวสูงอีกทั้งยังเป็นระบบที่ไม่เป็นพิษและไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อ

ต่างๆในร่างกายเนื่องจากไม่ทำลายเซลล์ของมนุษย์และสัตว์จึงเหมาะที่จะนำมาใช้นำส่งยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาถือเป็นเทคโนโลยีทางการแพทย์ที่นิยมนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง (วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2552 ; Shah, Bhalodia and Shelat, 2010)

ปัจจุบันปัญหาทางด้านสุขภาพเป็นปัญหาลำดับต้นๆ ที่ผู้คนให้ความสนใจกันอย่างมาก โรคส่วนใหญ่จะแสดงอาการและส่งผลกระทบในระยะยาวหนึ่งในนั้นก็คือ โรคเส้นเลือดขอด ซึ่งเป็นโรคที่คนส่วนใหญ่ไม่ค่อยเข้าใจผิดๆ ว่าเส้นเลือดขอดเป็นโรคธรรมดาที่ไม่เป็นอันตรายเพียงแต่ไม่สวยงามเท่านั้นแต่แท้จริงแล้วโรคเส้นเลือดขอด คือ เป็นอาการหรือภาวะที่มีความผิดปกติของหลอดเลือดดำ ส่วนใหญ่หมายถึงความผิดปกติของหลอดเลือดบริเวณขาซึ่งเป็นความผิดปกติของหลอดเลือดดำในหลอดเลือดดำที่ขาเลือดจะถูกลำเลียงกลับไปยังหัวใจภายใต้ความดันประมาณ 20 มิลลิเมตรปรอท โดยที่เลือดในกล้ามเนื้อขาจะเข้าไปในหลอดเลือดดำส่วนลึกส่วนเลือดจากผิวหนังและเนื้อเยื่อที่อยู่รอบนอกจะไหลไปตามหลอดเลือดดำเมื่อมีความผิดปกติของการรวมกันของหลอดเลือดดำที่ตำแหน่งนี้จะทำให้เลือดไหลย้อนลงมาตามหลอดเลือดดำส่วนตื้นทำให้มีการโป่งขยายตัวของหลอดเลือดดำส่วนปลายที่เรียกว่า ภาวะเส้นเลือดขอดพบบ่อยถึง 20-50% ในคนทั่วไป และพบว่าผู้หญิงเป็นมากกว่าผู้ชายถึง 3 เท่า สาเหตุการเกิดโรคเส้นเลือดขอดคือ ผู้ที่ต้องใช้รับน้ำหนักตัวมาก หรือผู้ที่ต้องยืนนานๆ คนอ้วน หญิงตั้งครรภ์ หรือเกิดจากกรรมพันธุ์ ที่มีความผิดปกติของหลอดเลือดดำและหลอดเลือดที่อักเสบอุดตันเป็นต้น (ทวีสิน ดันประยูร, สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ และ พงษ์พัฒน์ พงศ์ นาวิเจริญ, 2550) ในการรักษาของทางแผนปัจจุบันมีการฉีดยาเข้าเส้นเลือดขอดและการผ่าตัดนิยมใช้กับคนที่มีความรุนแรงของเส้นเลือดขอดแต่การบำบัดตามอาการด้วยการประคบประกองด้วยพันผ้าด้วยผ้ายืด (Elastic Bandage) หรือการสวมถุงน่องชนิดพิเศษ (Elastic Stocking) ซึ่งจะช่วยกดหลอดเลือดดำที่โป่งพองทำให้เลือดไหลกลับหัวใจได้ดีขึ้นและลดอาการบวม หรือปวดขา หรือการบำบัดด้วยน้ำมันหอมระเหย ที่มีคุณสมบัติช่วยทำให้เลือดดำไหลเวียนออกจากเนื้อเยื่อได้ดีร่วมกับการนวด เพื่อลดอาการบวมที่ปลายมือปลายเท้าและจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงของผนังหลอดเลือดเพิ่มออกซิเจนไปเลี้ยงบริเวณหลอดเลือดดำทำให้หลอดเลือดดำบีบตัวดีขึ้นลดการคั่งของเลือดดำและช่วยบรรเทาอาการอักเสบได้เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับคามสนใจ (พศุณิศ สารมาศ และ คณะ, 2551)

จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับข้อมูลเกี่ยวกับสารสกัดในสมุนไพรโกฐเชียงที่มีกรดเฟอร์ูลิก (Ferulic Acid) ที่มีคุณสมบัติช่วยให้การไหลเวียนของเลือดไม่ติดขัด ช่วยให้ออกซิเจนการแข็งตัวของเลือด หรือป้องกันสาเหตุการเกิดโรคเส้นเลือดขอดและมีองค์ประกอบทางเคมี คือ

Alkylphthalides ในน้ำมันหอมระเหยมีสารแซฟโรล (Safrole), สารไอโซแซฟโรล (Isosafrole), สารคาร์วาคโรล (Carvacrol) เป็นต้นนอกจากน้ำมันหอมระเหยแล้วยังมีสารอื่นๆอีกหลายชนิด เช่น มีสารไลกัสติไลด์ (Ligustilide), กรดเอ็น-วาเลอโรฟีโนน-โอ-คาร์บอกซิลิก (N-Valerophenone-O-Carboxylic Acid), ฟีนิล โพรพานอยด์ (Phenylpropanoids), คูมาริน (Coumarin), โพลีอะเซทิลีน (Polyacetylene) เป็นต้น (อัญชนา แสงรุ่งเมือง, 2555)

1.2 เหตุผลและความจำเป็นที่ต้องทำงานวิจัย

เนื่องจากเคยมีผู้ทำการวิจัยเกี่ยวกับ การพัฒนาสารสกัด โกลูเซียงในรูปแบบ Microemulsion มาแล้ว ซึ่งสามารถพบได้ในหลายงานวิจัย เช่น การวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟรูลิกด้วย เครื่องเดซิโดมิเตอร์และผลกระทบของอุณหภูมิ เวลาและสารลดแรงตึงผิว ต่อความคงตัวของกรดเฟรูลิกจากสารสกัด โกลูเซียงในรูปแบบไมโครอิมัลชัน ซึ่งผลที่ได้พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันที่ผสม สารสกัด โกลูเซียงและใช้น้ำมันกานพลู (Clove Oil) ที่เป็นวัตถุดิบน้ำมันสามารถทำให้เกิดระบบไมโครอิมัลชันได้ดีทั้งตำรับที่ใช้ Tween 20 และ Cremophor RH 40 เป็นสารลดแรงตึงผิวขนาดอนุภาคของไมโครอิมัลชันอยู่ในระดับนาโนเมตรและอนุภาคที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าเป็นลบ (นิรันดร์ เข้มไผ่, 2557) จากรายงานการวิจัยที่ได้กล่าวมานี้ยังไม่พบงานวิจัยเกี่ยวกับ การพัฒนาสารสกัด โกลูเซียงในรูปแบบที่เป็น Nanoemulsion ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำมาทำเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แก้เส้นเลือด ขอด

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อพัฒนาสารสกัด โกลูเซียงในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

1.3.2 เพื่อศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมขององค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิว น้ำมันหอมระเหย และน้ำ เพื่อสร้างนาโนอิมัลชัน

1.3.3 เพื่อศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟรูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัด โกลูเซียงโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบชั้นบางสมรรถนะสูง (High Performance Thin-Layer Chromatography; HPTLC)

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการพัฒนาสารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชันโดยขั้นตอนการวิจัยเริ่มต้นจากการสกัดสารสกัดโกฐเชียงโดยนำโกฐเชียงมาบดหยาบและหมักด้วยเอทานอล 95%ทิ้งไว้ 7 วัน เช้าหรือคนทุกวัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากหมักครบ 7 วัน ให้กรองด้วยเครื่องกรองบุชเนอร์ (Buchner) นำสารที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ (Rotary Evaporator) จนได้สารที่มีลักษณะข้นเหนียว เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude Extract) นำสารใส่ขามระเหย แล้วนำไปตั้งบนอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง สังเกตดูสารจนกว่าจะแห้งสนิทๆ ไม่เหลวปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ให้สนิท จากนั้นจึงเริ่มเตรียมตัวอย่างสูตรตำรับพื้น ซึ่งจะประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ได้แก่ Tween20, Tween80 และ Span80 ผสมกับน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) น้ำมันอโวคาโด (Avocado Oil) และน้ำมันโรสแมรี่ (Rosemary Oil) และน้ำกลั่น ในอัตราส่วนตามเฟสไดอะแกรมโดยจะเตรียมทั้งหมด 36 อัตราส่วน นำไปวัดขนาดอนุภาค (Particle) และวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระดับนาโนและวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Nano Plus ; Micrometric Instrument Co-operation, USA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเลือกตัวอย่างสูตรตำรับพื้นที่มีขนาดเล็กที่สุดในเฟสนี้มาเพิ่มสารสกัดโกฐเชียงลงไปแล้วจึงนำมาปั่นด้วยเครื่องโซนิคเคทและนำไปวัดขนาดอนุภาค (Particle) และวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคระดับนาโนและวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาอีกครั้ง หลังจากนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารฟรุติคด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแบบสมรรถนะสูง HPTLC

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาการพัฒนาสารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบของนาโนอิมัลชันเพื่อนำมาใช้ในระบบนำส่งสารสำคัญผ่านทางผิวหนังซึ่งนาโนอิมัลชันยังมีความคงตัวทางจลนศาสตร์ที่มีความหนืดต่ำและมีลักษณะที่โปร่งแสงจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายวัตถุประสงค์ อีกทั้งยังง่ายต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตจึงสามารถเป็นการลดต้นทุนในการผลิตลงได้นอกจากนั้นยังได้วิธีควบคุมคุณภาพของกรดฟรุติคในนาโนอิมัลชันที่ใส่สารสกัดโกฐเชียง

1.6 กรอบแนวคิดการวิจัย



รูปที่ 1.1 แสดงถึงกรอบแนวคิดการวิจัย

1.7 นิยามคำศัพท์เฉพาะที่ใช้ในงานวิจัย

นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion) หมายถึง ระบบที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวน้ำมันหอมระเหย และน้ำ โดยทั่วไปจะมีขนาดอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตร มีลักษณะโปร่งใสหรือโปร่งแสงเมื่อมองด้วยตาเปล่า เนื่องจากมีความคงตัวทางจลน์ศาสตร์สูงและมีการเคลื่อนไหวแบบบราวน์เนียน อีกทั้งเป็นระบบที่ไม่เป็นพิษและไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อเมือกต่างๆ ในร่างกายในด้านการผลิตระบบนาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ง่ายต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตต้นทุนการ

ผลิตต่ำและมีความคงตัวสูง จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการนำส่งยาหรือสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการรักษาได้

กรดเฟอร์ุลิก (Ferulic Acid) หมายถึง สารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง กรดเฟอร์ุลิกสามารถกำจัดอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide), ซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide), ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และ ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen Dioxide) เป็นต้น กรดเฟอร์ุลิกไม่ได้กำจัดเฉพาะอนุมูลอิสระแต่ยังเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่รับผิดชอบต่อการกำจัดอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ที่กระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ พบได้ทั่วไปในอาหารที่รับประทาน เช่น ธัญพืช ผลไม้กลุ่มที่มีรสเปรี้ยว มะเขือยาว กาแฟ หน่อไม้ กะหล่ำปลี ผักขม บร็อคโคลี่ ถั่วลิสง เป็นต้น

สารสกัดหยาบ (Crude Extracts) หมายถึง สารที่ได้จากการนำพืชสมุนไพรมาบดให้ละเอียด แล้วนำไปแช่ในตัวทำละลาย Ethanol 95% ทิ้งไว้ 7 วัน แล้วกรองเอาส่วนที่เป็นของเหลวออกมานำสารละลายที่ได้มาระเหยจนแห้งสนิท

สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) หมายถึง สารประกอบที่ทำให้แรงตึงผิวของของเหลวลดลง ช่วยให้การกระจายตัวของของเหลวดีขึ้น และช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลวสองชนิดหรือระหว่างของเหลวกับของแข็ง สารลดแรงตึงผิวสามารถใช้เป็น น้ำยาซักล้าง อิมัลชัน โฟมล้างเอเจนต์ หรือ ดิสเพนส์เซนต์ สารลดแรงตึงผิวมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว เมื่ออยู่ในน้ำจะจัดตัวเป็นไมเซลล์

High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) หมายถึง การวิเคราะห์แบบโครมาโทกราฟีแบบชั้นบางสมรรถนะสูง ทำให้การแยกสารดีขึ้นและยังได้นำไปผนวกกับเครื่องวัดความหนาแน่น (Densitometer) ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับสารเพิ่มขึ้นช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์และใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ ประกอบกับมีเทคนิคต่างๆช่วยในการตรวจสอบสารที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วย HPLC และสามารถทำการวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกันจึงประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 โกงฐเชียง



รูปที่ 2.1 แสดงภาพโกงฐเชียง
ที่มา : บ้านสมุนไพรโอสด, 2560.

ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Angelica sinensis</i> Oliv. Diels
ชื่อวงศ์	APIACEAE (UMBELLIFERAE)
ชื่ออื่นๆ	ดังกฤษ กฤษบัว ยจีนกฤษ ขวินกฤษ ชื่อดังกฤษ หมินดังกฤษ
ชื่ออังกฤษ	Chinese angelica, Lovage, Dong quai
ส่วนที่ใช้	รากแห้ง
กลิ่นและรส	มีกลิ่นหอมแรงเฉพาะ รุน รสหวาน ขมและเผ็ดเล็กน้อย
สรรพคุณ	

การแพทย์แผนไทย : รากโกงฐเชียง แก้ไข้แก้สะอึก แก้ไอ แก้หอบแก้เสียดแทง
สอกรว้าง รักษาความผิดปกติของประจำเดือน ปวดประจำเดือน ใช้รักษาอาการปวดท้อง ปวดข้อ

และอาการปวดหลังจากการผ่าตัด แก่ท้องผูก ดับอักเสบเรื้อรัง บำรุงโลหิต กระจายโลหิตช่วยให้การไหลเวียนของเลือดไม่ติดขัดป้องกันการแข็งตัวของเลือด

การแพทย์แผนจีน : มีฤทธิ์บำรุงเลือดทำให้เลือดหมุนเวียนรักษาโรคที่เลือดในระบบหัวใจและตับพร่อง (มีอาการหน้าซีดเหลืองวิงเวียนใจสั้น) การไหลเวียนของเลือดติดขัด (มีอาการประจำเดือนไม่ปกติปวดประจำเดือนประจำเดือนไม่มา) เลือดพร่องต่างๆเช่นการไหลเวียนของเลือดติดขัดและมีความเย็นจัด (มีอาการเลือดคั่งฟกช้ำในปวดไขข้อไขข้ออักเสบ) ให้ความชุ่มชื้นกับลำไส้ (ลำไส้แห้งร้อนท้องท้องผูก) และมีฤทธิ์ระงับปวดรักษาโรคแผลฝีหนองลดอาการบวมแก้ปวดเป็นต้น

นอกจากนี้ การแพทย์แผนจีนนิยมใช้ในตำรับยาเกี่ยวกับโรคทางนิเวศ เช่น ใช้เป็นยาขับระดู แก้กตึขึ้น ขับรก และแก้ไข้ในเรือนไฟ ยาที่เกี่ยวกับอาการเลือดออกทุกชนิด แก่หัวัด แก่ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อตกมูกเลือด (สมุนไพรรดอมคอม, www.samunpri.com, พฤษจิกายน 2559)

องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันหอมระเหย (0.4-0.7%) ซึ่งประกอบด้วยสารหลักคือ Alkylphthalides ในน้ำมันหอมระเหยมีสารแซฟโรล (Safrole), สารไอโซแซฟโรล (Isosafrole), สารคาร์วาครอล (Carvacrol) เป็นต้น นอกจากน้ำมันหอมระเหยแล้วยังมีสารอื่นๆอีกหลายชนิด เช่น สารไลกัสติไลด์ (Ligustilide), กรดเฟรูลิก (Ferulic Acid), กรดเอ็น-วาเลอโรฟีโนน-โอ-คาร์บอซิก (N-Valerophenone-O-Carboxylic Acid) นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids), ฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoids), คูมาริน (Coumarin), โพลีอะเซทิลีน (Polyacetylene) (อัญชนา แสงรุ่งเมือง, 2555)

2.1.1 การศึกษาทางเภสัชวิทยา

การศึกษาฤทธิ์สมานแผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากรากโกฐเชียง โดยทำการทดลองในหนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่เหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยกรด Acetic Acid จากนั้นให้สารสกัดของโกฐเชียงขนาด 25 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม วันละหนึ่งครั้ง เมื่อครบสามวันพบว่า สารสกัดของโกฐเชียงสามารถลดขนาดแผลในกระเพาะอาหารลงได้ 95% และ 62%ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าหลังผ่านไป 7 วันสามารถลดขนาดแผลในกระเพาะอาหารลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (57%, $p < 0.01$) และผลการทดลองการเพิ่มการสร้างเยื่อเมือกในกระเพาะ

อาหารพบว่า หลังจากให้สารสกัดโกฐเชียงครบ 8 วัน สามารถเพิ่มการสร้างเชื้อเมือกในกระเพาะอาหารได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Antiangiogenesis) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ในระหว่างขบวนการสมานแผลในกระเพาะอาหาร ในกรณีการเกิดแผลเรื้อรังจนมีพยาธิสภาพของเนื้องอก หรือมะเร็งเส้นเลือดใหม่จะส่งสารอาหารและออกซิเจนไปยังเซลล์เหล่านี้ การทดสอบพบว่า สารโพลีแซคคาไรด์ที่แยกได้จากรากโกฐเชียง ขนาด 50 mg/kg เมื่อให้แกหนูในวันที่ 8 สามารถลดการสร้างเส้นเลือดใหม่ได้ (Ye, et al., 2003)

การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่า สารสกัดน้ำและสารสกัดแอลกอฮอล์ 95% จากโกฐเชียง มีฤทธิ์กระตุ้น H1 Receptor ที่มดลูกของหนู สาร Ligustilide มีผลในการยับยั้งการบีบตัวของมดลูกของสัตว์ทดลองหลายชนิด เช่นเดียวกับสาร Ferulic Acid และ Tetramethypyrazine ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของมดลูกหนู นอกจากนี้ยังพบว่าสาร Ferulic Acid ยังมีฤทธิ์ป้องกันตับอักเสบที่เกิดจากอนุมูลอิสระของออกซิเจน ป้องกันการแข็งตัวของเลือด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (นพมาศสุนทรเจริญนทร์, อุทัย โสชนะพันธุ์, และ ประไพ วงศ์สินมั่นคง, 2551, น.91-101) สารสกัดโกฐเชียง 105 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีบทบาทในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันใน Mitogen-Stimulate Murine Lymphocytes ในหลอดทดลอง (Wilasrusmee et al, 2002) ผลการวิจัยทางเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่า กรดเฟรูลิก เป็นสารสำคัญหลักในโกฐเชียงที่มีหน้าที่สำคัญต่อการรักษาทางการแพทย์ (Liu et al., 2014)

2.1.2 การศึกษาทางคลินิก

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Lipid Peroxidation) และฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของสารสกัด Polysaccharides ของโกฐเชียงโดยการสกัดสารสำคัญ และทำการแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค HPLC พบว่า สารสกัด Polysaccharid ของโกฐเชียงมีองค์ประกอบเป็น Monosaccharides แปดชนิด คือ Mannose, Rhamnose, Glucuronic Acid, Galacturonic Acid, Glucose, Galactose, Arabinose และ Fucose ในอัตราส่วน 1.2:4.5:1:10.5:17.8:37.5:8.7:4.9 ทำการทดลองในอาสาสมัครหญิงอายุ ≥ 55 ปี ที่มีสุขภาพดีจำนวน 90 คน แบ่งออกเป็นสามกลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่รับประทานสารสกัด Polysaccharides ของโกฐเชียง ขนาด 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม 3 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 3 เดือน กลุ่มที่สามได้รับการออกกำลังกายแบบไทชิวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 30 นาที ทำการศึกษาเป็นเวลาสามเดือน และทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าระดับเอนไซม์

Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx) และ Reduced Glutathione (GSH) ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัด Polysaccharides ของโกฐเชียง และกลุ่มที่ได้รับการออกกำลังกายแบบไทชิ พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (Juan, et al., 2009)

2.1.3 การศึกษาทางพิษวิทยา

การศึกษาการเกิดพิษถึงเฉียบพลัน โดยทำการทดลองในหนูแรทเพศเมีย สายพันธุ์ Sprague-Dawley อายุ 12 สัปดาห์ ที่ถูกตัดรังไข่จำนวน 15 ตัว แบ่งออกเป็นสามกลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่สองและสามจะได้รับสารสกัด 70% เอทานอลจากรากโกฐเชียงในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 2000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ป้อนสารสกัดทุกวัน เป็นเวลา 28 วัน ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักตัว น้ำหนักของอวัยวะ และค่าพารามิเตอร์ทางชีวภาพ ได้แก่ Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Transaminase (ALT), Gamma-Glutamyltransferase (GGT), Glucose, BUN, Alkaline Phosphatase (ALP), Creatinine, Total Protein ของสัตว์ทดลองไม่มีเปลี่ยนแปลงหรือไม่แสดงความผิดปกติ จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำรากโกฐเชียงมาใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับหญิงวัยหมดประจำเดือน เพื่อรักษาภาวะกระดูกพรุนได้อย่างปลอดภัยในขนาดที่ใช้ทดลอง (Lim and Kim, 2014)

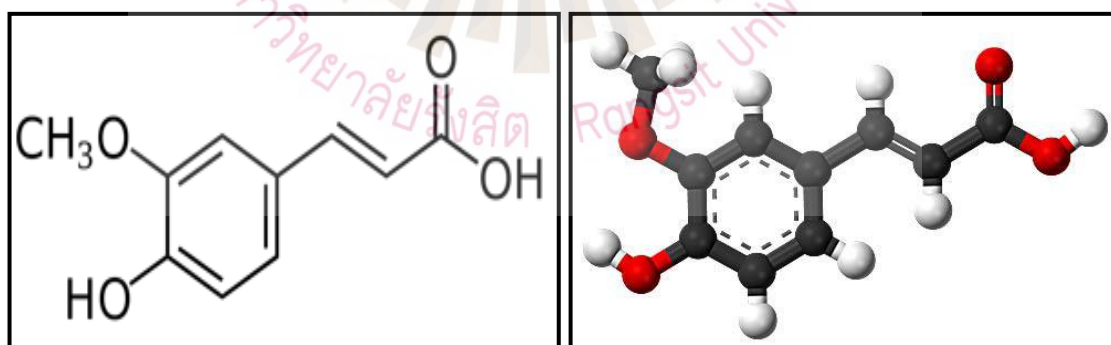
2.2 กรดเฟรูลิก (Ferulic Acid)

กรดเฟรูลิก (Ferulic Acid) เป็นสารพฤษเคมีที่มีอยู่ในกลุ่มของโพลีฟีนอล (Polyphenol) ในสารประกอบประเภทฟีนอลิก (Phenolic Compound) และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอโรมาติก (Aromatic) มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุลมีลักษณะเป็นผลึกสีขาวละลายน้ำได้ในธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในรูปกรดเฟรูลิกชนิดทรานส์ (Trans - Ferulic acid) ที่มีชื่อทางเคมีคือ (E)-3-(4-Hydroxy-3-Methoxy-Phenyl) Prop-2-enoic และมีสูตรของโมเลกุลคือ $C_{10}H_{10}O_4$ น้ำหนักโมเลกุล 194.184 กรัม จุลหนวล 168-172 องศาเซลเซียส

กรดเฟรูลิก เป็นกรดฟีนอลิก (Phenolic Acid) ที่พบได้ทั่วไปในอาหารที่รับประทานกันทั่วไป เช่น ธัญพืช ผลไม้กลุ่มที่มีรสเปรี้ยว มะเขือยาว กาแฟ หน่อไม้ กระหล่ำปลี ผักขม บร็อคโคลี่ ถั่วลิสง บีทรูต เป็นต้น (Zhao and Moghadasian, 2008) กรดเฟรูลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านแบคทีเรีย สารต้านการอักเสบ สารต้านการเกิดลิ่มเลือด และสารต้านมะเร็ง รวมทั้งยัง

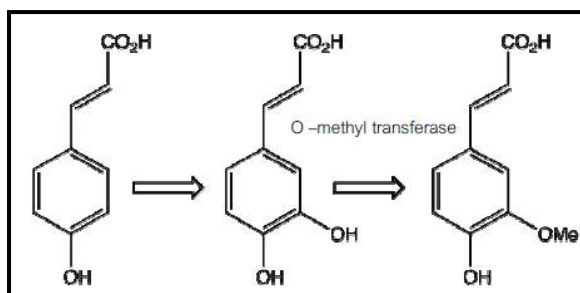
สามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โรคความเสื่อมทางระบบประสาททำให้ระดับคอเลสเตอรอลต่ำลงและยังเพิ่มความสามารถมีชีวิตอยู่ของตัวสุจิซึ่งผลกระทบของสารนี้ต่อสุขภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณที่บริโภคและคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์สามารถพบกรดเฟรูลิกปริมาณมากทั้งในรูปแบบอิสระและเชื่อมติด (Bound Form) ในผัก ผลไม้ ธัญพืช และกาแฟ กรดเฟรูลิกถูกดูดซึมโดยกระเพาะอาหารและลำไส้และจะถูกเผาผลาญที่ตับ ทั้งนี้การดูดซึมและเผาผลาญขึ้นอยู่กับปริมาณที่ได้รับชนิดของอาหารและลักษณะของกรดเฟรูลิก (Butkhup, Samappito & Samappito, 2013)

กรดเฟรูลิกมีความเป็นพิษต่ำ มีค่า LD_{50} เท่ากับ 2,113-2,445 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวหนูสามารถถูกดูดซึมและเผาผลาญได้ง่ายในร่างกายมนุษย์ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ ทำให้กรดเฟรูลิกเป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางโดยถูกใช้เป็นตัวเติมในการผลิตวานิลลาและวัตถุดิบเสียใช้เป็นสารเชื่อมในการเตรียมวุ้นอาหารฟิล์มที่รับประทานได้เป็นส่วนประกอบในอาหารสำหรับนักกีฬาและสารป้องกันผิวหนังสามารถเตรียมกรดเฟรูลิกได้โดยการสังเคราะห์ทางเคมีและการแปรรูปทางชีววิทยากรดเฟรูลิกที่พบมากในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของโพลีแซคคาไรด์เฟอรูเลท ในประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้ใช้เป็นสารป้องกันการออกซิเดชันในอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง (Ou and Kwok, 2004) ในอเมริกาและประเทศในยุโรปส่วนใหญ่จะมีการระบุว่าน้ำมันหอมระเหยทางการแพทย์หลายชนิดและสารสกัดธรรมชาติจากสมุนไพร กาแฟ ถั่ว วานิลลา เครื่องเทศ และพืชอื่นๆ มีปริมาณกรดเฟรูลิกสูงและสามารถนำไปผสมในอาหารเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยา (Lawrence, 1993)



รูปที่ 2.2 แสดงถึงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ กรดเฟรูลิก (Ferulic acid)

ที่มา: พูนทรัพย์ วิชัยพงษ์, 2550



รูปที่ 2.3 แสดงถึงชีวสังเคราะห์ของกรดเฟอร์ุลิก

ที่มา : พูนทรัพย์ วิชัยพงษ์, 2550

กรดเฟอร์ุลิกมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide), ซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide), ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และ ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen Dioxide) ในปี ค.ศ. 1999 พบว่า กรดเฟอร์ุลิกยังสามารถกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl) ในระบบปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) โดยใช้เทคนิค Pulse Radiolysis ในการแสดงประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลกรดไฮดรอกซินนามิก (Hydroxycinnamic Acids) ซึ่งรวมถึงกรดเฟอร์ุลิก, กรดซินแนปิก, และคาเฟอิก เป็นต้น กรดเฟอร์ุลิกไม่ได้กำจัดเฉพาะอนุมูลอิสระแต่ยังเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่รับผิดชอบต่อการกำจัดอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ที่กระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ (Ou and Kwok, 2004.)

2.2.1 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของกรดเฟอร์ุลิก (Ferulic acid)

การศึกษาเภสัชวิทยาของกรดเฟอร์ุลิกความสามารถทางเภสัชวิทยาและชีววิทยาของกรดเฟอร์ุลิก ประกอบด้วย เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านเชื้อจุลชีพ และด้านการอักเสบ ป้องกันภาวะตับโต และการต้านมะเร็ง (Andelmi et al., 2004 ; Rukkumani et al., 2004) กรดเฟอร์ุลิกยังช่วยยับยั้งกระบวนการสร้างเมลานินทำให้ผิวขาวขึ้น กรดเฟอร์ุลิกสามารถเพิ่มความคงตัวให้กับวิตามินซีและวิตามินอีในตำรับและยังเพิ่มศักยภาพในการป้องกันผิวหนังจากการกระตุ้นของแสงอาทิตย์ได้เป็นสองเท่า กรดเฟอร์ุลิกถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับอายุและวัย เช่น โรคที่มีการถูกทำลายของเซลล์ที่ประสาทในสมอง ได้แก่ โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease), โรคพาร์กินสัน (Parkinson's Disease), โรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary Artery Disease), โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) โรคมะเร็ง (Cancer) (Eugenio Brarone et al., 2009)

ต่อมามีรายงานการวิจัยได้กล่าวเกี่ยวกับกรดฟูลิคสามารถต้านมะเร็งหลายชนิดโดยใช้กรดฟูลิคอิสระบริสุทธิ์ เพื่อทำการศึกษากลัซจนศาสตร์ในหนูแรทสายพันธุ์วิสตาได้ผลสรุปว่า กรดฟูลิคอิสระไม่ผ่านเข้าไปสู่ระบบการไหลเวียนโลหิตของลำไส้และตับ ดังนั้น ผลการป้องกันทางเคมีของกรดฟูลิคต่อการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับกรดฟูลิคที่เชื่อมติดกับกากเยื่อใยในเซลล์ของพืชซึ่งสามารถเข้าไปถึงลำไส้ใหญ่และบางส่วนถูกปลดปล่อยโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่

ต่อมามีรายงานการวิจัยการศึกษาผลของกรดฟูลิคต่อมะเร็งช่องปากของหนูขาว โดยการให้หนูขาวที่ได้รับ 4-ไนโตรควิโนลิน-1-ออกไซด์ (4-Nitroquinoline-1-Oxide) ผสมในน้ำดื่มโดยให้ปริมาณ 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้หนูขาวได้รับกรดฟูลิคในอาหารด้วยปริมาณ 500 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม พบว่า อัตราการเกิดมะเร็งที่ลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลาถึง 32 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า กรดฟูลิคมีคุณสมบัติเป็นสารเคมีที่ใช้ป้องกันมะเร็งในช่องปากได้ (Mori et al, 1999) และรายงานวิจัยการศึกษาผลของการให้กรดฟูลิคในอาหารที่มีต่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโดยเอซอกซิมิเทน (Azoxymethane) หลังจากเวลาผ่านไป 35 สัปดาห์ พบว่า หนูขาวที่ได้รับกรดฟูลิคในระยะเริ่มแรกด้วยปริมาณที่ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม สามารถลดการเกิดมะเร็งที่ลำไส้ใหญ่ได้ นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่า กรดฟูลิคสามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารพิษในระยะที่ 2 ซึ่งก็คือกลูตาไทโอน-เอส-ทรานส์เฟอเรส (Glutathione-S-Transferase) และควิโนน-รีดักเตส (Quinone-Reductase) ในตับและลำไส้ใหญ่ของหนูขาวถูกเหนี่ยวนำด้วยเอซอกซิมิเทน (Azoxymethane) ผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารพิษมีความสัมพันธ์กับการเกิดการยับยั้งของกรดฟูลิคต่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำโดยเอซอกซิมิเทน (Azoxymethane) ด้วยเหตุผลที่อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดมะเร็งยับยั้งการเกิดมะเร็งของสารต้านอนุมูลอิสระบางอย่างเชื่อว่า เป็นเพราะความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารเหล่านั้น

2.3 นาโนอิมัลชันในระบบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง

2.3.1 นาโนเทคโนโลยี

นาโนเทคโนโลยี เป็นความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาค้นคว้าและวิจัยสารที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร โดยมีจุดเริ่มต้นที่ อัลเบิร์ต ไอน์สไตน์ (Albert Einstein) เป็นผู้ศึกษา

ขนาดและการเคลื่อนไหวของโมเลกุลน้ำตาล ซึ่งถือว่าเป็นหลักเกณฑ์ที่สำคัญมากของการศึกษาอนุภาคระดับนาโน นาโนเทคโนโลยี เป็นเทคโนโลยีของวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ที่เอาไปใช้ประโยชน์ในการออกแบบเพื่อประดิษฐ์วัสดุหรือผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ การสังเคราะห์วัสดุที่มีข้อด้อยลดลง การตรวจวิเคราะห์และวินิจฉัยที่มีความละเอียดแม่นยำยิ่งขึ้นสำหรับวัสดุหรือสิ่งของที่เล็กมากอยู่ในระดับนาโนเมตร ซึ่งนาโนเทคโนโลยีจะให้ความสำคัญแก่กระบวนการเตรียมหรือการใช้เทคโนโลยีในช่วงแรก โดยเริ่มจากการควบคุมแต่ละโมเลกุล หรือ อะตอม ที่ส่งผลต่อการประกอบหรือการรวมตัวกันทำให้เกิดเป็นสารที่มีขนาดใหญ่ ทำให้นาโนเทคโนโลยีมีความพิเศษ คือ มีความเฉพาะเจาะจง สามารถควบคุมการทำงานของสารที่สร้างขึ้นได้ทั้งในด้านเคมีและฟิสิกส์อย่างมีประสิทธิภาพ

คำว่า “นาโน” มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก แปลว่า “คนแคระ” หมายถึง หนึ่งในพันล้านหน่วย หรือหนึ่งในพันล้านส่วน แต่ที่นิยมเรียก คือ นาโนเมตร (Nanometre) ซึ่งหมายถึง (10^{-9} nm) หรือ 1 ส่วนพันล้านของ 1 เมตร หรือเรียกในอีกชื่อหนึ่งว่า แองสตรอม ยูนิต (Angstrom Unit) ดังนั้น “นาโนเทคโนโลยี” คือ วิทยาการประยุกต์แขนงใหม่ที่ว่าด้วยเรื่องของเทคโนโลยีในการประกอบและผลิตสิ่งต่างๆ ขึ้นมาจากการจัดเรียงอะตอม หรือโมเลกุลเข้าด้วยกันด้วยความแม่นยำและถูกต้องในระดับนาโนเมตรหรือขนาด 1 ในพันล้านส่วนของ 1 เมตร โดยเป็นการผสมผสานของวิทยาศาสตร์หลายแขนง เช่น ชีววิทยา ฟิสิกส์ ชีวเคมี วิศวกรรมศาสตร์สาขา หุ่นยนต์ และเครื่องจักรกล (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2547)

1) นาโนเทคโนโลยีมี 3 ประเภท

1.1) นาโนเทคโนโลยีชีวภาพ (Nanobiotechnology) เป็นการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีศาสตร์ ด้านชีวภาพ เช่น การพัฒนานาโนไบโอเซนเซอร์ หรือ หัวตรวจวัดสารชีวภาพ และสารวินิจฉัยโรคโดยใช้วัสดุชีวโมเลกุล การปรับโครงสร้างระดับโมเลกุลของยาที่สามารถทำลายชีวโมเลกุลที่เป็นเป้าหมายเฉพาะเจาะจง เช่น เซลล์มะเร็ง การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางในการส่งผ่านสารบำรุงเข้าชั้นผิวหนังได้ดียิ่งขึ้น เป็นต้น

1.2) นาโนอิเล็กทรอนิกส์ (Nanoelectronics) เป็นการประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีศาสตร์ด้านนาโนอิเล็กทรอนิกส์ (ไฮเทค) เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและมีประสิทธิภาพที่สูง เช่น การพัฒนาระบบไฟฟ้าเครื่องกลจุลชีว การผลิตเซลล์แสงอาทิตย์ การพัฒนานาโนชิป ทำให้คอมพิวเตอร์ทำงานได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง การพัฒนา High density probe storage device เป็นต้น

1.3) วัสดุนาโน (Nanomaterials) การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยีทางด้านวัสดุนาโน เช่น การเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในอุตสาหกรรมการพัฒนาฟิล์มพลาสติกนาโน คอมโพสิตที่มีความสามารถในการสกัดกั้นการผ่านของก๊าซบางชนิดและไอน้ำ เพื่อใช้ทำบรรจุภัณฑ์เพื่อยืดอายุความสดของผักและผลไม้และเพิ่มมูลค่าการส่งออก การผลิตผลอนาโนมาใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส หรือทำให้ไม่เปียกน้ำ เป็นต้น

2) ขั้นตอนการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์

2.1) การพัฒนาการจัดการอะตอมเดี่ยว (Manipulate Individual Atoms)

2.2) การพัฒนาเครื่องจักรนาโน (Assemblers) เพื่อเป็นเครื่องมือในการควบคุมการจัดการอะตอม หรือโมเลกุล

2.3) การสร้างหรือจำลองเครื่องจักรนาโน (Replicators) เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์จำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการ

3) พัฒนาการของนาโนเทคโนโลยี

3.1) เทคโนโลยีแบบหยาบ (Bulk Technology) คือเทคโนโลยีที่ใช้จัดการกับสิ่งต่างๆ หรือผลิตสิ่งต่างๆ โดยอาศัยวิธีการ เช่น ตัด กลึง บีบอัด ต่อ งอและอื่นๆ หรือใช้วิธีทางเคมีโดยการผสมให้ทำปฏิกิริยา โดยควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสม แล้วปล่อยให้สารทำปฏิกิริยากันเอง เทคโนโลยีนี้สามารถใช้สร้างสิ่งเล็กๆ ได้แต่จะขาดความแม่นยำและความบกพร่องสูง การนำเทคโนโลยีแบบหยาบไปสร้างสิ่งเล็กๆ เช่น ไมโครชิพ เรียกว่าการใช้เทคโนโลยีแบบบนลงล่าง (Top-Down Technology) ซึ่งมีขีดจำกัดสูง

3.2) เทคโนโลยีระดับโมเลกุล (Molecular Technology) คือเทคโนโลยีที่ใช้จัดการกับ สิ่งต่างๆ หรือผลิตสิ่งต่างๆ โดยการนำอะตอมหรือโมเลกุลมาจัดเรียงตำแหน่งเป้าหมายอย่างแม่นยำ สิ่งที่เกิดขึ้นอาจเป็นสิ่งเล็กๆ หรือเป็นสิ่งใหญ่ การนำเอาเทคโนโลยีระดับโมเลกุลไปสร้างสิ่งที่ใหญ่ เช่น พืชสร้างผนังเซลล์จากการนำเอาโมเลกุลน้ำตาลมาต่อกันนี้ เรียกว่า การใช้เทคโนโลยีแบบล่างขึ้นบน (Bottom-Up Technology) เทคโนโลยีระดับโมเลกุลนี้ที่เป็นนาโนเทคโนโลยี

2.3.2 อิมัลชัน (Emulsion)

อิมัลชัน คือ ผลิตรูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากัน หรือไม่ละลายซึ่งกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ที่ถูกนำมาผสมเข้าด้วยกันในลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดูจะเห็นเป็น 2 วัฏภาค คือ หยดเล็กๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งเรียกว่า วัฏภาคภายใน (Internal Ordispersed Phase) ซึ่งจะกระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เรียกว่า วัฏภาคภายนอก (External or Continuous Phase) โดยทั่วไปหยดของวัฏภาคภายในมีขนาดต่าง ๆ แต่ขนาดจะเล็กกว่า 0.05 ไมโครเมตร จนถึง 25 ไมโครเมตร ขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายในมีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้ลักษณะภายนอกของอิมัลชันมองเห็นได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะที่มองเห็นภายนอกของอิมัลชันและขนาดหยดอนุภาคของวัฏภาคภายใน

ลักษณะอิมัลชันที่มองเห็น	ขนาดหยดอนุภาควัฏภาคภายใน (ไมโครเมตร)
โปร่งใส (Transparent)	เล็กกว่า 0.05
ขุ่นหรือโปร่งแสง (Transparent)	0.05 - 0.10
สีขาวอมฟ้า	0.10 - 1.00
ขุ่นขาวทึบ	ใหญ่กว่า 1.00

ที่มา : ชุตินา ลิ้มมัทวาทิรดี, สันทยา ลิ้มมัทวาทิรดี และ ศิริกาญจน์ เฟื่องอัน, 2558

1) ชนิดของอิมัลชันที่พบได้โดยทั่วไปมีลักษณะโปร่งใสและมีลักษณะขุ่นขาว คล้ายนํ้านม สามารถแบ่งชนิดของอิมัลชันได้ ดังนี้

1.1) อิมัลชันที่แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น มี 2 ชนิด คือ

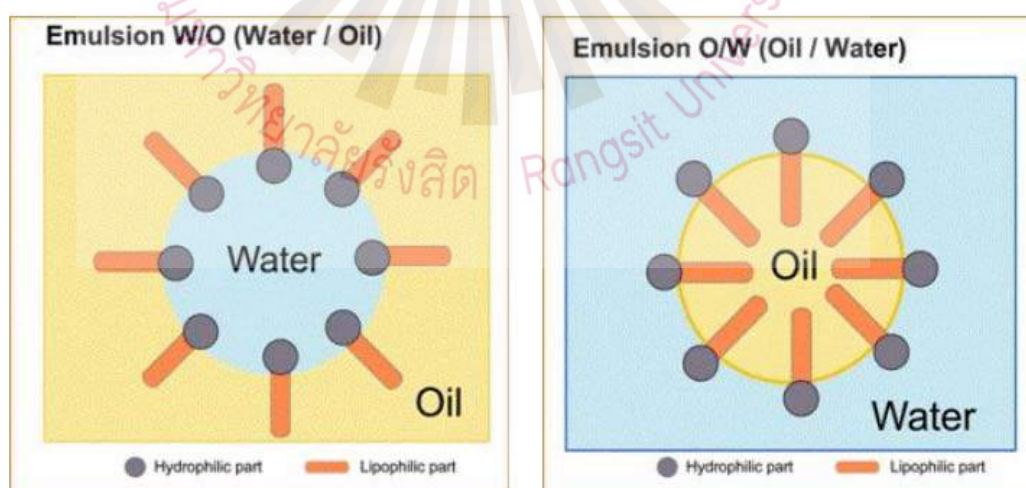
1.1.1) แมคโครอิมัลชัน (Macroemulsion) คือ อิมัลชันที่มีลักษณะขุ่นขาวพบได้โดยทั่วไป อนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาด 0.25 – 10 ไมโครเมตร โดยทั่วไปขนาดจะใหญ่กว่า 1 ไมโครเมตร จึงทำให้เกิดความแตกต่างในค่าดัชนีการหักเหแสงของวัฏภาคทั้งสองและเกิดการกระจายแสงทำให้ลักษณะภายนอกขุ่นขาว อิมัลชันชนิดนี้อาจแบ่งย่อยได้อีกเป็น อิมัลชันเนื้อละเอียด (Fine Emulsion) ซึ่งมีขนาดอนุภาคค่อนข้างเล็กหรือเล็กกว่า 5 ไมโครเมตรและเป็นอิมัลชันที่เป็นเนื้อหยาบ (Coarsemulsion) ที่มีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ แมคโครอิมัลชันเป็นอิมัลชันที่พบมากที่สุดทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของอิมัลชันชนิดนี้ เช่น ไอศกรีม ครีมรักษาโรคผิวหนัง ครีมกันแดด และโลชั่นทาผิว เป็นต้น

1.1.2) ไมโครอิมัลชัน (Microemulsions) มีลักษณะโปร่งใส เนื่องจากขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาด 10-75 นาโนเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กมากและมีค่าน้อยกว่า 1 ใน 4 ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็นได้ (visible light) จึงไม่หักเหแสง แสงสามารถทะลุผ่านได้ ทำให้มีลักษณะโปร่งใส หยดของวัฏภาคภายในมีลักษณะกลมถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวอิมัลชัน มีทั้งชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o) และชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w)

1.1.3) นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsions) หรือ Mini-Emulsion มีขนาดอนุภาค 50-200 นาโนเมตร ซึ่งอนุภาคขนาดเล็กมาก สามารถทำให้เกิดการลดแรงโน้มถ่วงและมีการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน (Brownian Movement) เป็นสาเหตุทำให้นาโนอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น

1.2) อิมัลชันที่แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอกได้เป็น 3 ชนิด คือ

1.2.1) อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o Emulsion) อิมัลชันชนิดนี้ มีวัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายในเป็นน้ำ อิมัลชันชนิดนี้ มักจะพบได้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมนวดหน้า (Massage Cream), ครีมล้างหน้า (Cleansing Cream), ครีมกลางคืน (Night Cream) และครีมฮอร์โมน (Hormone Cream) เป็นต้น อิมัลชันชนิดนี้มีความเหนียวและลื่นน้ำออกยาก จึงไม่เป็นที่นิยม



รูปที่ 2.4 แสดงถึงอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันและอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ

ที่มา: Pythagoras & That, 2014

1.2.2) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w Emulsion) อิมัลชันชนิดนี้ มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วสามารถกระจายตัวได้ดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยมมากในการนำมาผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมทาหน้า (Vanishing Cream) ครีมทาร่างกายและโลชั่นทาผิว (Body Cream and Lotion) ครีมทากันแดด (Sunscreen Cream) และครีมรองพื้น (Foundation Cream) เป็นต้น

1.2.3) อิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple Emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่และเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น w/o/w หรือ o/w/o อิมัลชันเชิงซ้อนนี้สามารถแปลสภาพเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น w/o/w ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในเป็นน้ำมันและมีหยดเล็กๆ ของน้ำซ่อนข้างในอยู่อีกที เมื่อแปลสภาพเป็นอิมัลชันธรรมดาก็จะกลายเป็นชนิด o/w ซึ่งจะพบอิมัลชันชนิดนี้ได้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น Cold Cream ชนิด o/w/o เป็นต้น

1.3) อิมัลชันที่แบ่งตามความหนืดของอิมัลชันมี 2 ชนิดคือ

1.3.1) โลชั่น (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักไม่เกิน 35% โลชั่นเป็นทั้งชนิด w/o หรือ o/w มีชื่อเรียกต่างกันไป นํ้านม (Milky หรือ Milky Lotion) เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สำหรับทาผิวโดยเฉพาะผิวหน้าบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วให้ความชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดี ได้ดี ให้ความรู้สึกสบาย และล้างน้ำออกง่าย เช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด เป็นต้น โลชั่นชนิด w/o ไม่นิยมใช้เพราะทาแล้วเหนอะหนะผิว เช่น โลชั่นป้องกันแสงแดด

1.3.2) ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง กึ่งแข็งมีส่วนประกอบของไขแข็ง (Wax) และกรดไขมัน (Fatty Acid) หรือไขมันชนิดแอลกอฮอล์ (Fattyalcohol) ช่วยเพิ่มความหนืดและช่วยให้เนื้อครีมผสมกับน้ำมันในวัฏภาคน้ำมันได้ ครีมมีทั้งชนิด o/w และ w/o มีความหนืดมากกว่าโลชั่นและมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงประมาณ 35-75% ขึ้นอยู่กับความหนืดของเนื้อครีมที่ต้องการ การใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (Bodying หรือ Stiffening agent) เช่น ไขมันและไขแข็งครีมชนิด o/w อาจมีการเติมสารเพื่อเพิ่มความหนืดในตำรับ เช่น Acacia, Veegum และ Methylcellulose เป็นต้น ซึ่งการเพิ่มความหนืดให้แก่วัฏภาคน้ำในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเครื่องสำอางที่เป็นครีมชนิด o/w ได้แก่ ครีมบำรุง ครีมทาผิว ครีมทากันแดด หนอมผิว ครีมแต่งผม ครีมโกนหนวด ครีมระงับเหงื่อ และ ขัดกลืนตัว ครีมทาแก้ผื่น และ ครีมทาแก้ผิว เป็นต้น ส่วนครีมชนิด w/o ได้แก่ ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า และครีมฮอร์โมน ครีมแต่งผม เป็นต้น

นอกจากนี้ ยังมีอิมัลชันชนิดพิเศษ คือ Anhydrous Emulsion ซึ่งเป็นอิมัลชันชนิดที่ไม่มีน้ำ อยู่เลยประกอบด้วย น้ำมันและสาร Polyols เช่น Glycerin, Propyleneglycol และ PEG 400 เป็นต้น ลักษณะอิมัลชันที่ได้จะใสหรือขาวขุ่น

2) ผลิตภัณฑ์รูปแบบอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

2.1) วัฏภาคน้ำ (Water Phase) ได้แก่ น้ำและสารต่างๆ เป็นของแข็ง หรือเป็นของเหลวที่มีความสามารถละลายได้ในน้ำได้ เป็นสารเพิ่มความหนืด เช่น Veegum, Tragacanth, Methylcelluloseacacia และ Carbopol สารดูดความชื้นหรืออิมอกแทน (Humectant) เช่น Glycerin, Propylene หรือสารในกลุ่ม Glycols คือ สารกันเสีย (Preservative) เช่น Sodium Benzoate และ Methylparaben สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น tween และ Sodium Lauryl Sulphate ที่ละลายน้ำได้ เช่น Amaranth และ Tartrazine สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น Sodiummetabisulfite นอกจากนี้ อาจเป็นสารออกฤทธิ์อื่นๆ อีกที่มีความสามารถละลายน้ำได้ เช่น Cetylpyridinium Chloride และ Benzalkonium Chloride เป็นต้น

2.2) วัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase) ได้แก่ น้ำมันชนิดต่างๆ เช่น น้ำมันแร่ (Mineral Oil) น้ำมันมะกอก (Olive Oil) น้ำมันละหุ่ง (Castor Oil) สารในกลุ่มไขมัน เช่น Stearyl Alcohol, Stearic acid, Cetyl Alcohol และ Lanolin ไขแข็ง เช่น Permaceti, Beeswax, Carnauba Wax และ Paraffin Wax สีที่สามารถละลายในน้ำมัน เช่น D&C Orange No.5 และ D&C Red No. 21 ใน น้ำหอมเช่น Papermint Oil, Orange Oil และ Perfume Oil ในสารกันหืนเช่น Butyratehydroxyanisol (BHA) และ Butyrate Hydroxytoluene (BHT) สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) เช่น Emulgin C 1000 และ Span รวมถึงสารออกฤทธิ์ชนิดต่างๆ เช่น วิตามินและฮอร์โมน จะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบ ภายในสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์ในแต่ละประเภท

2.3) ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว เช่น Span, Tween และ Sodium Lauryl Sulphate ในสารคอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เช่น Gelatin และ Acacia ของแข็งที่มีอนุภาคละเอียด เช่น Bentonite และ Colloidal Magnesium Aluminium Silicate เป็นต้น ตัวทำอิมัลชันเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

3) กลไกการเกิดอิมัลชัน

โดยทั่วไปของเหลวสองชนิดนี้จะไม่เข้ากัน เมื่อนำน้ำมารวมกันจะแยกตัว ออกเป็น 2 ชั้น เกิดจากแรงตึงระหว่างผิว แต่เมื่อเขย่าจะทำให้ของเหลวทั้งสองชนิดกระจายตัวเป็น หยดเล็กๆ ซึ่งหลักการทางเทอร์โมไดนามิกส์ได้อธิบายไว้ว่า การเขย่าเป็นเพียงการเพิ่มพลังงาน

อิสระที่พื้นผิว (Surface Free Energy) ทำให้ของเหลวเข้ากันได้ชั่วคราวและจะไม่คงตัว เมื่อหยดของเหลวของเหลวจะพยายามกลับมารวมตัวกันและแยกชั้นเหมือนเดิม เนื่องจากการปรับสภาวะให้เข้าสู่จุดคงสภาพโดยการลดพื้นที่ผิวการสัมผัสระหว่างกันให้น้อยที่สุด ดังนั้นการเกิดอิมัลชันจึงต้องอาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน

3.1) การทำให้ของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายในแตกกระจายเป็นหยดเล็กๆ โดยอาศัยพลังงานในรูปของความร้อน (Heat) การคนหรือเขย่า (Mechanical Agitation) การสั่นสะเทือนโดยคลื่นเสียง (Ultrasonic Vibration) หรือไฟฟ้า (Electricity) เป็นต้น

3.2) การทำให้หยดเล็กๆ ที่กระจายตัวอยู่สามารถคงสภาพอยู่ได้ โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน สามารถอธิบายกลไกการทำงานของตัวทำอิมัลชันไว้ดังนี้

3.2.1) ลดแรงตึงระหว่างผิวของของเหลวทั้งสอง เป็นการลดพลังงานอิสระที่พื้นผิว ทำให้หยดวัฏภาคที่กระจายตัวอยู่นั้นมีการรวมตัวกันได้น้อยลงและสามารถเพิ่มความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์

3.2.2) เกิดฟิล์มที่ยึดหยุ่นและแข็งแรงโดยรอบหยดวัฏภาคภายใน ความแข็งแรงและการเรียงตัวของโมเลกุลของฟิล์มนี้จะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชันที่ใช้ฟิล์มอาจเรียงตัวเป็นโมเลกุลเดี่ยว (Monomolecular Film) โดยหันด้านมีประจุเข้าหาวัฏภาคน้ำและด้านที่ไม่มีประจุหันเข้าหาวัฏภาคน้ำมัน ฟิล์มชนิดนี้เกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวทำอิมัลชันหรือมีการเรียงตัวซ้อนกันของโมเลกุล (Multimolecular Film) และเกิดจากการใช้คอลลอยด์ที่ชอบน้ำเป็นตัวทำอิมัลชันหรือมีการเรียงตัวของอนุภาคนาโนขนาดเล็กและละเอียดของของแข็ง (Solid Particle Film) ซึ่งเกิดขึ้นได้จากการใช้ของแข็งละเอียดบางชนิดมาดูดซับที่ผิวของวัฏภาคทั้งสอง ฟิล์มที่เกิดขึ้นรอบหยดวัฏภาคภายในนี้จะทำหน้าที่เป็นกั้นชน (Mechanical Barrier) คอยป้องกันการสัมผัสกันโดยตรงของหยดวัฏภาคภายใน ซึ่งกลไกนี้ถือว่าเป็นกลไกที่สำคัญที่สุด

3.2.3) การเกิดชั้นคู่ของไฟฟ้าสถิตที่เป็นกั้นชนของทางไฟฟ้า (Electrical Double Layer) ซึ่งกั้นชนทางไฟฟ้าเกิดจากกลุ่มโมเลกุลที่มีประจุ (Electrically Charged Groups) จะอยู่รอบผิวของหยดวัฏภาคภายใน

4) คุณสมบัติของอิมัลชันทางเครื่องสำอาง

4.1) ลักษณะภายนอกและความรู้สึก (Appearance and Feel) ลักษณะภายนอกของอิมัลชันมีหลายแบบ ขึ้นอยู่กับความหนืด ความยากง่ายในการเทอิมัลชันออกจากขวด ความขุ่นหรือความละเอียดของเนื้ออิมัลชัน ความเป็นมันจากการเคลือบมุกและความทึบแสง เป็น

ต้น ความรู้สึกเมื่อใช้อิมัลชันจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความมัน ความเหนอะหนะ ความเปื่อยลื่น ความระคายเคือง และคุณสมบัติการแผ่กระจายบนผิว ตลอดจนระยะเวลาในการแห้งตัวเมื่อใช้ทาบนผิว และเมื่อเก็บไว้นาน คุณสมบัติเหล่านี้ รวมถึงชนิดและความคงตัวของอิมัลชันจะต้องถูกควบคุมโดยปัจจัยต่างๆ เช่น สมบัติทางเคมีกายภาพของวัฏภาคน้ำและน้ำมัน อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำและน้ำมัน ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน ลำดับการผสม อุณหภูมิในการเกิดอิมัลชัน ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ผสมและความเร็วในการทำให้อิมัลชันเย็นตัวลง

4.2) วิทยาศาสตร์การไหล (Rheology) การไหลเกี่ยวข้องกับคุณภาพและความคงตัวของอิมัลชัน ได้แก่ ความหนืด (Viscosity) ความยืดหยุ่น (Plasticity) และความอ่อนนุ่ม (Elasticity) อิมัลชันส่วนใหญ่มีการไหลแบบ Non-Newtonian อาจเป็นแบบ Pseudoplastic (ค่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงตามเวลาเมื่อมีแรงกระทำต่อการไหล เมื่อเพิ่มแรงกระทำให้เกิดการไหล ความหนืดจะลดลง) แบบ Plastic จะเกิดกับอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เช่น ครีม หรือแบบ Thixotropic เกิดกับพวกโลชั่น ความหนืดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของอิมัลชัน เพราะการเปลี่ยนแปลงความหนืดของอิมัลชันจะส่งผลต่อคุณภาพและความคงตัวอีกทั้งยังมีผลต่อความรู้สึกของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์นั้น เช่น ความน่าเชื่อถือ เป็นต้น หากอิมัลชันมีความหนืดลดลง แสดงว่าหยดอนุภาคภายในมีขนาดโตขึ้น เนื่องจากเกิดการรวมตัวกัน (Coalescence) และอิมัลชันจะมีอายุสั้นลง ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของอิมัลชันมี ดังนี้

- 4.2.1) ปริมาณวัฏภาคภายใน
- 4.2.2) ความหนืดของวัฏภาคภายนอก
- 4.2.3) ขนาดและการกระจายของอนุภาควัฏภาคภายใน ถ้ามีขนาดเล็กอิมัลชันจะหนืด
- 4.2.4) ความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน
- 4.2.5) โครงสร้างทางเคมีของตัวทำอิมัลชัน
- 4.2.6) สมบัติทางกายภาพของฟิล์มที่หุ้มรอบหยดน้ำมัน(วัฏภาคภายใน)
- 4.2.7) ถ้าใช้เครื่องมือที่มี Shear Rate สูง อิมัลชันที่ได้จะหนืด

4.3) ขนาดอนุภาค (Particle Size) ขนาดอนุภาคของอิมัลชันมีผลต่อลักษณะอิมัลชันที่ได้ สมบัติการไหลและความคงตัวของอิมัลชัน อิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กมักจะ

หนืดเนื้อเนียนและคงตัว ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของอนุภาคอิมัลชัน คือ ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำอิมัลชัน วิธีการผลิต

4.4) การกลับวัฏภาค (Phase Inversion) ในบางสภาวะอิมัลชันอาจเกิดการกลับวัฏภาคไปมาระหว่างชนิด o/w และชนิด w/o ได้ ซึ่งการกลับวัฏภาคนี้ มีทั้งข้อดีและข้อเสีย หากเป็นการกลับวัฏภาคเพื่อให้ได้อิมัลชันชนิดละเอียดโดยใช้เทคนิคการกลับวัฏภาคถือว่าได้ผลดี แต่ถ้าเป็นการกลับวัฏภาคแล้วอิมัลชันเสียความคงตัวถือว่าเป็นผลเสีย

4.5) ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชัน ความไม่คงตัวทางกายภาพของอิมัลชันมักเกิดจากการรวมตัวของหยดวัฏภาคภายในแล้วแยกออกจากวัฏภาคภายนอก มี 3 ลักษณะ ดังนี้

4.5.1) Creaming เป็นลักษณะที่วัฏภาคภายในแยกตัวไปรวม กันลอยอยู่ชั้นบน หรืออาจจะนอนกันอยู่ในภาชนะ ทำให้เห็นแยกเป็นชั้นครีม และชั้นอิมัลชันที่มีความเจือจางจะเกิดกับอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เช่น โลชั่น แต่เป็นความไม่คงตัวที่เกิดขึ้นไม่ถาวร เมื่อนำมาเขย่าจะสามารถทำให้ชั้นที่แยกกันมาผสมกันได้ดังเดิม การป้องกันการเกิด Creaming ทำได้โดยลดขนาดของหยดของวัฏภาคภายใน เช่น ใช้ Homogenizer หรือทำให้วัฏภาคทั้งสองมีความหนาแน่นเท่ากัน

4.5.2) Flocculation เป็นความไม่คงตัวชนิดที่ไม่ถาวร แต่จะรุนแรงกว่า Creaming เพราะหยดอนุภาคภายในที่แยกตัวมารวมกันเกิดแรงเกาะกันอย่างอ่อนๆ จึงทำให้เกิด Coalescence ซึ่งเป็นความไม่คงตัวอย่างถาวรได้ Flocculation อาจเกิดก่อน หรือเกิดหลัง หรือระหว่างการเกิด Creaming ได้ การเขย่าให้กลับสู่สภาพเดิมจะขึ้นอยู่กับแรงเกาะกันระหว่างอนุภาค ซึ่งพิจารณาได้จากสมบัติทางเคมีของตัวทำอิมัลชันและอัตราส่วนวัฏภาคภายในกับวัฏภาคภายนอก ความเข้มข้นของสารอิเล็กโทรไลต์ และตัวทำอิมัลชันที่มีประจุ การป้องกันการเกิด Flocculation ทำได้โดยสร้างแรงผลักระหว่าง Electrical Double Layer สูงพอ โดยใช้ตัวทำอิมัลชันที่มีประจุที่ดูดซับได้ดีที่ผิวทำให้เกิดฟิล์มแข็งแรงเรียงตัวกันใกล้ชิดหนาแน่น หรือถ้าเป็นตัวทำอิมัลชันชนิดไม่มีประจุ ควรใช้ความเข้มข้นสูงพอที่จะเกิดฟิล์มหนาหุ้มรอบหยดวัฏภาคภายใน

4.5.3) Coalescence เป็นความไม่คงตัวชนิดถาวร โดยหยดอนุภาคภายในเกิดรวมตัวกันเป็นหยดที่โตขึ้นจนแยกออกเป็นชั้นน้ำและน้ำมันอย่างชัดเจน เนื่องจากฟิล์มที่หุ้มรอบหยดวัฏภาคภายในไม่แข็งแรง หรือการเพิ่มอุณหภูมิซึ่งทำให้ตัวทำอิมัลชันบางชนิดเกิดการตกตะกอน การป้องกัน Coalescence ทำได้โดยเลือกชนิดและปริมาณของตัวทำอิมัลชันอย่างเหมาะสม อาจใช้ตัวทำอิมัลชันร่วมหรือเพิ่มความหนืดของวัฏภาคภายนอก

2.3.3 นาโนอิมัลชัน

นาโนเทคโนโลยี (Nanotechnology) คือ เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการการสร้างที่พัฒนาอนุภาคในระดับนาโน ขนาดอนุภาคโดยทั่วไปจะอยู่ที่ 20-200 นาโนเมตร ซึ่งการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมและทางการแพทย์ รวมทั้งทางด้านเวชสำอางได้เริ่มเป็นที่สนใจมากขึ้น นาโนอิมัลชันเป็นระบบกระจาย (Dispersion) ของน้ำมันและน้ำที่ทำให้เกิดความคงตัวด้วยสารต่ออิมัลชัน (Emulsifying Agent) โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 20-200 นาโนเมตร โดยมีโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจัดเรียงตัวเป็นชั้นเดี่ยวห่อหุ้มน้ำมันที่เป็นของเหลว ซึ่งอิมัลชันที่มีขนาดหยดในขนาดนาโนเมตร มีชื่อเรียกต่างๆ เช่น มินิอิมัลชัน (Miniemulsion), นาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion), อุลตราไฟน์อิมัลชัน (Ultrafine Emulsion), อิมัลซอยด์ (Emulsoid), ซับไมครอนอิมัลชัน (Submicron Emulsion) หรือ ทรานส์ลูเซนต์อิมัลชัน (Translucent Emulsion) เป็นต้น



รูปที่ 2.5 แสดงถึงลักษณะของนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion)

ที่มา : อำพล ไผตรีเวช, ณรงค์ สารีสุด,ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี, วสุ วิฑูรย์สฤณภูศิลป์ และ โกศล แซ่ตั้ง , 2561

นาโนอิมัลชันมีลักษณะโปร่งใสหรือโปร่งแสงเมื่อมองด้วยตาเปล่า เนื่องจากมีขนาดหยดในระดับนาโนเมตรที่มีความคงตัวทางจลน์ (Kinetically Stable) ก็จะมี ความคงตัวต่อการตกตะกอนหรือการแยกชั้นแบบครีมมิ่ง (Creaming) ที่มีความหนืดต่ำและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและชีวประสิทธิผลของสารระบบนาโนอิมัลชันทั้งชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil-In-Water, o/w) และชนิดน้ำในน้ำมัน (Water -In-Oil, w/o) ปัจจุบันเริ่มมีผู้สนใจศึกษาระบบนาโนอิมัลชันมากขึ้น เพื่อนำมาใช้ในการเลือกเป็นระบบนำส่งยาหรือสารสำคัญที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยและสามารถออกฤทธิ์ในบริเวณที่จำเพาะได้รวมไปถึงการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาหรือสารสำคัญผ่านทางผิวหนัง เพื่อเพิ่มการผ่านที่ชั้นผิวหนังและค่าชีวประสิทธิผลของยาหรือสารสำคัญนอกจากนี้สามารถเพิ่มอัตราเร็วในการละลาย (Dissolution Rate) และค่าการละลาย (Solubility) ของยาหรือสารสำคัญเพิ่มประสิทธิภาพในการแพร่ผ่านชั้นน้ำและเพิ่มการซึมผ่านชั้นเยื่อต่างๆ และหลีกเลี่ยงการเสื่อมสลายของ

ยาหรือสารสำคัญที่เกิดจากเมตาบอลิซึมที่จับได้ ในด้านการผลิตระบบนาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ง่ายต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตต้นทุนการผลิตต่ำและมีความคงตัวสูง อีกทั้งเป็นระบบที่ไม่เป็นพิษ และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อต่างๆ ในร่างกาย เนื่องจากไม่ทำลายเซลล์ของมนุษย์และสัตว์จึงเหมาะที่จะนำมาใช้นำส่งยาหรือสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการรักษาได้ (วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2555)

ตารางที่ 2.2 ข้อแตกต่างระหว่างอิมัลชัน (Emulsion) และนาโนอิมัลชัน (Nanoemulsion)

คุณสมบัติ	อิมัลชัน(Emulsion)	นาโนอิมัลชัน(Nanoemulsion)
ลักษณะทั่วไป	ของเหลวขาวทึบ	ของเหลวขาวโปร่งแสง
ขนาดหยดอนุภาค	0.1 - 10 ไมโครเมตร	20 - 200 นาโนเมตร
ความคงตัว	ไม่มีความคงตัวทางอุณหพลวัตและมีความคงตัวทางจลนศาสตร์ที่ต่ำ	ไม่มีความคงตัวทางอุณหพลวัตแต่มีความคงตัวทางจลนศาสตร์ที่สูง
ความหนืด	สูง	ต่ำ
การแบ่งชนิด	2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันในน้ำ(o/w) และ น้ำในน้ำมัน (w/o)	2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันในน้ำ (o/w)และน้ำในน้ำมัน (w/o)
การเตรียม	เกิดขึ้นเองไม่ได้ต้องใช้พลังงานช่วยเป็นอย่างมากในการเตรียม	เกิดขึ้นเองไม่ได้ต้องใช้พลังงานช่วยในการเตรียมโดยอาศัยเทคนิคพิเศษบางประการ

ที่มา : วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2552

1) องค์ประกอบของนาโนอิมัลชัน (Formulation Aspect of Nanoemulsion)

ตำรับนาโนอิมัลชันประกอบไปด้วยตัวยาสำคัญ (Active Drug), วัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase), วัฏภาคน้ำ (Aqueous Phase), สารก่ออิมัลชัน (Emulsifiers) และสารช่วยอื่นๆ (Additives) ดังแสดงในตาราง 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงองค์ประกอบของนาโนอิมัลชัน

ส่วนประกอบ	ตัวอย่าง
Oil	Castor Oil, Corn Oil, Coconut Oil, Evening Primrose Oil, Linseed Oil, Mineral Oil, Olive Oil, Peanut Oil

ตารางที่ 2.3 แสดงองค์ประกอบของนาโนอิมัลชัน (ต่อ)

ส่วนประกอบ	ตัวอย่าง
Surfactants	Natural Lecithins Form Plant or Animal Source, Phospholipids, Castor Oil Derivatives
Additives	Antioxidant, Tonicity Modifiers, pH Adjusting Agent, Preservative

ที่มา : วรรณท์ รังสิมาวงศ์ และ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557.

2) การสร้างนาโนอิมัลชัน

การสร้างนาโนอิมัลชันแบบใช้พลังงาน ทำได้ด้วยการใช้แรงเฉือนทางกล ในขั้นตอนการสร้างนาโนอิมัลชันชนิดนี้ จะเกิดกระบวนการต่างๆ หลายกระบวนการ ได้แก่ การดูดซับของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวและการทำให้เกิดการแตกของหยดของเหลว การชนกันของหยดของเหลว กระบวนการเหล่านี้อาจจะเกิดขึ้นได้พร้อมๆ กัน ในระหว่างขั้นตอนที่มีการสร้างนาโนอิมัลชัน การแตกของหยดของเหลวจะเกิดขึ้นเมื่อแรงที่มากกระทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปและมีค่ามากกว่าแรงดันลาปลาซ (Laplace Pressure, p) ซึ่งเป็นความแตกต่างของแรงดันภายในและภายนอกหยดของเหลว ที่สามารถคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้ (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552, น.112)

$$p = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)$$

จากสมการ ค่า R_1 และ R_2 คือรัศมีของความโค้งส่วนที่สั้นและส่วนที่ยาวของหยดอิมัลชันที่เป็นรูปไม่ เป็นลักษณะทรงกลม ตามลำดับ และ γ เป็นแรงตึงระหว่างผิว ในการทำให้หยดของเหลวมีขนาดเล็กลงต้องทำให้หยดของเหลวเกิดการเปลี่ยนรูปอย่างมาก และการเปลี่ยนรูปนี้ คือ การเพื่อค่าของ p โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวจะแสดงบทบาทสำคัญในการสร้างนาโนอิมัลชันด้วยการลดแรงตึงระหว่างผิว ทำให้ค่า p มีค่าลดลง และทำให้เกิดความต้องการแรงเค้นที่ลดลงกว่าเดิมเพื่อที่จะใช้ในการแตกหยดของเหลว (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552, น.113)

3) ขั้นตอนในการเตรียมนาโนอิมัลชัน

นาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ไม่สามารถเกิดขึ้นได้เอง ดังนั้น การเตรียมหรือการผลิตนาโนอิมัลชันจะต้องทำให้พลังงานเข้าไปในระบบอาจจะเป็นพลังงานจากเครื่องมือกลหรือพลังงานจากศักย์ทางไฟฟ้าของสารประกอบ ซึ่งการเตรียมนาโนอิมัลชันสามารถเตรียมได้ 2 ลักษณะ คือ การเตรียมนาโนอิมัลชันโดยการใช้พลังงานต่ำ (Low Energy) และการเตรียมนาโนอิมัลชันโดย

การใช้พลังงานสูง (High Energy) ซึ่งในการเตรียมแต่ละลักษณะนั้นจะมีวิธีที่แตกต่างกันไป ดังต่อไปนี้

3.1) การเตรียมนาโนอิมัลชันโดยการใช้พลังงานขั้นสูง จะอาศัยการปั่นด้วยแรงเฉือนขนาดสูงหรือการปั่นด้วยแรงดันขนาดดันสูงเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน (High Pressure Homogenizer) และการใช้เครื่องกำเนิดคลื่นเหนือเสียง (Ultrasound Generator) เครื่องมือสองชนิดนี้สามารถให้พลังงานในระยะเวลาอันสั้นและมีการไหลอย่างสม่ำเสมอจนทำให้เกิดอนุภาคนาโนขนาดเล็ก ปัจจุบันวิธีการปั่นด้วยความดันสูงเป็นเนื้อเดียวกันเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากสามารถให้พลังงานที่สูงตามที่ต้องการได้ภายในระยะเวลาสั้นๆ และยังทำให้การไหลของอิมัลชันมีความสม่ำเสมอ ส่งผลให้สามารถสร้างนาโนอิมัลชันที่มีหยุคอนุภาคนาโนขนาดเล็กที่สุดได้ (วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2555, น.115-116)

การสร้างนาโนอิมัลชันโดยใช้คลื่นเหนือเสียงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถลดขนาดหยดของเหลวได้ แต่จะใช้ในการผลิตที่มีขนาดเล็กหรือใช้ในการผลิตปริมาณน้อยๆ ในงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการเตรียมนาโนอิมัลชันของโพลิเมอร์ พบว่าประสิทธิภาพของการผลิตและการกระจายตัวจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการให้คลื่นเหนือเสียงที่แอมพลิจูดต่างๆ เป็นอย่างมาก และยิ่งมอนอเมอร์ไม่ชอบน้ำมากขึ้นก็จะยิ่งส่งผลให้ระยะเวลาของการให้คลื่นเหนือเสียงนานเพิ่มขึ้นด้วย (วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2555, น.117)

3.2) การเตรียมนาโนอิมัลชันโดยการใช้พลังงานต่ำ ทำได้โดยเปลี่ยนแปลงลักษณะความโค้งของหยดอนุภาคและการเปลี่ยนแปลงของวัฏภาคจะเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการเกิดอิมัลชัน ซึ่งวิธีนี้สามารถทำได้โดยการใช้วิธีควบแน่น (Comdensation) หรือการใช้วิธีอุณหภูมิการกลับวัฏภาค (Phase Inversion Temperature, PIT) อุณหภูมิการกลับวัฏภาคสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ประเภท คือ การกลับวัฏภาคแบบปรับเปลี่ยน (Transition Phase Inversion, TPI) และการกลับวัฏภาคแบบมหันตภัย (Catastrophic Phase Inversion, CPI) โดยวิธีการกลับวัฏภาคแบบปรับเปลี่ยนจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อความชอบของสารลดแรงตึงผิวในการจับกับวัฏภาคน้ำอยู่ในสภาวะที่สมดุลกับความชอบในการจับกับวัฏภาคน้ำมันและความชอบจับกันหรือสมดุลความชอบน้ำและชอบลิพิด (Hydrophilic Lipophilic Balance, HLB) ของสารลดแรงตึงผิวสามารถเหนี่ยวนำจนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิหรือการเติมสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB ที่แตกต่างกันหรืออาจจะใช้วิธีการเติมสารประกอบอื่นๆ ลงไป เช่น อิเล็กโทรไลต์ ในส่วนของวิธีการกลับวัฏภาคแบบมหันตภัย จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อเพิ่มอัตราส่วนปริมาตรของวัฏภาคกระจาย จนสามารถเกิดเป็นการกลับของวัฏภาค ซึ่งเกิดมาจากอัตราความเร็วของการรวมหยดของเหลวและการแตกตัวของหยด

ของเหลวที่ไม่สามารถรักษาสภาพสมดุลต่อไปได้ (Fernandez , Andre , Rieger and Kuhnle, 2004; วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552)

4) การประเมินผลทางคุณลักษณะของนาโนอิมัลชัน (Characterization and Evaluation of Nanoemulsions) คุณลักษณะเฉพาะของนาโนอิมัลชันที่นิยมศึกษา ได้แก่

4.1) การวิเคราะห์ลักษณะเบื้องต้น (Preliminary Characterization)

เช่น การสังเกตลักษณะทางกายภาพภายนอกด้วยตาเปล่า เป็นเวลา 48 ชั่วโมง การทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำสลับกัน (Freeze–Thaw Cycling Test) ทดสอบอย่างน้อย 5 รอบ ต่อเนื่อง กันและการปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (High Speed Centrifugation) ด้วยอัตราความเร็วจาก 2,000 ไปจนถึง 25,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที โดยนาโนอิมัลชันที่นำมาทดสอบต้องมีความคงตัวที่ดีและไม่เกิดปัญหาเกี่ยวกับความไม่คงตัวระหว่างการทดสอบ (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.57)

4.2) การวัดขนาดของอนุภาคและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (Determinations of Particle Size and Particle Size Distribution) เป็นการประเมินคุณสมบัติกายภาพทางเคมีที่มีความสำคัญต่อการรับของอิมัลชัน โดยการใช้เครื่องมือหลายชนิด โดยทั่วไปขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยของนาโนอิมัลชันจะอยู่ระหว่าง 20–200 นาโนเมตร เนื่องจากนาโนอิมัลชันจะมีขนาดหยดที่เล็ก ทำให้มีความคงตัวที่ดี และมีประสิทธิภาพในการนำส่งยาผ่านผิวหนังซึ่งค่าดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity Index, PDI) ของขนาดนาโนอิมัลชันจากเครื่อง Photon Correlation Spectroscopy ทำการวัดที่อุณหภูมิ 25°C ซึ่งนาโนอิมัลชันควรจะมีความคงตัวของอนุภาคที่ใกล้เคียงกัน คือ มีการกระจายของขนาดอนุภาคที่แคบ (Narrow Size Distribution) และมีค่าดัชนีการกระจายตัว(PDI) ไม่ควรเกิน 0.2 (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.57)

4.3) การตรวจประเมินทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และการสำรวจโครงสร้างของนาโนอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscopy, TEM) จะพบรูปร่างของนาโนอิมัลชันลักษณะเป็นทรงกลม (Spherical Shape) และมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.58)

4.4) การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) จะใช้วัดคุณสมบัติของประจุไฟฟ้าที่พื้นผิวอนุภาคและสามารถบอกความคงสภาพแบบระยะยาวของนาโนอิมัลชัน โดยใช้เครื่อง Photon Correlation Spectroscopy (ZetaPALS) ในการวัดประจุผิวอนุภาคและทำการวัดค่าโดยไม่ต้องเจือจางสารตัวอย่าง ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ที่ดีจะต้องสูงกว่า ± 20 mV (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.58)

4.5) การวัดความหนืด (Viscosity Determination) เพื่อศึกษาหาคุณสมบัติทางกายภาพและใช้เพื่อควบคุมให้นาโนอิมัลชันมีความคงตัว โดยใช้เครื่อง Brookfield Viscometer เพื่อทำการทดสอบซึ่งลักษณะทางกายภาพของนาโนอิมัลชันที่ดีควรจะมีค่าความหนืดต่ำ (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.58)

4.6) การศึกษาการซึมผ่านของสารทางผิวหนังในหลอดทดลอง (In Vitro Skin Permeation Studies) ทำการศึกษาโดยใช้วิธี Franz Diffusion Cell หรือ Keshary-Chien Diffusion Cell ซึ่งจะนำเมมเบรนมาใช้ศึกษาการซึมผ่านอาจจะใช้ผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมของสัตว์ทดลอง เช่น หนังกู หนังกู หนังกู หรือผิวหนังของมนุษย์ เป็นต้น นำเมมเบรนที่อยู่ระหว่าง Donor และ Receiver ของ Franz Diffusion Cell และใช้ในส่วน Receiver Fluid เป็น Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.4 โดยมีการกวนตลอดเวลาด้วย Magnetic Rotor และมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาต่างๆ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่นำมาทดสอบด้วยเทคนิค HPTLC อีกครั้งหนึ่ง (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น. 58)

5) ความคงตัวของนาโนอิมัลชัน (Stability of Nanoemulsions) ความคงตัวของนาโนอิมัลชัน คือ ความสามารถในการรักษาการกระจาย ของขนาดอนุภาคเริ่มต้นไว้โดยที่ไม่เกิดการแยกตัว (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552, น.120) เนื่องจากการเกิดการเคลื่อนไหวแบบบราวน์เนียน (Brownian Movement) ของอนุภาคที่มีขนาดเล็ก จะทำให้เกิดอัตราการแพร่สูงกว่าอัตราการตกตะกอน ซึ่งอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะมีแรงดึงดูดแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der waals) น้อย และมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ที่ผิวสูงส่งผลให้มีความคงตัวจากการที่มีแรงผลักด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Repulsive Force) โดยค่ารับที่ดีจะมีความคงตัว ทางอุณหพลวัต (Thermodynamically Stability) และทางจลศาสตร์ (Kinetic Stability) ด้วย ซึ่งจะทำการศึกษาในระยะยาว (Long Term) ที่อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$) และความชื้นสัมพัทธ์ (%RH) ที่ $25^{\circ}\text{C}/60\%\text{RH}$ สำหรับค่ารับที่เก็บในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 4°C สำหรับค่ารับที่เก็บอุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะ เวลา 12 เดือน นอกจากนี้ยังสามารถใช้ผลการศึกษาในระยะกลาง (Intermediate) คือ $30^{\circ}\text{C}/65\%\text{RH}$ และสามารถศึกษาในสภาวะเร่ง (Accelerated) คือ $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ส่วนการศึกษาความคงตัวต่อการแช่แข็งถึง การละลาย (Freeze-Thaw Stability) ที่ อุณหภูมิ -21°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับอุณหภูมิ $+25^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำซ้ำอย่างน้อย 5-6 รอบ โดยผลการศึกษาที่ได้ต้องไม่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาค ความหนืด และ ปริมาณยา (Rangsimawong and Ngawhirunpat, 2004, น.58)

6) ประโยชน์ของระบบนำส่งนาโนอิมัลชันในการนำส่งยาทางผิวหนัง

6.1) เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา (Therapeutic Efficacy) นาโนอิมัลชันเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจของการใช้เป็นระบบนำส่งยาผ่านผิวหนัง เนื่องจากการให้ยาทางผิวหนังเพื่อรักษาเฉพาะที่หรือเพื่อให้เกิดผลทั่วร่างกายสามารถเอาชนะข้อจำกัดที่สำคัญหลายประการที่เกิดขึ้นกับระบบนำส่งรูปแบบอื่นๆ ไป เช่น การให้ยาทางปากหรือทางฉีด ซึ่งอาจเกิดปัญหาจากการเกิดการเมแทบอลิต์ (Metabolite) ของตัวยาก่อนที่เข้าสู่กระแสเลือดที่เกิดในตับและการดูดซึมของตัวยาเข้าสู่กระแสเลือดโดยไม่ตั้งใจ นอกจากนี้การให้ยาทางผิวหนังนี้ทำได้ง่ายกว่าและสะดวกกว่าต่อคนไข้และเมื่อมีความต้องการหยุดก็สามารถหยุดได้ทันที

จากการศึกษาเปรียบเทียบนาโนอิมัลชันที่มีประจุบวกหรือลบของตัวยานิดด้านเชื้อรา เช่น ยาอีโคนาโซลไนเตรท (Econazole Nitrate) และ ยาไมโคนาโซลไนเตรท (Miconazole Nitrate) แสดงให้เห็นว่า นาโนอิมัลชันชนิดประจุบวกมีประสิทธิภาพในการแทรกซึมผ่านผิวหนังที่ดีกว่านาโนอิมัลชันชนิดประจุลบ เพราะมีการยึดรวมตัวของหยดของเหลวบนผิวหนังที่ดีกว่า งานวิจัยอีกเรื่องหนึ่งแสดงให้เห็นว่า นาโนอิมัลชันเพิ่มการนำส่งทางผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญ คือ ระบบนำส่งทางผิวหนังของตัวยาสเตียรอยด์และยาต้านอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ เช่น ยาเบตาเมทาโซลาลีเรท (Betamethasonevalerate), ยาไดโพรพิโอเนต (Dipropionate), ยาอินโดเมทาซิน (Indomethacin), ยาไพรอกซิแคม (Piroxicam), ยาไดโคลฟีแนค (Diclofenac), และ ยานาพรอกเซน (Naproxen) เมื่อเติมตัวยาที่ไม่ชอบน้ำเหล่านี้ลงในฐานก้นของนาโนอิมัลชันชนิดครีมจะช่วยเพิ่มการแทรกผ่านและเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยาที่กักเก็บเมื่อเทียบกับกระสายยาหรือเบสครีมทั่วไป

Schwaz และคณะ (อ้างถึงใน วรากรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552) ได้ทำการศึกษาการทานาโนอิมัลชันของชนิดไดอาซีแพม (Diazepam) ก่อให้เกิดผลของตัวยาอย่างทั่วร่างกายอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับครีมทั่วไปนอกจากนี้ ยังพบว่า การทานาโนอิมัลชันของไดอาซีแพมบนผิวหนังหนุทำให้ระดับความเข้มข้นของตัวยาในเลือดอยู่ระดับเดียวกับการให้ทางารฉีด

Khandavilli และคณะ (อ้างถึงใน วรากรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552) ได้ทำการศึกษาการเตรียมนาโนอิมัลชันที่ประกอบไปด้วยแพคลิตาเซล (Paclitaxel) และประเมินประสิทธิภาพทางเภสัชจลนศาสตร์ในร่างกาย จากผลการทดลองพบว่า การประยุกต์ใช้ทางผิวหนังนี้ก่อให้เกิดการสะสมยาเฉพาะที่อย่างเด่นชัดในบริเวณผิวหนังชั้นลึกโดยมียาเข้าสู่กระแสเลือดได้ไม่มากนัก

6.2) เพิ่มความชุ่มชื้นของผิวหนัง (Skin Hydration) ในปี 2558 ปิยนุชสิน ได้ศึกษาหาประสิทธิผลการลดริ้วรอยของ TISTR-GSE จากเมล็ดองุ่นพันธุ์ป๊อกดา Vitis

VINIFERA CV. RIBIER ในรูปแบบนาโนอิมัลชันและรูปแบบเจลในอาสาสมัคร โดยรูปแบบการวิจัยเป็นเชิงทดลองทางคลินิกแบบในอาสาสมัครโดยแบ่งการรักษาครึ่งใบหน้าเพื่อดูประสิทธิภาพในการรักษา ริ้วรอยของนาโนอิมัลชัน TISTR-GSE-N และเจล TISTR-GSE-G ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่านาโนอิมัลชัน TISTR-GSE-N มีประสิทธิภาพในการช่วยลดเลือน ริ้วรอยในอาสาสมัครได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยมีค่าเฉลี่ย ริ้วรอยที่ลดลงเมื่อเทียบกับสัปดาห์แรกก่อนทาในระยะเวลา 8 สัปดาห์และจะเห็นผลตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 และนาโนอิมัลชัน TISTR-GSE-N จะเพิ่มค่าความยืดหยุ่นผิวและความชุ่มชื้นผิวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ในขณะที่เจล TISTR-GSE-G มีค่าเฉลี่ย ริ้วรอยที่เพิ่มขึ้น มีค่าเฉลี่ยความชุ่มชื้นผิวที่ลดลง และมีความยืดหยุ่นผิวที่เปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่หลังจากทานาน 8 สัปดาห์ ผลความพึงพอใจของอาสาสมัคร พบว่า คะแนนความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อการลดของ ริ้วรอยเมื่อนานาโนอิมัลชัน TISTR-GSE-N มากกว่า เจล TISTR-GSE-G (ปิยนุช สน, 2558)

ในปี ค.ศ.2010 Zhou และคณะ ได้ศึกษาผลของเลซิธินนาโนอิมัลชัน (Lecithinnanoemulsion, LNE) ต่อการเพิ่มความชุ่มชื้นของผิวหนัง (Skin Hydration) โดยวิธี Placebo-Controlled in Vivo study ในอาสาสมัครที่มีสุขภาพผิวที่ดีซึ่งแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มคือกลุ่มที่มีการทาเลซิธินนาโนอิมัลชันครีมความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม), 0.5, 2, 5 และ 10% จากนั้นทำการทดสอบความชุ่มชื้นของผิวหนังที่เวลาต่างๆ ด้วยเครื่อง Corneometer CM 825 (CK Electronic GmH, Germany) พบว่า เลซิธินนาโนอิมัลชันเพิ่มระดับความชุ่มชื้นของผิวได้มากกว่าครีมที่ไม่มีเลซิธินนาโนอิมัลชันอย่างมีนัยสำคัญและการเปลี่ยนแปลงของระดับความชุ่มชื้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเลซิธินนาโนอิมัลชันจาก 0.5, 2, 5 และ 10% โดยมีค่าการเปลี่ยนแปลงความชื้นหลังจากทำการทดลองที่ 150 นาทีเป็น 24.5, 31.9, 39.3, 43.6 และ 72.8% ตามลำดับเนื่องจากหยดของนาโนอิมัลชัน จะเกิดการเกาะติดกับผิวหนังและเกิดเป็นชั้นฟิล์มที่มีความแข็งแรงจึงยับยั้งการระเหยของน้ำออกจากผิว ผนังได้ โดยมีแรงแคปิลลารี (Capillary Forces) ของรูเล็กๆในระดับนาโนเมตรอยู่ระหว่างหยดของนาโนอิมัลชันเป็นตัวทำให้เกิดการหลอมรวมกันเป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรงและเพิ่มความชุ่มชื้นให้ผิวหนัง (Zhou *et al.*, 2010)

6.3) เพิ่มความคงตัวของตัวยาสำคัญ (Enhancement of Drug Stability) ความคงตัวของนาโนอิมัลชันเป็นความสามารถของการรักษาการกระจายขนาดอนุภาคเริ่มต้นไว้โดยไม่เกิดการแยกวัฏภาคเนื่องจากการเคลื่อนไหวแบบบราวน์เนียน (Brownian Movement) ของอนุภาคขนาดเล็กทำให้เกิดอัตราการแพร่ที่สูงกว่าอัตราการตกตะกอนโดยอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะมีแรงดึงดูดด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์น้อย (Van Der Waals) และมีค่าศักย์ไฟฟ้าสถิตที่ผิวสูงทำให้มีความคงตัวจากการมีแรงผลักรด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Repulsive Force) โดยตัวรับที่

เหมาะสมจะมีความคงตัวทางด้านอุณหพลวัต (Thermodynamically Stability) และทางด้านจลศาสตร์ (Kinetic Stability) ด้วยซึ่งตาม ICH Guideline จะทำการศึกษาในระยะยาว (Long Term) ที่สถานะของอุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$) และความชื้นสัมพัทธ์ (%RH) คือ $25^{\circ}\text{C}/60\%\text{RH}$ สำหรับตำรับที่เก็บอุณหภูมิห้องและ 4°C สำหรับตำรับที่เก็บอุณหภูมิต่ำเย็น เป็นเวลา 12 เดือนนอกจากนี้สามารถใช้ผลการศึกษาในระยะกลาง (Intermediate) คือ $30^{\circ}\text{C}/65\%\text{RH}$ และการศึกษาในสถานะเร่ง (Accelerated) คือ $40^{\circ}\text{C}/75\%\text{RH}$ เป็นเวลา 6 เดือนส่วนการศึกษาถึงความคงตัวต่อการแช่แข็งละลาย (Freeze-Thaw Stability) ที่อุณหภูมิ -21°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สลับกับ $+25^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมงอย่างน้อย 5-6 รอบโดยผลการศึกษาต้องไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคความหนืดและปริมาณยา (วรณัทรังสิมาวงศ์ และ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557)

ในปี ค.ศ. 2009 Junyaprasert และคณะ ได้ทำการศึกษาความคงตัวทางเคมีในระยะยาวของ Q_{10} ที่กระจายในวัฏภาคของเหลวของนาโนอิมัลชันเปรียบเทียบกับ Q_{10} ที่กระจายในวัฏภาคที่เป็นของแข็งที่สามารถปกป้องการเสื่อมสลายทางเคมีของสารสำคัญได้คือนาโนสตรักเจอร์ลิพิดแคริเออร์ (Nanostructurelipid Carrier) พบว่า ทุกตำรับมีความคงตัวดีโดยมีปริมาณตัวยามากกว่า 90% เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C , 25°C และ 40°C เป็นเวลา 12 เดือนซึ่งที่อุณหภูมิ 40°C จะมีความคงตัวทางเคมีน้อยกว่าที่ 4°C และ 25°C แต่เนื่องจาก Q_{10} สลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสแสงจึงพบว่า ปริมาณตัวยาคือจะลดลงเมื่อสัมผัสแสงที่อุณหภูมิ 25°C (Junyaprasert et al., 2009)

6.4) ระบบนำส่งยาสู่เป้าหมาย (Target Drug Delivery System) การใช้ นาโนอิมัลชันเป็นระบบนำส่งยาสู่เป้าหมายที่ตำแหน่งเนื้อเยื่อมะเร็งหรือบริเวณที่มีการอักเสบ โดยอาศัยสารลดแรงตึงผิวเป็นตัวเพิ่มการซึมผ่านในตำรับด้วยการทำลายคุณสมบัติการเป็นตัวกั้นของผิวหนังและตัวยาคือจะเคลื่อนเข้าสู่ผิวหนังชั้นที่ลึกลงไปอย่างช้าๆซึ่งตัวยาคือจะสะสมอยู่ในชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) และหนังแท้ (Dermis) เป็นเวลานานโดยตัวยาคือจะเข้าสู่กระแสเลือดได้น้อยมากเพื่อลดโอกาสในการเกิดพิษจากยาได้ (วรณัทรังสิมาวงศ์ และ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557)

ในปี ค.ศ. 2007 Khandavilli และคณะ ได้ทำการศึกษาระบบนำส่งยาสู่เป้าหมายผ่านทางผิวหนังโดยการทดสอบการซึมผ่านผิวหนังของนาโนอิมัลชันของ Paclitaxel เพื่อให้ยาเข้าสู่ผิวหนังชั้นที่ลึกใช้ในการรักษาโรคมะเร็งที่ผิวหนังและให้ยาเข้าสู่กระแสเลือดได้น้อยมากเพื่อลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากการศึกษาการกระจายของ Paclitaxel ในชั้นผิวหนังของหนู (Sprague Dawley Rat) ด้วยการใช้ Liquid Scintillation Counting ในการวัดปริมาณยาในชั้นสตราตัมคอร์เนียม (Stratum Corneum, SC), หนังกำพร้า (Epidermis, ED) และหนังแท้ (Live Dermis, LD) ในหนูที่ได้รับแผ่นแปะนาโนอิมัลชันของ Paclitaxel เป็นเวลา 1, 4 และ 48 ชั่วโมงเทียบกับที่ได้รับทางหลอดเลือดดำพบว่า นาโนอิมัลชันของ Paclitaxel สามารถให้การสะสมตัวยาคือในแต่ละชั้นของ

ผิวหนังได้มากกว่าการได้รับยาทางหลอดเลือดดำในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษาและมีระดับยาสะสมสูงสุดในชั้นหนังแท้ได้ถึง 10 ไมโครกรัม เมื่อให้ยาทางผิวหนังเป็นเวลา 4 ชั่วโมงและเมื่อทำการวัดระดับความเข้มข้นของยาในเลือดเทียบกับการให้ยาทางหลอดเลือดดำและทางการรับประทานพบว่า การให้นาโนอิมัลชันของ Paclitaxel ทางผิวหนังมีความเข้มข้นของยาในเลือดต่ำที่สุด โดยมีความเข้มข้นต่ำกว่า 100 ng/ml ซึ่งเป็นการแสดงถึงการลดผลที่จะเกิดทั่วร่างกายและลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากยาได้ (Khandavilli et al., 2007)

7) การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อการนำส่งผ่านทางผิวหนังในทางการแพทย์และเวชสำอางนาโนอิมัลชันสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายวัตถุประสงค์ทางด้านอุตสาหกรรมทางด้านเภสัชกรรมรวมถึงทางด้านเวชสำอาง ซึ่งครอบคลุมหลายรูปแบบการให้ยาหรือสารสำคัญ เช่นทางผิวหนังทางปากทางการฉีดได้ผิวหนังหรือกล้ามเนื้อทางทวารหนักและทางตาตัวอย่างการประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันในด้านต่างๆ (วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ, 2552)

7.1) การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันในทางเวชสำอางนาโนอิมัลชันในทางเวชสำอางเริ่มมีบทบาทสำคัญมากขึ้นโดยใช้เป็นระบบที่ควบคุมการนำส่งสารออกฤทธิ์ผ่านทางชั้นได้ผิวหนังเนื่องจากมีโครงสร้างภายในเป็นสารที่ชอบไขมัน (Lipophilic interior) จึงเหมาะที่จะใช้สำหรับนำส่งสารที่ชอบไขมัน (Lipophilic Compound) ได้มากกว่า ไลโปโซม (Liposome) อีกทั้งยังช่วยเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังและเพิ่มความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ในชั้นผิวหนังด้วย นอกจากนี้ยังมีผลลดการสูญเสียน้ำจากผิวหนัง (Trans-Epidermal Water Loss, TEWL) และสามารถหลีกเลี่ยงการใช้สารลดแรงตึงผิวที่ก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ด้วย ตัวอย่าง การใช้นาโนอิมัลชันในทางเครื่องสำอาง เช่น นาโนเจลเทคโนโลยี (Nanogel Technology) ผลิตภัณฑ์ป้องกันแดด (Sun Care Product) และครีมเพิ่มความชุ่มชื้นและครีมต้านริ้วรอยก่อนวัย (Moisturizing and Anti-Aging Cream)

7.2) การประยุกต์นาโนอิมัลชันในทางการแพทย์นาโนอิมัลชันเป็นตัวพาเพื่อการนำส่งทางผิวหนังเพื่อการรักษาเฉพาะที่หรือเพื่อให้เกิดผลทั่วร่างกายการให้ยาทำได้ง่ายและสะดวกต่อคนไข้และมีความเป็นไปได้ที่จะหยุดใช้ยาในทันทีเมื่อต้องการ นอกจากนี้นาโนอิมัลชันยังสามารถเพิ่มการซึมผ่านทางผิวหนังและค่าชีวประสิทธิผล (Bioavailability) ของตัวยาที่ละลายน้ำได้ยากหลายชนิด เช่น คีโตโพรเฟน (Ketoprofen), ไดโคลฟีแนค (Diclofenac), คาร์เวดีโอล (Carvediol), ซีลีค็อกซิบ (Celecoxib) เป็นต้น

นาโนอิมัลชันเพื่อการยับยั้งเชื้อจุลชีพมีการนำนาโนอิมัลชันมาใช้กับสารออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพ (Broad spectrum Activity) มีหลายชนิด เช่น ด้านเชื้อแบคทีเรีย

(เช่น เชื้อ Salmonella, s. Aureus) ด้านเชื้อไวรัส (เช่น เชื้อ HIV, เชื้อ herpes simplex) ด้านเชื้อรา (เช่น เชื้อ candida, เชื้อ Dermatophytes) และด้านสปอร์ของเชื้อ (เช่น Anthrax) เนื่องจากอนุภาคของนาโนอิมัลชันมีแรงขับเคลื่อนทางอุณหพลวัต (Thermodynamically Driven) ในการทำให้เกิดการหลอมรวมเข้ากันกับส่วนประกอบที่เป็นไขมันของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มแรงดึงดูดด้วยไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Attraction) ระหว่างช่วงทางประจุบวก (Cationic Charge) ของอิมัลชันและประจุลบ (Anionic Charge) ของเชื้อจากนั้นจะเกิดการปลดปล่อยพลังงานเข้ามาในอิมัลชันทำให้เชื้อหุ้มชั้นไขมันของเชื้อเสียความคงตัวส่งผลให้เซลล์แตกและตายไปในส่วนที่กรณีของสปอร์จะมีการเติมสารเพิ่มการงอกของสปอร์ (Germination Enhancers) ลงในอิมัลชันเนื่องจากฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ของนาโนอิมัลชันจะมีความไวต่อสปอร์ในขณะที่กำลังงอกซึ่งพืชต่อเชื้อจุลินทรีย์จะมีความจำเพาะขึ้นกับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์

นาโนอิมัลชันเพื่อเป็นวัคซีนผ่านทางเยื่อบุเริ่มมีการนำนาโนอิมัลชันมาใช้นำส่งทั้งที่เป็นรีคอมบิแนนท์โปรตีน (Recombinant Proteins) หรือที่เป็นสิ่งมีชีวิตที่ทำให้หมดฤทธิ์ (Inactivated Organisms) เพื่อส่งไปยังเยื่อผิว (Mucosal Surface) ทำให้กระตุ้นปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน (Immune Response) การประยุกต์ใช้ในระยะแรกจะเป็นวัคซีนไข้หวัดใหญ่ (Influenza Vaccine) และวัคซีนเอชไอวี (HIV Vaccine) ซึ่งสามารถทำการวิจัยในมนุษย์ผ่านกระบวนการวิจัยทางคลินิก (Clinical Trials) ได้แล้วในส่วนของการวัคซีนชนิดอื่นที่ประสบความสำเร็จในการทำวิจัยในสัตว์ทดลอง (Animal Trials) ประกอบด้วย วัคซีนโรคตับอักเสบบี (Hepatitis B) และแอนแทรกซ์ (Anthrax)

นาโนอิมัลชันในการรักษามะเร็งและระบบนำส่งยาสู่เป้าหมาย โดยเฉพาะในยาต้านมะเร็งที่ชอบไขมันจะมีการเตรียมเป็นนาโนอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w) โดยที่ตัวภาวน้ำมันสามารถทำให้เกิดการละลายตัวของยาที่ชอบไขมันได้ ดังนั้นจึงมียาที่ละลายในนาโนอิมัลชันมากขึ้นทำให้การบริหารยาเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่น้อยกว่าแบบที่เป็นสารละลายของน้ำ อีกทั้งยังสามารถทำให้มีการปลดปล่อยยาแบบช้าๆ และเพิ่มปริมาณของยาสะสมเฉพาะบริเวณที่เป็นมะเร็งโดยไม่เกิดการกระจายทั่วร่างกายจึงลดผลข้างเคียงจากยาได้ ตัวอย่าง ยาต้านมะเร็งที่กักเก็บในนาโนอิมัลชัน เช่น ยาแพคลิแท็กเซล (Paclitaxel), ยาแคมป์โทเทซิน (Camptothecin), ยาเมลฟาแลน (Melphalan), ยาแกโดลิเนียม (Gadolinium) เป็นต้น (วรรณท์ รังสิมาวงศ์ และ ชนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2557)

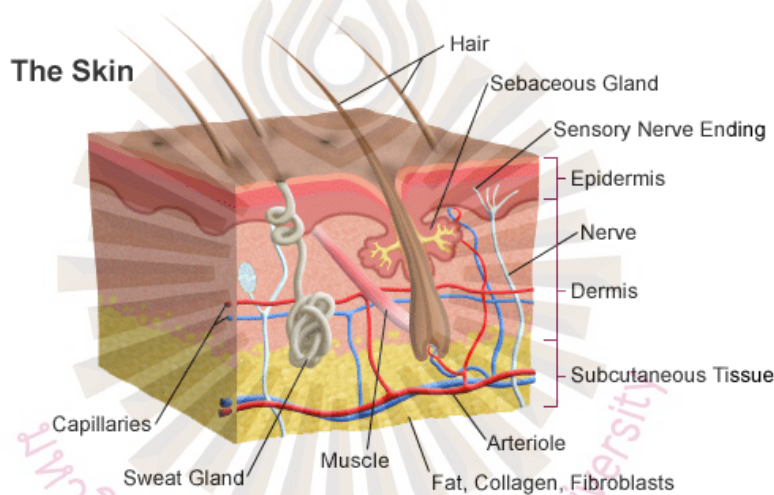
2.3.4 โครงสร้างของผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดทำหน้าที่ควบคุมความร้อนและการสูญเสียน้ำออกจากร่างกายและยังทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้สารแปลกปลอม เช่น สารเคมีและจุลินทรีย์ ภัยจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย ผิวหนังประกอบด้วย 3 ชั้น คือ

1) ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) ซึ่งแยกย่อยได้เป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ชั้นสตราตัมคอร์เนียม (Stratum Corneum) (10-20 ไมโครเมตร) และชั้นหนังกำพร้าที่มีชีวิต (Viable Epidermis) (~100 ไมโครเมตร)

2) ชั้นหนังแท้ (Dermis) ซึ่งอยู่ด้านล่าง (0.1-0.5 เซนติเมตร)

3) ชั้นไขมันใต้ผิวหนังซึ่งอยู่ติดกับชั้นของกล้ามเนื้อ



รูปที่ 2.6 แสดงถึงลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนัง

ที่มา : Engel, 2015

ชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) ชั้นหนังกำพร้าเป็นชั้นของผิวหนังที่ปกคลุมอยู่บนสุดมีต้นกำเนิดมาจาก Surface Ectoderm ชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีการเกิดเจริญเติบโต พัฒนาการและตายลอกหลุดออกไปจากร่างกายและเป็นชั้นที่ให้งานเกิดโครงสร้างต่างๆ (Skin Derivatives or Appendages) ได้แก่ ขน รูขุมขน และต่อมไขมันรวมเรียกว่า Pilosebaceous Units ต่อมเหงื่อ (Eccrine Apocrine Apocrine Apocrine Sweat Glands) และเล็บ (Nails)

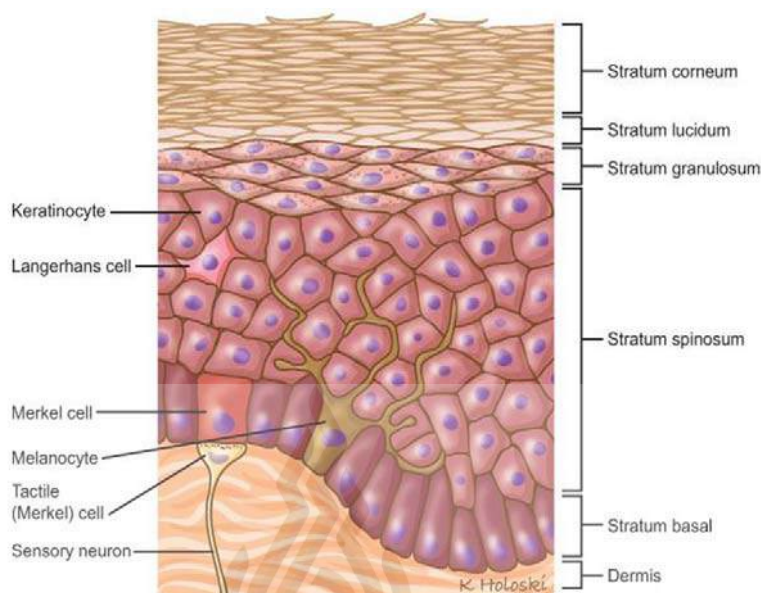
ส่วนของชั้นหนังกำพร้าจะแบ่งออกเป็นชั้นต่างๆ 5 ชั้น เรียงจากชั้นนอกเข้าไปชั้นในสุด ดังนี้ สตราตัมคอร์เนียม (Stratum Corneum หรือ Horny Layer), สตราตัมลูซิดัม (Stratum

Lucidium), สตราตัมแกรนูโลซัม (Stratum Granulosum), สตราตัมสไปโนซัม (Stratum Spinosum) และ สตราตัมเจอร์มินาติวัม (Stratum Germinativum) หรือ สตราตัมเบซาเล (Stratum Basale) (วารสาร จรรยาประ เสรฐ, 2555, น. 62-63) ชั้นหนังกำพร้ามีความหนาโดยเฉลี่ยประมาณ 0.4 ถึง 1.5 มิลลิเมตร เทียบกับความหนาทั้งหมดของผิวหนัง (Skin) ซึ่งมีความหนาเฉลี่ยโดยประมาณ 1.5-4.0 มิลลิเมตร แต่ความหนาของชั้นหนังกำพร้านี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละบริเวณของร่างกายทำให้สามารถแบ่งผิวหนังตามความหนาของ ชั้นหนังกำพร้าออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1) Thick Skin คือ ผิวหนังที่มีชั้นหนังกำพร้าหนาที่สุด โดยเฉพาะชั้น Stratum Corneum พบบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้า (Palms and Soles) ซึ่ง thick skin นี้จะไม่มี ขน รูขุมขน และกล้ามเนื้อ Arrector Pili Muscles (Pilosebaceous unit) อยู่ในบริเวณเหล่านี้ แต่จะมีต่อมเหงื่อ Eccrine Sweat Glands เป็นจำนวนมากดังนั้นบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าของร่างกายจึงไม่พบเส้นขนหรือน้ำมันจากต่อมไขมันเหมือนบริเวณอื่นของร่างกาย เช่น ใบหน้าแต่จะมีเหงื่อออกมากบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้า

2) Thin Skin คือ ผิวหนังที่มีชั้นหนังกำพร้าบางที่สุด พบได้ทั่วร่างกาย ยกเว้น บริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าซึ่งผิวหนังชนิดนี้จะมี Skin Derivatives ทุกชนิด คือ รูขุมขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และต่อม Apocrine Sweat Gland

ชั้นสตราตัมคอร์เนียมหรือ Honey Layers เป็นเซลล์ผิวหนังชั้นนอกที่ไม่มีชีวิตทำหน้าที่สำคัญในการเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารทางผิวหนังชั้นนี้ ประกอบด้วย เซลล์คอร์นิไฟต์ ซึ่งเป็นเซลล์ทึบเหลี่ยม มีลักษณะแบน เรียงตัวซ้อนกัน 15-35 เซลล์ โดยมีโครงสร้างแบบอิฐและปูน (Brick and Mortar Model) คือ เซลล์เรียงต่อกันเหมือนก้อนอิฐ โดยมีไขมันระหว่างเซลล์ทำหน้าที่เป็นปูนยึดเซลล์ให้ติดกัน แต่ละเซลล์ประกอบด้วยมัดของเคราติน (Keratin) ประมาณร้อยละ 70 และไขมัน ประมาณร้อยละ 20 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยผนังเซลล์ระหว่างเซลล์เป็นไขมันและเดสโมโซม (Desmosomes) ซึ่งทำให้เซลล์ยึดติดกัน การจัดเรียงโครงสร้างในลักษณะเช่นนี้ทำให้เนื้อเยื่อส่วนนี้ทนต่อแรงอื่นที่มากระทำ ส่วนของไขมันระหว่างเซลล์ประกอบด้วยคอเรสเตอรอล (Cholesterol) ประมาณร้อยละ 27 เซราไมด์ (Ceramides) ประมาณร้อยละ 4 กรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 9 คอเรสเตอรอลเอสเทอร์ (Cholesterol ester) ประมาณร้อยละ 10 และคอเรสเตอรอลซัลเฟต (Cholesterol Sulfate) ประมาณร้อยละ 2 ซึ่งสัดส่วนของสารประกอบเหล่านี้มีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นกับตำแหน่งบนร่างกาย สำหรับการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง (Transdermal Drug Delivery) ยาจะต้องส่งผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นลึก (หนังแท้) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยง และในท้ายที่สุดยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด (วารสาร จรรยาประ เสรฐ, 2555, น.63)



รูปที่ 2.7 แสดงถึงลักษณะโครงสร้างของชั้นหนังกำพร้า

ที่มา : ชีรวัฒน์ สุวรรณิ, 2016

ชั้นหนังแท้ (Dermis) เป็นชั้นที่อยู่ต่ำกว่าผิวหนังนอกลงมา มีความหนามากกว่าผิวหนังนอก 20-40 เท่าเป็นชั้นที่มีความหนามากถึงร้อยละ 90 ของโครงสร้างผิวทั้งหมด ผิวชั้นหนังแท้ประกอบไปด้วยปลายประสาทรับความรู้สึก ต่อมน้ำมัน ต่อมนเหงื่อ รากขน เส้นเลือด ต่อมนเหงื่อ และต่อมน้ำมันที่อยู่ในชั้นหนังแท้จะทำหน้าที่ในการผลิตน้ำมันและเหงื่อออกไปเคลือบผิวหนังชั้นนอกไว้บ้าง น้ำมันและเหงื่อมีประโยชน์ในการช่วยรักษาน้ำให้ผิวหนังและมีฤทธิ์ในการป้องกันเชื้อโรคแบคทีเรียและเชื้อรา นอกจากนี้ผิวหนังชั้นหนังแท้ยังประกอบไปด้วย คอลลาเจน (Collagen) และอีลาสติน (Elastin) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดความยืดหยุ่นของผิวพรรณ คอลลาเจนเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีหน้าที่ในการเสริมสร้างความแข็งแรงและความแน่นหนาให้แก่ผิวทำให้ผิวกระชับเต่งตึง ช่วยซ่อมแซมผิวที่เป็นแผลด้วยการสร้างเนื้อเยื่อต่างๆ มาปกคลุมเส้นใยอีลาสตินมีหน้าที่ในการเสริมสร้างความยืดหยุ่นให้แก่ผิวทำให้ผิวหนังคืนรูปหลังจากการเคลื่อนไหว หากชั้นหนังแท้มีคอลลาเจนหรือเส้นใยอีลาสตินน้อยจะทำให้เกิดริ้วรอยหย่อนคล้อยและเหี่ยวย่นก่อนวัยอันควร ชั้นหนังแท้ประกอบด้วยเส้นใยคือ Collagen Fibers, Elastic Fibers และ Reticulum fibers ซึ่งเส้นใยจะมีลักษณะละเอียดและอยู่กันแบบหลวมๆ ในชั้นบนที่อยู่ชิดกับชั้นหนังกำพร้าเรียกว่าชั้น Papillary Dermis ส่วนในชั้นลึกเส้นใยมีลักษณะหยาบกว่าและอยู่กันอย่างหนาแน่นเรียกว่าชั้น Reticular Dermis เส้นใยดังกล่าวจะวางตัวอยู่ในสารพื้นฐาน (Ground Substance)

ซึ่งประกอบด้วย Acid Mucopolysaccharide Hyaluronic Acid, Chondroitinsulfate, Dermatan sulfate, Neutral Mucopolysaccharides และ electrolytes นอกจากนั้น ในชั้นหนังแท้ยังมีเส้นเลือด, กล้ามเนื้อ, เส้นประสาทและปุ่มประสาทพิเศษที่รับรู้ความรู้สึกต่างๆ เช่น รับความรู้สึก สัมผัสความกดดัน ความร้อน ความเย็น เป็นต้น และในชั้นหนังแท้ยังมี Mast Cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่มี Granules ที่บรรจุไปด้วยสารหลายชนิด เช่น Heparin, Histamine, Neutrophil Chemotactic Factor, Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis และ Kinin เป็นต้น

ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (Subcutaneous Fat Layer) ชั้นไขมันใต้ผิวหนัง หรือไฮโปเดอร์มิส (Hypodermis) เป็นผิวหนังชั้นที่ลึกที่สุดประกอบด้วยเซลล์ไขมัน (Fat Cells) ไฟโบรบลาสต์และแมคโครฟาจ (Macrophage) ซึ่งทำหน้าที่เป็นฉนวนร่างกายและปกป้องผิวหนังจากแรงกระแทกภายนอก (วารสาร จรรยาประเสริฐ, 2555, น.64)

1) การดูดซึมทางผิวหนัง (Percutaneous Absorption) การดูดซึมทางผิวหนัง คือ การศึกษากลไกหรือวิธีการดูดซึมของยาผ่านผิวหนังเพื่อออกฤทธิ์เฉพาะที่ผิวหนัง หรือเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดและออกฤทธิ์ทั่วร่างกายหรืออวัยวะเป้าหมาย การดูดซึมทางผิวหนังอาศัยหลักการแพร่เป็นสำคัญ ซึ่งการแพร่จะต้องเป็นไปตามกฎของการแพร่ของฟิคส์ (Fick's law of Diffusion) (Aulton, 2007)

การให้ยาทางผิวหนัง เช่น การทา การพ่นสเปรย์ หรือการฉีดแผ่นแปะตัวยาคือสำคัญในรูปแบบยาต่างๆสามารถออกฤทธิ์ที่ผิวหนังชั้นต่างๆ ขึ้นอยู่กับความสามารถของตัวยาคือการออกแบบรูปแบบการรับและบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ ตำแหน่งยาที่ให้ทางผิวหนังสามารถออกฤทธิ์ได้ ได้แก่ (Aulton, 2007)

1.1) ด้านนอกของผิวหนัง คือ ไม่เกิดการดูดซึม โดยยาจะเคลือบเป็นฟิล์มบางๆ บนผิวหนัง เพื่อชะลอการซึมเข้าผิวหนัง ป้องกันแสงแดด ป้องกันแมลง หรือการใช้เครื่องสำอางสำหรับแต่งหน้า

1.2) Appendages ได้แก่ ค่อมเหงื่อ ค่อมไขมันสำหรับการรักษาสิว ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ระวังกลิ่นกายหรือที่รูขุมขนสำหรับการกระตุ้นการเกิดของเส้นผม

1.3) ภายในชั้นผิวหนังต่างๆ รวมถึงชั้นกล้ามเนื้อ เช่น ออกฤทธิ์ผลัดเซลล์ผิว กัดหูด ขยับยั้งการแบ่งเซลล์ผิวหนัง ลดการอักเสบ ทำให้ขาว หรือต้านฮิสตามีน เป็นต้น

1.4) ภายในร่างกาย โดยการดูดซึมผ่านชั้นผิวหนังแล้วดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือด เช่น แผ่นแปะนิโคติน แผ่นแปะสโคโพลามีน (Scopolamine) และแผ่นแปะยาคุมกำเนิด เป็นต้น

2) ระบบนำส่งยาผ่านผิวหนัง (Transdermal Drug Delivery Systems)

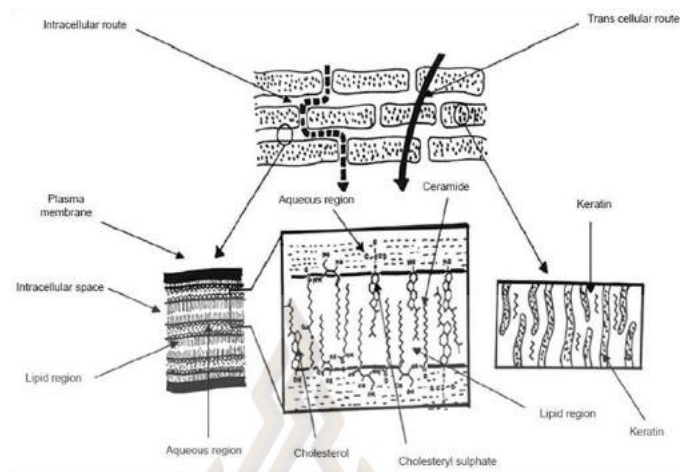
ระบบนำส่งยาที่ด้วยยาสำคัญสามารถแทรกซึมผ่านผิวหนังและถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดเพื่อไปออกฤทธิ์ที่อวัยวะเป้าหมาย ผิวหนังเป็นบริเวณที่ใช้ยาแต่ไม่ใช่อวัยวะเป้าหมายสำหรับการออกฤทธิ์ของด้วยยาสำคัญ ตัวอย่างรูปแบบ ได้แก่ แผ่นแปะ (Patch) และระบบนำส่งยาต่างๆ เช่น ลิโพโซม เอโทโซมหรือนาโนอิมัลชัน เป็นต้น (Allen et al., 2011) ยาส่วนใหญ่อาศัยเส้นทางผ่านทางผิวหนัง การแพร่ผ่านของยาผ่านเข้าไปยังชั้นผิวหนังอาศัยช่องทางการซึมผ่านหลายเส้นทาง ได้แก่ เส้นทางผ่านเซลล์โดยตรง (Transcellular) เส้นทางผ่านระหว่างเซลล์ (Intercellular) และระยางค์ผิวหนัง (Appendageal route) โดยอาศัยหนึ่งเส้นทางหรือหลายเส้นทางร่วมกัน (Walters, 2002)

2.1) เส้นทางผ่านเซลล์โดยตรง (Transcellular Route) การซึมผ่านของยาโดยตรงผ่านเซลล์ผิวหนังเส้นทางนี้เป็นเส้นทางหลักในการดูดซึมทางผิวหนัง โดยที่ด้วยยาสำคัญที่ชอบไขมันจะแพร่ผ่านเซลล์เมมเบรนของเซลล์ผิวหนังที่เป็นไขมันได้ดี นอกจากนี้โปรตีนที่แทรกอยู่ในชั้นผิวหนังซึ่งทำให้เกิดรูเล็กๆ ที่ทำให้ยาที่ไม่ชอบไขมัน ยาที่มีประจุหรือยาที่มีขั้วสามารถซึมผ่านได้ โดยรูนี้สามารถขยายใหญ่ขึ้นได้ในสถานะที่ผิวหนังชุ่มน้ำ

2.2) เส้นทางผ่านระหว่างเซลล์ (Intercellular Route) ในชั้นผิวหนังซึ่งมีการเรียงตัวของเซลล์ผิวหนัง และมีช่องว่างระหว่างเซลล์ซึ่งมีลักษณะของชั้นน้ำมันเรียงตัวสลับกับชั้นน้ำและมี Fatty Acid, Cholesterol และ Ceramide แทรกอยู่ ด้วยยาสำคัญจะเกิดการแพร่ผ่านระหว่างช่องว่างของเซลล์นี้ เป็นเส้นทางหลักเส้นทางหนึ่งในการซึมผ่านของยาผ่านผิวหนัง ยาที่มีคุณสมบัติทั้งชอบไขมัน ไม่ชอบไขมันหรืออิเล็กโตรไลต์สามารถใช้ช่องทางนี้ในการซึมผ่านได้ ทั้งนี้อัตราเร็วในการซึมผ่านต้องพิจารณาถึงค่า Log ของด้วยยาสำคัญด้วย ยาจะต้องละลายได้บ้างในไขมัน แต่ต้องไม่ละลายดีเกินไปไม่เช่นนั้นยานจะถูกกักไว้ในชั้นนี้ไม่ถูกปลดปล่อยหรือดูดซึมในชั้นที่ลึกลงไป ยาที่จะถูกดูดซึมผ่านช่องทางนี้ได้ ควรมีค่า log P ประมาณ 1

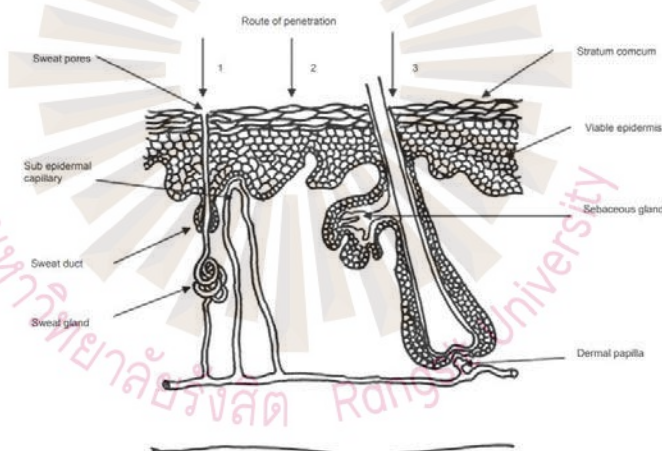
2.3) เส้นทางผ่านระยางค์ผิวหนัง (Appendageal Route หรือ Shunt Pathway) เส้นทางนี้ไม่ใช่เส้นทางหลักในการแพร่ผ่านยาเข้าสู่ผิวหนัง เพราะมีพื้นที่ผิวน้อยมากเพียงร้อยละ 0.1 ของพื้นที่ผิวหนังทั่วร่างกายและยังสวนทางกับทางเดินปกติของสารคัดหลั่ง ได้แก่ เหงื่อหรือไขมันอีกด้วย ด้วยยาสำคัญที่สามารถแพร่ผ่านเส้นทางนี้ได้ คือ ยาที่มีคุณสมบัติมีขั้ว มีประจุ หรือชอบไขมัน (ผ่านต่อมไขมัน) ยาที่มีขนาดเล็กมากๆ สามารถสะสมที่รูขุมขนแล้วค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาและออกฤทธิ์แบบเน้นได้ ด้วยยาสำคัญที่ผ่านช่องทางนี้เหมาะสำหรับการรักษาโรค

ที่เกิดที่รูขุมขนหรือต่อมไขมัน เช่น สิว ผดผื่น และรูขุมขนอักเสบ เป็นต้น (อรัญญา มโนสร้อย และ จิรเดช มโนสร้อย, 2550)



รูปที่ 2.8 แสดงถึงเส้นทางการซึมผ่านของสาร

ที่มา : Mathur et al., 2010



รูปที่ 2.9 แสดงถึงการแพร่ผ่านของต่อมเหงื่อและรูขุมขน

ที่มา :Mathur et al., 2010

3) ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมทางผิวหนัง ด้วยสำคัญซึมผ่านผิวหนัง โดยอาศัยเส้นทางการซึมผ่านร่วมกันทั้ง 3 เส้นทาง แต่จะใช้เส้นทางใดเป็นเส้นทางหลักนั้นขึ้นอยู่กับค่า Log P ของตัวยาสำคัญเป็นสำคัญ ตัวยาสำคัญที่ชอบไขมันมีแนวโน้มใช้เส้นทาง Transdermal Route เป็นเส้นทางหลัก ตัวยาสำคัญที่ชอบน้ำมีแนวโน้มใช้เส้นทาง Intercellular Route ผ่านรู

โปรตีนระหว่างเซลล์ และ Appendageal Route เป็นเส้นทางในการซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการซึมผ่านของยา ได้แก่

3.1) ผิวหนัง Skin Hydration หรือการชุ่มน้ำของผิวหนัง เกิดได้จากการคลุมผิวหนังด้วยแผ่นแปะ แผ่นพลาสติกหรือไขมันหรือน้ำมันในตำรับทำให้ปิดกั้นการระเหยของน้ำในผิวหนัง (Occlusive Effect) ส่งผลให้ปริมาณน้ำที่ผิวหนังเพิ่มจากร้อยละ 5-15 เป็นร้อยละ 50 ผิวหนังที่ชุ่มน้ำจะทำให้รูที่เป็นช่องว่างของโปรตีนที่แทรกอยู่ระหว่างชั้นของผิวหนังขยายใหญ่ขึ้นผิวหนังพองตัวลดความแน่นหนาของโครงสร้างผิวหนังทำให้เพิ่มอัตราเร็วในการแพร่ผ่านของยาได้

3.2) อุณหภูมิที่ผิวหนัง ผิวหนังที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น เช่น การปิดกั้นการระเหยของน้ำในผิวหนังหรือการถูวนจะทำให้ผิวหนังมีอุณหภูมิสูงขึ้นได้และอัตราการดูดซึมทางผิวหนังเร็วขึ้นและดีขึ้น เพราะความร้อนจะช่วยเพิ่มอัตราการแพร่กระจาย เพิ่มการเคลื่อนที่ของโมเลกุล เพิ่มการละลายของตัวยาสำคัญ ลดความหนืดของตำรับ เพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดทำให้พาตัวยาออกไปได้ดีขึ้นและเกิดความต่างระดับของความเข้มข้นมากขึ้น

3.3) ลักษณะของผิวหนัง ความหนาของผิวหนังบริเวณต่างๆ ที่แตกต่างกันอายุของผู้ป่วยผู้สูงอายุก็มีผิวแห้งกว่าการผลัดเซลล์ผิวเกิดน้อยการไหลเวียนเลือดมาที่ผิวหนังน้อยลงทำให้การดูดซึมทางผิวหนังต่ำ นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาวะโรคของผิวหนังหรือผิวหนังถลอกลอกทำให้ชั้น Stratum Corneum บางลงการดูดซึมทางผิวหนังดีขึ้น สัตว์แต่ละชนิดมีอัตราการซึมผ่านผิวหนังที่ต่างกันโดยพบว่ากระต่ายดูดซึมยาได้ดีกว่า หนู หมู ลิง และคนตามลำดับ ดังนั้น ในการศึกษาการดูดซึมทางผิวหนังจึงนิยมใช้หูของหมูเพราะหาได้ง่ายและมีความใกล้เคียงกับมนุษย์มากกว่ากระต่ายหรือหนู

3.4) ตัวยาสำคัญและรูปแบบตำรับ คุณสมบัติของตัวยาสำคัญ ได้แก่ ค่า Log P โดยทั่วไปตัวยาสำคัญที่มีค่า log P อยู่ในช่วง 1-3 (ชอบไขมัน) การซึมผ่านผิวหนังจะดี ตัวยาสำคัญที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว น้ำหนักโมเลกุลไม่เกิน 500 Da มีขนาดอนุภาคเล็กสามารถซึมผ่านผิวหนังได้ดีปริมาณและความเข้มข้นของยาในตำรับ หากมีปริมาณยาในตำรับมากจะทำให้ความต่างระดับของความเข้มข้นมากการซึมผ่านยาเข้าสู่ผิวหนังมากตามไปด้วย รูปแบบตำรับมีผลต่อการปลดปล่อยตัวยาสำคัญออกจากตำรับแล้วดูดซึมผ่านผิวหนัง การปลดปล่อยของตัวยาออกจากตำรับขึ้นอยู่กับค่าการละลายของตัวยาสำคัญในตำรับ และสัมประสิทธิ์การแบ่งภาคของตัวยาสำคัญระหว่างชั้นผิวหนังและรูปแบบตำรับยา ดังนั้น คุณสมบัติของยาพื้นหรือกระสายยาและส่วนประกอบในตำรับมีผลต่อการซึมผ่านยาเข้าสู่ผิวหนัง

3.5) สารเพิ่มการแทรกผ่าน (Penetration Enhancer) ทางเคมี (Chemical Penetration Enhancers) คือการใช้สารเคมีเพิ่มการดูดซึมยาผ่านผิวหนังแบบไม่ทำลายผิวหนังถาวร (Reversible) โดยทำให้ผิวหนังชุ่มน้ำมากขึ้นเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผิวหนังลดไขมันที่เป็นโครงสร้างของผิวหนังทำให้ไขมันที่ผิวหนังอ่อนตัวลง (Fluidization) หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างช่องว่างระหว่างเซลล์ ในทางทฤษฎีสารเคมีที่ใช้สำหรับเพิ่มการดูดซึมทางผิวหนังจะต้องไม่ก่อให้เกิดพิษต่อร่างกายไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทำลายผิวหนังแบบไม่ถาวรเข้ากันได้ดีกับสารอื่นๆ ในตำรับเป็นตัวทำละลายที่ดีของตัวยาสำคัญสามารถแผ่กระจายบนผิวหนังได้ดี ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่มีสี และราคาถูก สารเคมีที่ใช้แบ่งกลุ่มได้ดังนี้ (Mathur et al., 2010; Rodrigues et al., 2007)

3.5.1) สารเคมีตัวทำละลาย (Solvents) เช่น Acetone, Ethanol, Propylene Glycol และ Polyethylene Glycol เป็นต้น

3.5.2) สารเคมีที่สามารถลดแรงตึงผิว (Surfactants) เช่น Sodium Lauryl Sulfate เป็นต้น

3.5.3) เกลือน้ำดี (Bile Salts) เช่น Sodium Taurocholat และ Sodium Deoxycholate เป็นต้น

3.5.4) การใช้สารสองชนิดร่วมกัน (Binary System) เช่น Propylene Glycol ร่วมกับ Oleic Acid หรือ 1,4-Butane Diol ร่วมกับ Linoleic Acid เป็นต้น

3.5.5) สารอื่นๆ เช่น Urea, N,N-Dimethyl-Toluamide, Calcium Thioglycolate, Azone, Dimethyl Acetamide, Oleic Acid และ Dimethyl Sulfoxide เป็นต้น

ทางกายภาพ (Physical Penetration Enhancers)

1) Iontophoresis คือ การกระตุ้นให้ตัวยาสำคัญซึ่งมีประจุหรือแตกตัวเป็นไอออนหรือมีขั้วเคลื่อนที่ผ่านผิวหนังตามแรงขับของกระแสไฟฟ้าโดยไม่ทำให้เกิดเส้นทางใหม่ในการนำส่งทางผิวหนัง หากตัวยาสำคัญมีขั้วบวกให้ทายาที่ด้านขั้วบวก เมื่อให้กระแสไฟฟ้าเข้าไปจะทำให้เกิดการผลักตัวยาสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้

2) Electroporation คือ การกระตุ้นผิวหนังด้วยความต่างศักย์ที่สูงมากๆ (10-1000 Volts) ในช่วงสั้นๆ ทำให้โครงสร้างผิวหนังเกิดการเปลี่ยนแปลงสูญเสียความต้านทานการซึม

ผ่านของยาและเกิดเส้นทางใหม่ในการซึมผ่านจากการจัดเรียงตัวใหม่ของชั้น lipid bilayer ของผิวหนังทำให้ตัวยาสำคัญซึมผ่านผิวหนังได้ดีขึ้น

3) Sonophoresis คือ การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงไปรบกวนชั้น Lipid Bilayers ของผิวหนังและเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผิวหนังทำให้ตัวยาสำคัญซึมผ่านผิวหนังได้ดีขึ้นเพิ่ม การดูดซึมของยาผ่านรูขุมขน ต่อมาเหงื่อ คลื่นเสียงความถี่ต่ำ (20 MHz) เพิ่มการนำส่งยาผ่านผิวหนัง ได้ดีกว่าคลื่นความถี่สูง (10 MHz)

4) Phonophoresis คือ การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการนวดที่ผิวหนังด้วย

5) Microfabricated Microneedle Technology คือ การใช้เข็มขนาดเล็กมากๆ นำส่งยาผ่านชั้นผิวหนังเข้าไปในชั้นที่ลึกลงไปโดยตรง (By Pass) เข็มจะถูกเคลือบด้วยยาหรือบรรจุในช่องตรงกลางของเข็ม ปริมาณยาที่สามารถนำส่งได้ขึ้นอยู่กับขนาดและความยาวของเข็ม โดยทั่วไป เข็มมีขนาดตั้งแต่ 0.15-0.5 มม.

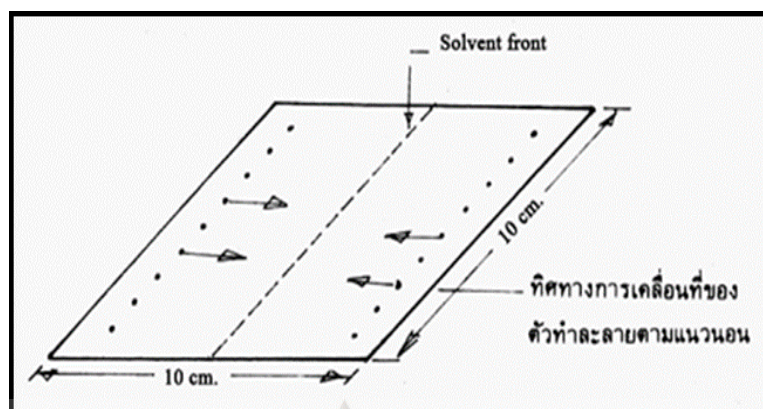
6) ระบบนำส่งยาอนุภาคนาโน ได้แก่ ลิโปโซม นาโนอิมัลชัน หรือไลปิดนาโนพาร์ทิเคิล เป็นต้น ซึ่งตัวยาสำคัญในตำรับจะมีขนาดเล็กมากๆ ในระดับนาโนเมตร จึงสามารถแพร่ผ่านชั้นผิวหนังได้ง่ายและดีขึ้น (Mathur et al., 2010)

2.4 ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแบบสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)

ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแบบสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography) คือ วิธีการแยกสารบนแผ่นที่เคลือบด้วยตัวดูดซับเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมสูงในห้องปฏิบัติการด้านการผลิตและควบคุมคุณภาพสมุนไพรที่พัฒนามาจากเครื่องมือ TLC สามารถวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน จึงส่งผลให้ระบบการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพมีความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ซ้ำๆ (Reproducibility) อีกทั้งยังประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย ธรรม (ธิดา สุขธรรม, 2557, น.10-12.) โดยใช้แอคซอร์เบนที่มีขนาดอนุภาคเล็กลงและมีความแตกต่างของอนุภาคน้อยมากจึงจัดเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพซึ่งจะอาศัยการเคลื่อนที่บนชั้นของตัวดูดซับที่ประกอบด้วยอนุภาคนาโนขนาดเล็กกว่าซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 ไมโครเมตร ขณะที่ TLC ธรรมดาทั่วไปมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ประมาณ 12-20 ไมโครเมตร แนวในการเคลื่อนที่ของอนุภาคใน HPTLC จะมีลักษณะที่แคบกว่า นอกจากนั้นชั้นของตัวดูดซับก็บางกว่าและระยะทางในการเคลื่อนที่ของตัวอย่างที่ถูกวิเคราะห์จะสั้นกว่าด้วยจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแยกเพิ่มขึ้นและเร็วมากขึ้น การวิเคราะห์แบบ HPTLC สามารถทำการดีเวลลอปได้อีกแบบหนึ่ง เรียกว่า การดีเวลล

อปแบบแซนด์วิช (Sandwich) การทำ HPTLC สามารถแยกสารได้ในระยะ 5 ซม. จึงใช้แผ่นแก้วที่มีขนาด 10 x 10 ซม. แล้วจุดสารลงบนแผ่นแก้วที่ฉาบแล้วจากนั้นทำการดีเวลลอปตามแนวนอนให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่จากสารตัวอย่างทั้ง 2 ข้าง เมื่อตัวทำละลายทั้ง 2 ข้างเคลื่อนมาชนกันการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายและสารตัวอย่างก็จะหยุด แสดงว่า Solvent Front ก็คือจุดกึ่งกลางของเพลตหรือจุดที่ตัวทำละลายชนกันพอดีวิธีการนี้สะดวกที่ไม่ต้องเสียเวลานั่งเฝ้าและในการทำครั้งหนึ่งๆ สามารถทำได้หลายตัวอย่างเพราะทำทั้ง 2 ข้างของเพลตถ้าแต่ละจุดของตัวอย่างห่างกัน 1 ซม. แสดงว่าข้างหนึ่งของเพลตจะได้ 9 ตัวอย่าง รวม 2 ข้าง เท่ากับ 18 ตัวอย่าง จึงทำให้ HPTLC มีประสิทธิภาพรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำและมีความไวมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ (Densitometer) เป็นองค์ประกอบทำหน้าที่เป็นเครื่องวัดที่นิยมใช้กันมากในการหาปริมาณสารจากพืชสมุนไพร (พอลา ชัยกิจ, 2559) ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับสารเพิ่มมากขึ้นช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์โครมาโทกราฟี (Fingerprint) และวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญโดยจะมีเทคนิคต่างๆ ช่วยในการตรวจสอบหาสารที่ HPLC ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ ทำให้การวิเคราะห์สารแบบ HPTLC สามารถควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรในทุกระดับชาติและระดับสากลได้ (ชิตยาภรณ์ อุดมศิลป์ และคณะ, 2558, น.215)

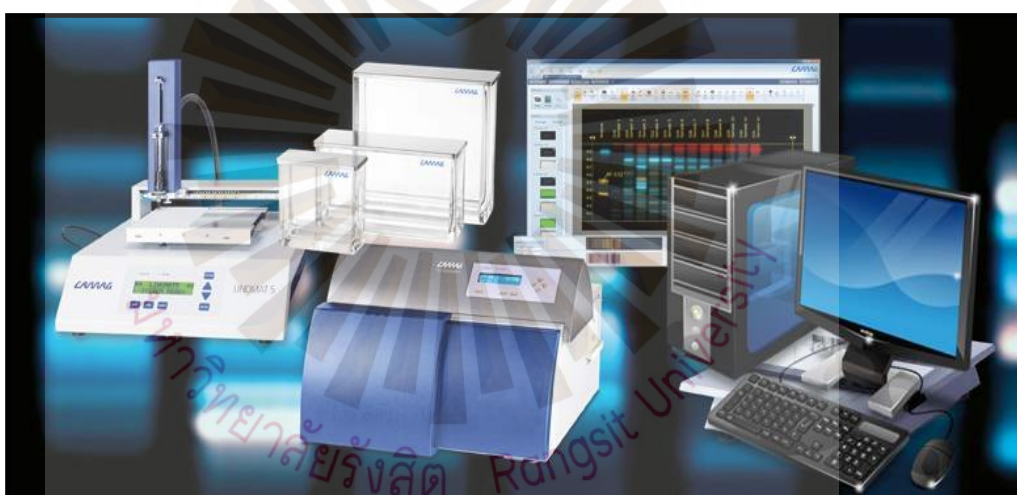
Yamuna & Karthika (2014) กล่าวว่า ปัจจุบันในการวิเคราะห์ควบคุมคุณภาพของยาจากสมุนไพร มีวิธีที่ทันสมัยและง่ายต่อการจำแนกและสามารถแยกสารสำคัญในยาสมุนไพรได้ คือ การใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางในการแยกสารสำคัญแต่ละชนิดออกจากยาสมุนไพรและใช้วิธี HPTLC ในการถ่ายภาพการสร้างโครมาโตแกรมและสร้างเอกลักษณ์โครมาโตกราฟีของยาจากสมุนไพรและสารสกัดจากพืชได้ดี เป็นอีกวิธีที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ผลการวิเคราะห์น่าเชื่อถือได้ และสามารถทวนซ้ำได้ มีรายงานการใช้ HPTLC กันอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสารสกัดพืชสมุนไพรหรือยาสมุนไพร (Priyabrata, D. & McNulty, J. , 2010; Rashmi et al., 2014; Zeeshan et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธีวิเคราะห์แบบ HPTLC ในการตรวจสอบหาสารพิษจากเชื้อราโอคราโทกซินเอ (Ochratoxin A, OTA) ในข้าวโพดอีกด้วย (จิราภรณ์ สิริสัมพันธ์, สิทธิพร ชมพุดรัตน์, วราภา มหากาญจนกุล, และสุวรรณา กลัดพันธุ์, 2549)



รูปที่ 2.10 แสดงถึงลักษณะการดีเวลลอปแบบแซนด์วิช (Sandwich)

ที่มา: ธวัชชัย ศรีวิบูลย์, 2561

2.4.1 องค์ประกอบของเครื่อง HPTLC



รูปที่ 2.11 แสดงถึงส่วนประกอบของเครื่อง HPTLC

ที่มา: CAMAG, 2018

2.4.2 การวิเคราะห์สารด้วยวิธี HPTLC

1) การเตรียมสภาวะโครมาโทกราฟี (Chromatographic Condition)

1.1) การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ด้วยการผสมตัวทำละลายทำให้มีความเข้มข้นในตัว (Twin Trough Chamber) โดยใช้แผ่นกระดาษกรอง

ขนาด 20 X 10 cm. ปล่อยให้วัฏภาคเคลื่อนที่ไหลท่วมแผ่นกระดาษกรอง เป็นเวลา 25 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

1.2) การพัฒนาแผ่นทีแอลซี (TLC Plate) โดยการชะล้างแผ่นทีแอลซีเปล่าในภาชนะรูปตัววีที่อ้อมตัวด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ของสารละลาย Methanol 95% ปล่อยให้สารละลายเคลื่อนที่ถึงขอบบนของแผ่นทีแอลซีที่ระยะทางประมาณ 8 cm. จากนั้นนำไปเป่าจนแห้งเก็บในภาชนะที่แห้งจนกว่าจะใช้งาน

1.3) การหยด (Spot) สารตัวอย่างลงบนแผ่นทีแอลซี ด้วยเครื่องมือหยดสารอัตโนมัติ (Automatic Sample Spotter) โดยหยดสารตัวอย่างห่างจากขอบล่างของแผ่นทีแอลซี 10 mm. และห่างจากขอบด้านข้าง 15 mm. โดยกำหนดให้แต่ละครั้งของการหยดให้ได้ปริมาตรของสารละลาย 2 μL และให้ช่วงห่างระหว่างสารตัวอย่างแต่ละจุดห่างกัน 6 mm. จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในสมุนไพรด้วยเครื่อง Densitometer TLC Scanner 3 ภายใตแสงอัลตราไวโอ เลตความยาวคลื่น 254 nm. โดยใช้โปรแกรม winCATS Software ในการวิเคราะห์

2.4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation of Analysis Procedures)

การทดสอบความถูกต้องและแม่นยำของการวิเคราะห์ เป็นวิธีการทดสอบความถูกต้อง การวิเคราะห์ เพื่อเป็นพิสูจน์ให้เห็นว่าวิธีดังกล่าวนี้มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์นั้นๆ ซึ่งวิธีการทดสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ มีดังนี้

1) การศึกษาความจำเพาะ (Specificity) การศึกษาความจำเพาะหมายถึง ความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่จะวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการเท่านั้น โดยสารนั้นจะเป็นเพียงส่วนประกอบส่วนหนึ่งในสารละลายนั้นๆ หรือวิธีการวิเคราะห์ที่สามารถเลือกเฉพาะสารที่ต้องการวัด

2) การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การศึกษาความเป็นเส้นตรง หมายถึง ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ ที่วิเคราะห์แล้วได้ผลของการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงของความเข้มข้นที่กำหนดให้ การวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรงควรวิเคราะห์อย่างน้อยที่สุด 5 ความเข้มข้น ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จะแสดงผลเป็นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient; R)

3) การศึกษาความเที่ยงตรง (Accuracy) การศึกษาความเที่ยงตรง หมายถึง ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่สามารถวัดค่าได้ใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่าการ

วิเคราะห์นั้นมีค่าความถูกต้องสูงสุด ได้แก่ การหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (% Recovery) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานลงในสารตัวอย่าง ทำ 2 ความเข้มข้น

4) การศึกษาความแม่นยำ (Precision) การศึกษาความแม่นยำ หมายถึง ความแม่นยำของการวิเคราะห์ซ้ำๆ กันหลายครั้ง ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการหาการวิเคราะห์ จะแสดงเป็นค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) หรือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

5) การวิเคราะห์ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

5.1) Low Limit of Detection (LOD) หมายถึง การตรวจสอบหาสัญญาณความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้ และอ่านค่าได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ

5.2) Low Limit of Quantitation (LOQ) หมายถึง การตรวจหาสัญญาณความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถหาปริมาณได้ และอ่านค่าได้อย่างถูกต้อง แม่นยำหรือสามารถรายงานผลโดยมีค่า Accuracy และ Precision ที่ยอมรับได้



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) Micropipette (Accumax, India)
- 2) Beaker ขนาด 10, 20, 50, 100, 250, 500 และ 1,000 ml (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 3) Cylinder (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 4) Test tube (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 5) Bottle ขนาด 1,000 ml (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 6) Volumetric flask ขนาด 10, 25, และ 100 ml (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 7) Syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland)
- 8) Stirring rod (Pyrex-Corning International K.K., Japan)
- 9) Filter paper (Whatman, USA)
- 10) Parafilm tape (AYO Technologies Inc., USA)
- 11) Buchner Funnel (GAMMACOCO., Thailand)
- 12) Hot Air Oven (Mettler[®])
- 13) Evaporating Dish (Mit Technology co., LTD, Thailand)
- 14) ขวดขนาดเล็กสำหรับใส่สารตัวอย่าง
- 15) เครื่องชั่งวิเคราะห์ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) Rotary evaporator (Buchi, Switzerland)
- 2) Nano Plus (Micrometric Instrument Co-orperation, USA)
- 3) Sonicator (Sonitron 1000, USA)
- 4) Ultrasonic bath (TTK, China)
- 5) Vortex mixer (Scientific Industries, USA)
- 6) TLC Plate 20x20 cm DC-Fertigfolien ALUGRAM[®] Xtra SIL G/ UV₂₅₄
(MACHEREY-NAGEL, Germany)
- 7) Glass Twin-Trough Chamber (CAMAG, Switzerland)
- 8) Linomat 5 Automatic Sample Spotter (CAMAG, Switzerland)
- 9) Densitometer TLC Scanner 3 with winCATS Software (CAMAG,
Switzerland)

3.1.3 สารเคมีและสมุนไพรที่ใช้ในงานวิจัย

- 1) โกฐเชียง (ร้านขายยาสมุนไพร, กรุงเทพฯ)
- 2) Standard Ferulic Acid (Aldrich, Thailand)
- 3) 95% Ethanol (Merck, Germany)
- 4) Rosemary Oil (บริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ)
- 5) Avocado Oil (บริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ)
- 6) Tween 80 (Sigma-Aldrich, USA)
- 7) Tween 20 (Sigma-Aldrich, USA)
- 8) Span 80 (Sigma-Aldrich, USA)
- 9) HPLC Water (Merck, Germany)
- 10) Distilled water
- 11) Absolute Ethanol (Merck, Germany)
- 12) Methanol (Merck, Germany)
- 13) Formic Acid (Merck, Germany)
- 14) Dichloromethane (Merck, Germany)

3.2 การเตรียมสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง

3.2.1 วิธีการสกัดสารสกัดจากโกฐเชียง

ขั้นตอนการสกัดสารสกัดโกฐเชียง นำโกฐเชียง 0.5 กิโลกรัม มาบดหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพรและหมักด้วยเอทานอล 95% ทิ้งไว้ 7 วัน เขย่าหรือคนทุกวัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากหมักครบ 7 วัน ให้กรองด้วยเครื่องกรองบุชเนอร์ (Buchner) นำสารที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ (Rotary Evaporator) จนได้สารที่มีลักษณะข้นเหนียว เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude Extract) นำสารที่ได้มาใส่ขามระเหย แล้วนำขามระเหยไปตั้งบนอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง สังเกตดูสารจนกว่าจะแห้งสนิทๆ ไม่เหลว ปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ให้สนิทเก็บสารสกัดดังกล่าวไว้ในตู้เย็นเพื่อเตรียมสำหรับการทดลองต่อไป

3.2.2 การเตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน

ขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างสูตรตำรับพื้นฐานจะประกอบไปด้วยสารลดแรงตึงผิว (Tween20, Tween80 และ Span80) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย น้ำมันอโวคาโด (Avocado Oil) และน้ำมันโรสแมรี่ (Rosemary Oil) และน้ำกลั่น ในอัตราส่วนตามเฟสไดอะแกรม โดยจะเตรียมทั้งหมด 36 อัตราส่วน โดยการนำส่วนประกอบทั้งหมด (สารลดแรงตึงผิว น้ำมันหอมระเหย และน้ำกลั่น) มาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) เพื่อดูลักษณะทางกายภาพเบื้องต้น หลังจากนั้นนำมาลดขนาดด้วยเครื่องสั่นความถี่สูง (Ultrasonic) เพื่อลดขนาดให้เล็กลงมากขึ้น จากนั้นทำการแยกประเภทของอิมัลชันที่ได้โดยที่จะสังเกตจากลักษณะทางกายภาพของแต่ละอัตราส่วน แล้วนำมาบันทึกลงในกราฟสามเหลี่ยม (Ternary Phase Diagram) และเลือกอัตราส่วนที่มีลักษณะเป็นนาโนอิมัลชันซึ่งจะมีลักษณะที่โปร่งแสงและไม่แยกชั้น เมื่อตั้งทิ้งไว้สักครู่หนึ่งแล้วให้นำไปวัดขนาดอนุภาค (Particle Size) และค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) ด้วยเครื่องนาโนพลัส (Nano Plus) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งตัวอย่างจะถูกเจือจางด้วย HPLC Water 25 เท่า และนำมาใส่ใน Cuvette เพื่อทำการประมวลผลขนาดอนุภาคและวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ซึ่งค่าของตัวอย่างที่เลือกมีขนาดเล็กที่สุดในเฟสนี้

3.2.3 การเพิ่มสารสกัดโกฐเชียงลงในสูตรตำรับ

หลังจากที่เลือกอัตราส่วนนาโนอิมัลชันที่มีลักษณะเป็นของเหลว โปร่งใส โปร่งแสง และไม่แยกชั้น ได้แล้ว นำอัตราส่วนนั้นมาเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง (1% w/w) ลงไป จากนั้นนำไปลดขนาดด้วยเครื่องสั่นความถี่สูง (Ultrasonic) แล้วจึงนำไปวัดขนาดอนุภาค (Particle size) และวัดความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta potential) ด้วยเครื่องนาโนพลัส (Nano Plus) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งตัวอย่างจะถูกเจือจางด้วย HPLC Water 25 เท่า และจะนำมาใส่ใน Cuvette เพื่อทำการประมวลผลขนาดอนุภาคและวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าอีกครั้ง

3.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเฟอร์ูลิก (Ferulic Acid) ในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)

3.3.1 การเตรียมสถานะโครมาโทกราฟี (Chromatographic Condition)

1) การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ด้วยการผสมตัวทำละลาย ดังต่อไปนี้ (Dichloromethane : Methanol : Formic Acid (96 : 3 : 1) ทำให้มีความอิมัลชันในแท่งก๊าซขณะรูปตัววี (Twin Trough Chamber) โดยการใส่แผ่นกระดาษกรองขนาด 20×20 cm. เปลี่ยนให้วัฏภาคเคลื่อนที่ไหลท่วมแผ่นกระดาษกรอง เป็นเวลา 25 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)

2) การพัฒนาแผ่นทีแอลซี (TLC Plate) โดยการชะล้างแผ่นทีแอลซีเปล่าในภาชนะรูปตัววีที่อิมัลชันด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ของสารละลาย 95% Methanol 50 ml. เปลี่ยนให้สารละลายเคลื่อนที่ถึงขอบบนของแผ่นทีแอลซีที่ระยะทาง 10cm. จากนั้นวางทิ้งไว้จนแห้งหรือเป่าจนแห้งและนำแผ่นทีแอลซีมาเก็บในภาชนะที่แห้งจนกว่าจะใช้งาน

3) การหยด (Spot) สารตัวอย่างลงบนแผ่นทีแอลซี ด้วยเครื่องมือหยดสารอัตโนมัติ (Automatic Sample Spotter) โดยหยดสารตัวอย่างห่างจากขอบล่างของแผ่นทีแอลซี 10 mm. และห่างจากขอบด้านข้าง 15 mm. โดยกำหนดให้แต่ละครั้งของการหยดให้ได้ปริมาตรของสารละลาย 2 μL และให้ช่วงห่างระหว่างสารตัวอย่างของแต่ละจุดห่างกัน 6 mm. จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดเฟอร์ูลิกด้วยเครื่อง Densitometer TLC Scanner 3 ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่น 254 nm. โดยใช้โปรแกรม winCATS Software ในการวิเคราะห์

3.3.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

1) การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

Linearity of Method นำสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก มา Spot บนแผ่นที่แอลซี ด้วยเครื่อง Automatic Sample Spotter ที่ 5 ความเข้มข้น คือ 180, 360, 540, 720, และ 900 ng./Spot จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยวิธีการ HPTLC ใช้วิธีทางสถิติการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากโครมาโตแกรม คำนวณค่า Correlation Coefficient (R-Square) ของความสัมพันธ์ที่ได้ทำการทดลองทั้งหมด โดยค่าที่ R-Square จะต้องอยู่ในช่วง 0.9995-0.9999

2) การศึกษาความแม่นยำ (Injection Precision)

Intraday Precision คือ การทดลองทำซ้ำหลายๆ ครั้งในช่วงเวลาเดียวกัน โดยผู้ทำการทดลองและสภาวะการทดลองรวมทั้งห้องปฏิบัติการเดียวกัน ทำการ Spot สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก จำนวน 1 ความเข้มข้น คือ ที่ความเข้มข้น 540 ng/Spot จำนวน 6 ครั้ง จากนั้น คำนวณค่า %RSD ของ Peak Area ค่าที่ได้นั้นจะต้องไม่เกินร้อยละ 2

Interday Precision คือ การทำการทดลองระหว่างวัน โดยที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดเฟรูลิกในสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 540 ng/Spot เป็นจำนวน 2 วัน แล้วนำมาศึกษาค่าความแปรปรวนของ Slope ที่ได้จากการสมการของ Standard Curve จากนั้น คำนวณค่า %RSD ของ Peak Area ที่ได้ทั้ง 2 วัน ค่า %RSD ที่ได้นั้นต้องไม่เกินร้อยละ 2

3) การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ใช้วิธี Standard Addition ในการหาความถูกต้อง โดยการเติมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นที่ต่างกัน 2 ความเข้มข้น คือ 180, 360 ng/Spot จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น คำนวณหาร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ของแต่ละความเข้มข้น โดยเทียบจากค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานค่าร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ จะอยู่ในช่วง ร้อยละ 95 ถึง 105

3.3.3 การวิเคราะห์ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

Low Limit of Detection (LOD) คือ ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ที่ $S/N = 3:1$

Low Limit of Quantitation (LOQ) คือ ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ที่ $S/N = 10:1$

การเตรียมน้ำ Standard Stock Solution Ferulic acid 2.5 มิลลิกรัม Pipette ปริมาตร 1 มิลลิ ลิตร ลงใน Volumetric Flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Methanol แล้ว Pipette ออกมาในปริมาตร 1 มิลลิตร ใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 50 มิลลิตร อันใหม่ จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้ Dilute Standard Stock Solution Ferulic Acid ทำการ Spot และนำมาวิเคราะห์ผลหาค่า LOD และ LOQ



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลของการเตรียมสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง

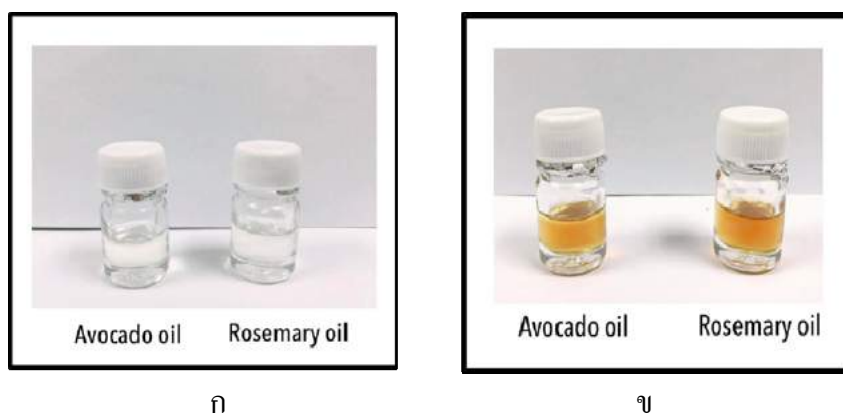
หลังจากที่ได้นำองค์ประกอบของนาโนอิมัลชัน ที่ประกอบไปด้วยสารลดแรงตึงผิว (Tween20, Tween80 และ Span80) ผสมกับน้ำมันหอมระเหย น้ำมันอโวคาโด (Avocado Oil) และ น้ำมันโรสแมรี่ (Rosemary Oil) และน้ำกลั่นในอัตราส่วนตามเฟสไดอะแกรม โดยจะเตรียมทั้งหมด 36 อัตราส่วน และนำไปลดขนาดด้วยเครื่องสั่นความถี่สูง (Ultrasonic) แล้ว ผู้วิจัยได้เลือกอัตราส่วน ที่มีลักษณะทางกายภาพที่เป็นนาโนอิมัลชัน คือ จะมีลักษณะที่โปร่งแสง ไม่แยกชั้น และมีเสถียรภาพทางกายภาพ เมื่อวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่องนาโนพลัส (Nano Plus) พบว่า อัตราส่วนมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงที่เป็นระบบนาโนอิมัลชัน น้อยกว่า 200 นาโนเมตร ซึ่งอัตราส่วนที่เหมาะสม ได้แก่ (Avocado Oil : Tween80: H₂O) ในอัตราส่วน 3 : 5 : 2 และ (Rosemary Oil:Tween80:H₂O) ในอัตราส่วน 2 : 5 : 3 (ดังตารางที่ 4.1) สองอัตราส่วนนี้มีลักษณะทางกายภาพที่โปร่งแสง ไม่แยกชั้น (ดังรูปที่ 4.1) ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้นี้ ผู้วิจัยได้เลือกอัตราส่วนดังกล่าวมาเติมสารสกัดโกฐเชียง (1% w/w) ซึ่งเป็นสารสำคัญลงไป และนำไปวัดขนาดอนุภาค (Particle Size) และความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta potential) ด้วยเครื่องนาโนพลัส (Nano Plus) อีกครั้ง พบว่า ขนาดอนุภาคของอัตราส่วนที่ประกอบด้วย (Avocado Oil:Tween80:H₂O) ในอัตราส่วน 3 : 5 : 2 มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 161.1 ± 9.89 นาโนเมตร และ ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาเท่ากับ -3.18 ± 1.46 มิลลิโวลต์ และ อัตราส่วนที่ประกอบด้วย(Rosemary Oil: Tween80: H₂O) ในอัตราส่วน 2 : 5 : 3 มีขนาดอนุภาค (Particle Size) เท่ากับ 125.2 ± 0.98 นาโนเมตร และ มีค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา (Zeta Potential) เท่ากับ -2.60 ± 1.30 มิลลิโวลต์ (ดังตารางที่ 4.2 รูปที่ 4.2 และรูปที่ 4.3) และสองอัตราส่วนนี้ยังมีลักษณะทางกายภาพที่โปร่งแสง ไม่แยกชั้น ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวมีขนาดอนุภาคที่อยู่ในช่วงของระบบนาโนอิมัลชันและนอกจากนี้ผู้วิจัยได้จุด (Plot) ลงบนกราฟสามเหลี่ยม (Ternary Phase Diagram) (ดังรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5) และจะเห็นได้ว่านาโนอิมัลชันที่มีอัตราส่วน 2 : 5 : 3 ให้ขนาดอนุภาคที่เล็กกว่าอัตราส่วน 3 : 5 : 2

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพและขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันในแต่ละอัตราส่วน

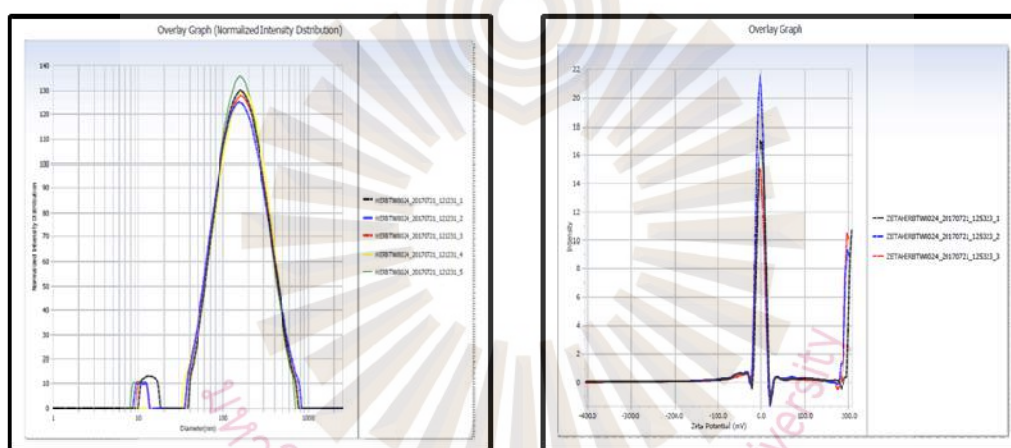
	สูตรตำรับอิมัลชัน/อัตราส่วน	ลักษณะทางกายภาพ	ขนาดอนุภาคระดับนาโน (นาโนเมตร)
	Avocado Oil: Tween80 : H ₂ O		
1.	3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	180.0 ± 8.79
	Rosemary Oil: Tween80 : H ₂ O		
2.	2 : 5 : 3	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	135.5 ± 1.12

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพขนาดอนุภาคของนาโนอิมัลชันและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาเมื่อ
เพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w

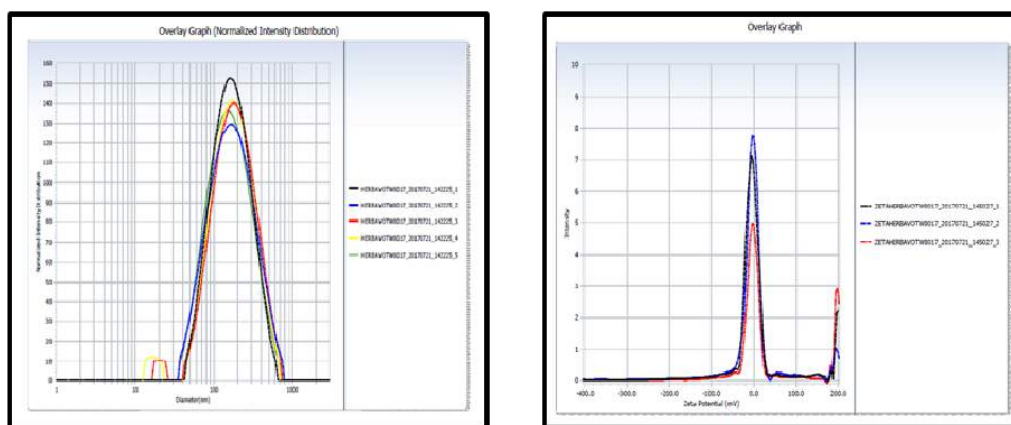
	สูตรตำรับอิมัลชัน/ อัตราส่วน	ลักษณะทางกายภาพ	ขนาดอนุภาค ระดับนาโน (นาโนเมตร)	ความต่าง ศักย์ไฟฟ้าซีตา (มิลลิโวลต์)
	Avocado Oil: Tween80 : H ₂ O			
1.	3 : 5 : 2	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	161.1 ± 9.86	-3.18 ± 1.46
	Rosemary Oil: Tween80 : H ₂ O			
2.	2 : 5 : 3	โปร่งแสง ไม่แยกชั้น	125.2 ± 0.98	-2.60 ± 1.30



รูปที่ 4.1 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชัน (ก.) และ แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของอัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชันเมื่อเพิ่มสารสีกัด โกลูเซียง 1% w/w (ข.)

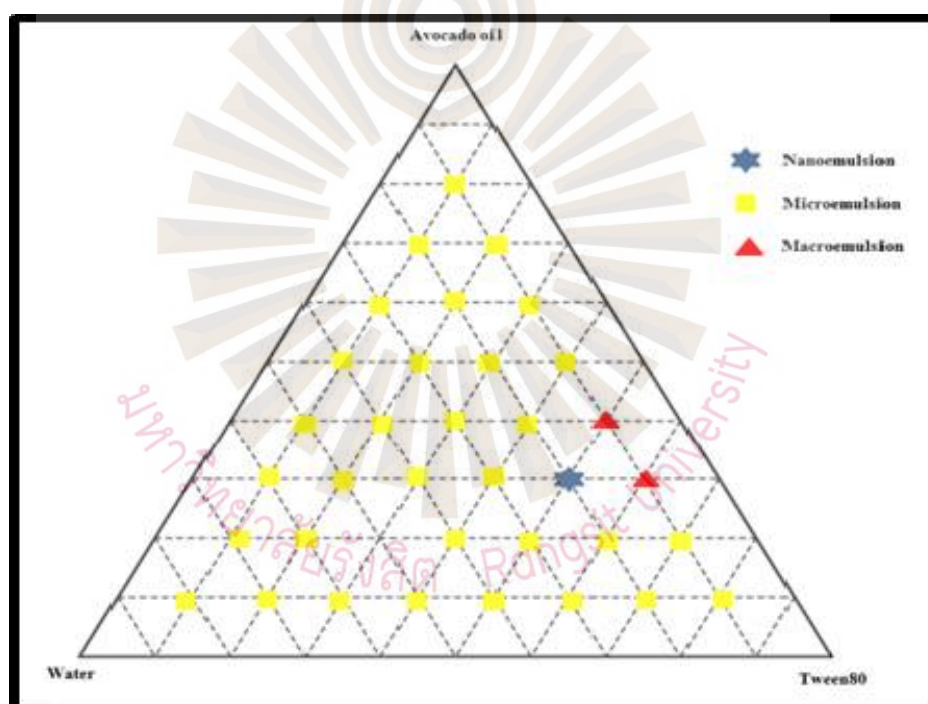


รูปที่ 4.2 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซิตาของนาโนอิมัลชัน Avocado Oil : Tween80 : H₂O อัตราส่วน 3 : 5 : 2 เมื่อเพิ่มสารสีกัด โกลูเซียง 1% w/w



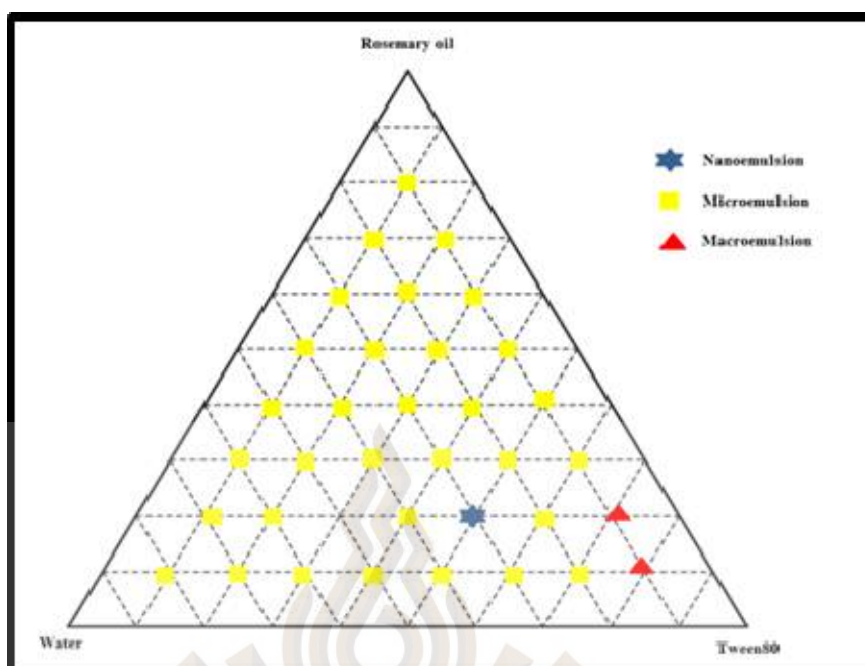
รูปที่ 4.3 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาของนาโนอิมัลชันRosemary Oil:

Tween80 : H₂O อัตราส่วน 2 : 5 : 3 เมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w



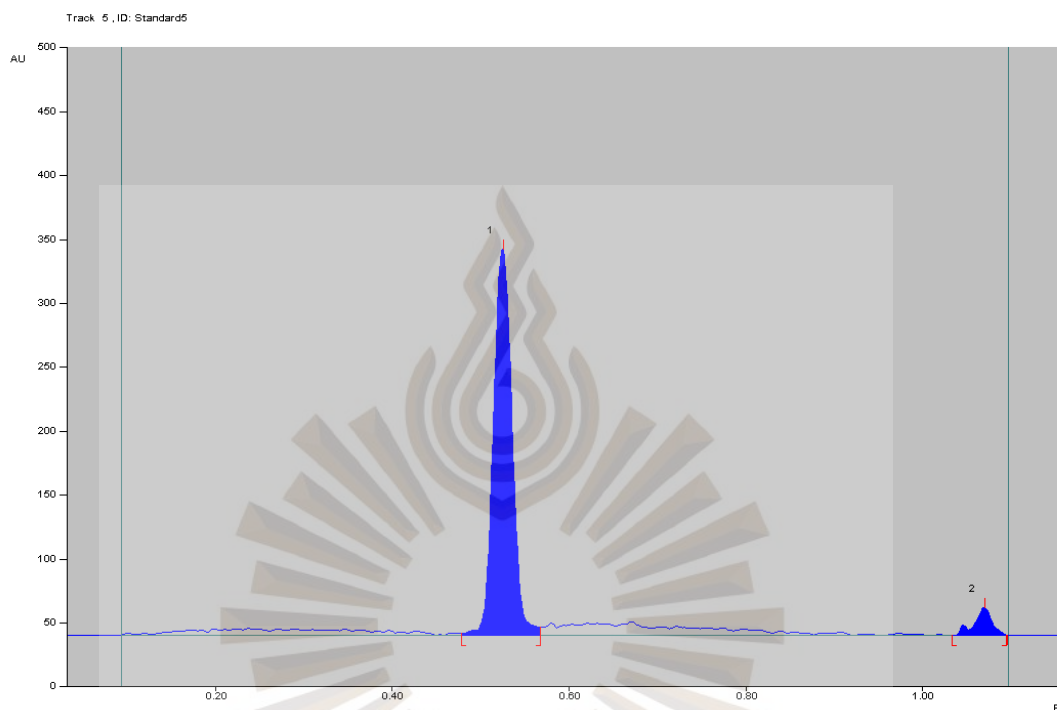
รูปที่ 4.4 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Avocado Oil : Tween80 : H₂O

อัตราส่วน 3 : 5 : 2



รูปที่ 4.5 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Rosemary Oil : Tween80 : H₂O
อัตราส่วน 2 : 5 : 3

4.2 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเฟรูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะ HPTLC Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Ferulic acid

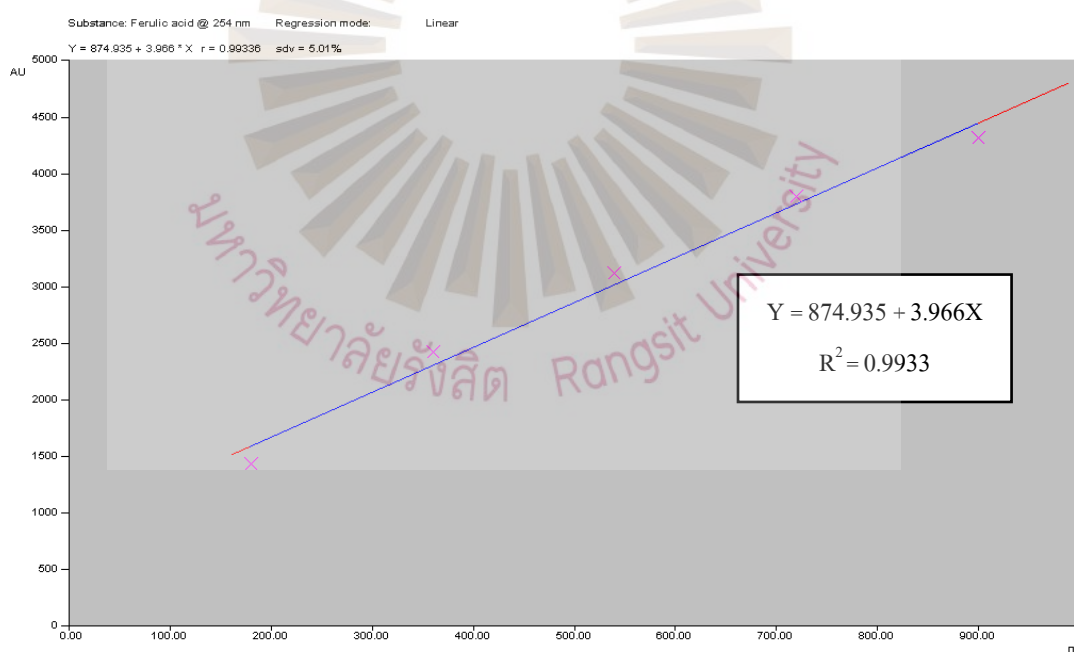
4.2.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

Linearity of Method นำสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก มา Spot บนแผ่นที่แอลซี ด้วยเครื่อง Automatic Sample Spotter ที่ 5 ความเข้มข้น คือ 180, 360, 540, 720, และ 900 ng./mL จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยวิธีการ HPTLC ใช้วิธีทางสถิติการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากโครมาโตแกรม โดยใช้ผู้วิเคราะห์คนเดียวพร้อมทั้งสภาพแวดล้อมและอุปกรณ์เครื่องมือเดียวกันวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน จากนั้นจะทำการ plot กราฟระหว่างความเข้มข้นกับ Peak Area ที่ได้ แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ Correlation Coefficient (R-Square)

ตารางที่ 4.3 ผลค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรและ peak area

ความเข้มข้นของกรดเฟรูลิก	Peak area
นาโนกรัม/ไมโครลิตร	Injection 1
180	1458.71
360	2521.08
540	3358.38
720	3810.67
900	4380.84
Average	3105.93
SD	1144.68

*Average = ค่าเฉลี่ย, SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.7 แสดงถึงลักษณะ Standard Curveของสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

จากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.7 จะเห็นว่า Peak Area ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 3105.93 – 1144.68 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ($n=1$) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์แล้วได้เป็นสมการเส้นตรงคือ $y = 874.935 + 3.966x$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) คือ 0.9933

4.2.2 ผลการศึกษาความแม่นยำ (Injection Precision)

Precision คือความแม่นยำของการวิเคราะห์ซ้ำๆ กันหลายๆ ครั้งซึ่งวิธีการวิเคราะห์มี 2 ลักษณะ คือ Intraday Precision และ Precision

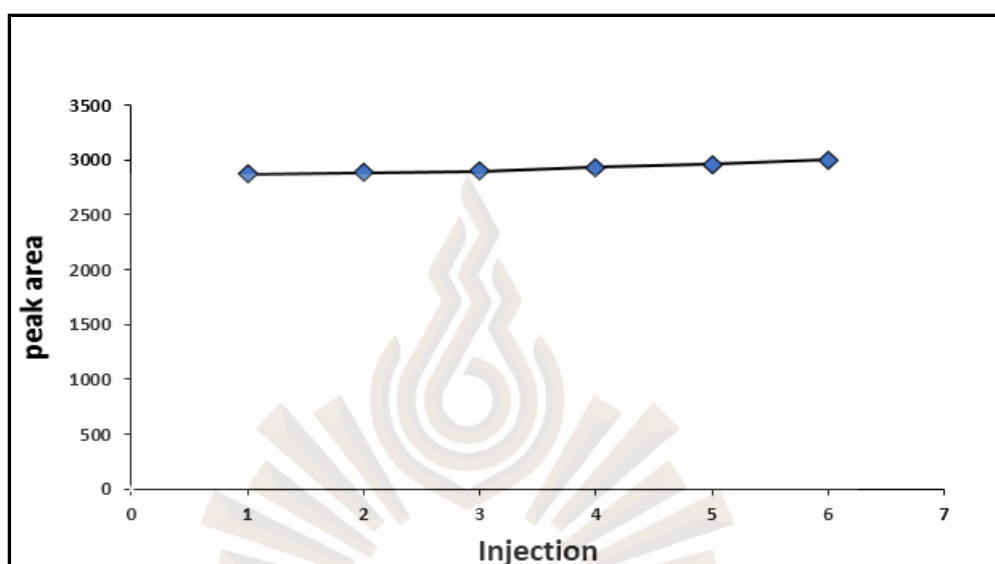
1) Intraday Precision คือ การวิเคราะห์ซ้ำๆ ในวันเดียวกันผู้ที่ทำการวิเคราะห์คนเดียวกัน และสภาวะห้องปฏิบัติการเดียวกัน โดยในการวิจัยนี้จะวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้น 540 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร จำนวน 6 ครั้ง

ตารางที่ 4.4 ผลของการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายกรดเฟรูลิก แบบ Intraday Precision

Injection	Peak area
1	2859.05
2	2869.72
3	2881.65
4	2928.35
5	2957.92
6	2999.25
Average	2915.99
SD	55.50
% RSD	1.90

% RSD = Relative Standard Deviation (ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์)

จากตารางที่ 4.4 จะเห็นว่า การวิเคราะห์ความแม่นยำของสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่เข้มข้น 540 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร แบบ Intraday Precision พบว่าได้ร้อยละของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.90



รูปที่ 4.8 แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก แบบ Intraday Precision (Spot ซ้ำ 6 ครั้ง) เมื่อ plot ความสัมพันธ์ระหว่าง Peak Area และ จำนวนครั้งการ Spot

2) Interday Precision คือ การวิเคราะห์ซ้ำๆ แต่ต่างกัน 2 วันและมีการเตรียมอุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์ใหม่ โดยในงานวิจัยนี้จะวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้น 540 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ทำซ้ำวันละ 6 ครั้ง)

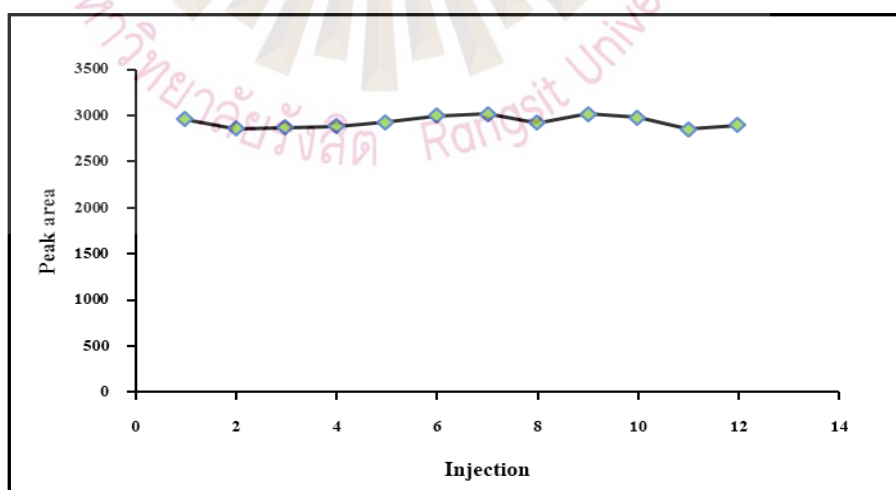
ตารางที่ 4.5 ผลของการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก แบบ Interday Precision

Injection	Peak area
1	2957.92
2	2859.05
3	2869.72
4	2881.65
5	2928.35

ตารางที่ 4.5 ผลของการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก แบบ Interday Precision (ต่อ)

Injection	Peak area
6	2999.25
7	3014.53
8	2917.83
9	3016.18
10	2976.81
11	2848.00
12	2892.44
Average	2930.14
SD	61.51
% RSD	2.09

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นว่า การวิเคราะห์ความแม่นยำของสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้น 540 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร แบบ Interday Precision พบว่า ได้ร้อยละของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 2.09



รูปที่ 4.9 แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก แบบ Interday Precision (ทำซ้ำวันละ 6 ครั้ง) เมื่อ plot กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Peak Area และจำนวนครั้งของการ Spot

4.2.3 ผลการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy)

Accuracy เป็นการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ ถ้าค่าที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องสูง (High Accuracy) แต่ถ้าค่าที่วิเคราะห์ได้นั้นห่างไกลจากค่าจริง แสดงว่าการทดสอบนั้นมีความถูกต้องต่ำ (Low Accuracy)

1) การหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%Recovery)

โดยใช้ตัวอย่างที่เดิมสารมาตรฐาน การวิเคราะห์ Recovery จะวิเคราะห์ 2 ระดับความเข้มข้น ซึ่งการหาเปอร์เซ็นต์ของการคืนกลับ ในงานวิจัยนี้คือการตรวจวัดปริมาณกรดฟูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันในสารสกัดโกฐเชียงหลังจากเติมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 180, 360 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และทำการ Spot ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาค่า %Recovery

ตารางที่ 4.6 ผลของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของการคืนกลับ (%Recovery) ที่ได้จากการตรวจวัดปริมาณกรดฟูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันในสารสกัดโกฐเชียง

ระดับความเข้มข้น	ความเข้มข้นที่เดิม (นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	%Recovery
1	40	42.23	105.57
2	60	57.87	96.45
	Average $\pm$ SD		101.01 $\pm$ 6.44

จากตารางที่ 4.6 จะเห็นว่าค่าเปอร์เซ็นต์ของการคืนกลับ (%Recovery) ที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 105.57 ถึง 96.45 (เป็นเกณฑ์ที่ยอมรับได้คืออยู่ในช่วงร้อยละ 95 ถึง 105) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 101.01 $\pm$ 6.44

4.2.4 ผลการวิเคราะห์ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

LOD เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ที่ S/N = 3:1 และ LOQ เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ที่ S/N = 10:1

ตารางที่ 4.7 ผลของการศึกษา LOD และ LOQ

การวิเคราะห์	ผลการทดลอง (นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)
LOD	90
LOQ	30



บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 วิจัยและสรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาสารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบของนาโนอิมัลชัน โดยการกำหนดอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิว น้ำมันหอมระเหย และน้ำกลั่น ด้วยวิธี Ternary Phase Diagram และเตรียมได้แรงเนียนกลโดยใช้เครื่องโซนิคเคท (Sonicate) แล้วจึงนำไปวัดขนาดด้วยเครื่อง Nano Plus พบว่าอัตราส่วน Avocado Oil: Tween80 : H₂O (3 : 5 : 2) และ Rosemary Oil: Tween80: H₂O (2 : 5 : 3) มีขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุดเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ โดยมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 161.1 ± 9.86 และ 125.2 ± 0.98 นาโนเมตร ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา เท่ากับ -3.18 ± 1.46 และ -2.60 ± 1.30 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือนที่อุณหภูมิห้อง ตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียงมีความคงตัวที่ดี ลักษณะภายนอกที่มองเห็นก็ยังคงเป็นลักษณะที่โปร่งแสงและไม่แยกชั้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ เป็นลักษณะของนาโนอิมัลชันที่ดี น่าใช้ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลากหลายวัตถุประสงค์ อีกทั้งในการศึกษา Ternary Phase Diagram ของทุกระบบทำให้พบว่า Tween80 เหมาะกับน้ำมันหอมระเหยโวกาโดและน้ำมันหอมระเหยโรสแมรี่ ในการเกิดเป็นนาโนอิมัลชัน อีกทั้งยังสามารถลดแรงตึงผิวที่อยู่ระหว่างสองส่วนของของเหลวได้เป็นอย่างดี เป็นตัวเชื่อมกับโมเลกุลของน้ำมันและเป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดนาโนอิมัลชัน

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดฟรุคติก ด้วยวิธี HPTLC ในงานวิจัยนี้ผู้ทำการวิจัยได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการศึกษาเชิงเส้น, การศึกษาความแม่นยำ ได้แก่ Intraday Precision และแบบ Interday Precision, การศึกษาความถูกต้อง และการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ (LOQ) โดยผลการทดลองจากการศึกษา Linearity พบว่าค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า Peak Area กับความเข้มข้นของกรดฟรุคติก มีความสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้นที่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9933 และสมการที่ได้คือ $y = 874.935 + 3.966x$ ซึ่งผลการทดลองจะเห็นว่าค่า r^2 อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้และมีระดับความสัมพันธ์กันสูง นอกจากนี้ในส่วน

ของการศึกษาความแม่นยำ จากผลการทดลอง Intraday Precision พบว่า วิธีการศึกษานี้มีความแม่นยำ ซึ่งคำนวณจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ค่าที่ได้ เท่ากับ 1.90 และจากผลการทดลอง Interday Precision พบว่า วิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ ซึ่งคำนวณจากค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ค่าที่ได้เท่ากับ 2.09 จะเห็นได้ว่าการร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ที่ได้จากการทดลองทั้งสองแบบ Intraday Precision และแบบ Interday Precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกินร้อยละ 2 และในส่วนของการวิเคราะห์ความถูกต้อง จากผลการทดลองพบว่า วิธีการศึกษานี้มีความถูกต้อง ซึ่งคำนวณจากค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%Recovery) ค่าที่ได้เท่ากับ 101.01 ± 6.44 จะเห็นได้ว่า %Recovery ที่คำนวณได้นี้ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คืออยู่ในช่วงร้อยละ 95-105 แสดงว่าการวิเคราะห์ที่ได้นี้มีความถูกต้อง และผลจากการวิเคราะห์ค่า LOD มีค่าเท่ากับ 90 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรรวมทั้งผลจากการวิเคราะห์ค่า LOQ มีค่าเท่ากับ 30 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

จากการวิจัยในครั้งนี้ทำให้ได้สารสกัดโกฐเชียงในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่ดีทั้งลักษณะทางกายภาพที่น่าใช้ มีความคงตัวที่ดี และมีขนาดอนุภาคที่เล็กในระดับนาโน สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรมและด้านเวชสำอางได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้นในด้านการประยุกต์ใช้ในการศึกษาสารสำคัญ หรือน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ได้ รวมทั้งสามารถนำวิธีการวิจัยนี้ไปปรับใช้ในการควบคุมคุณภาพของตำรับยาหรือศึกษาสารสำคัญชนิดอื่นๆ เพื่อที่จะได้พัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันให้มีความหลากหลายและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น สามารถนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมขั้นสูงต่อไปได้

บรรณานุกรม

- กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก สำนักคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย และสมุนไพร.(2547). *ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง บัญชียาจากสมุนไพรชาติ (ประกาศปี 2547)*.สืบค้น 27 มีนาคม, 2560, จาก <http://ptmk.dtam.moph.go.th/knowledge/>.
- จิราภรณ์ สิริสัมพันธ์, สิทธิพร ชมพุดรัตน์, วราภา มหากาญจนกุลและสุวรรณ กัดพันธ์. (2549). *การลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง* สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://rdi.ku.ac.th/kufair50/technology/40-tech.html>.
- ชุติมา ลิ้มมัทวาทิธี, สันทยา ลิ้มมัทวาทิธี และ ศิริกาญจน์ เฟื่องอัน. (2558). *การพัฒนานาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพสำหรับในช่องปาก* (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยศิลปากร : ม.ป.ท.
- ณัฐจิรา ศิลาลาย และ ชัชวาล โชติมากร. (2549). การใช้ Thin Layer Chromatography ในการวิเคราะห์ทางด้านอาหารและการเกษตร. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*. 1(1)(มิถุนายน2547-พฤษภาคม 2548), 7-10.
- ทวีสิน ต้นประยูร, สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ และ พัฒน์พงศ์ นาวิเจริญ. (2550). *ตำราสัตวศาสตร์* (พิมพ์ครั้งที่ 10 (ฉบับเรียบเรียงใหม่)). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. *เทคนิคการแยก Separation Techniques CM 334 บทที่ 4 : ลิควิดโครมาโตกราฟี*. สืบค้น 3 เมษายน ,2560, จาก <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM334/CM334-4.pdf>.
- ธิดยาภรณ์ อุดมศิลป์,พรณิศา อัดตนนท์, ภักวรินทร์ สานติธีโรจน์, ณัฐพร นันทศักดิ์, ปิยวดี พิศารัตน์คุณและเสาวภาคย์ สุขประเสริฐ.(2558). ศึกษาวิธีการตรวจวิเคราะห์และหาปริมาณสารสำคัญซาโปนินในกากชาที่ได้จากโรงงานผลิตชาสมุนไพร. *ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2558* (2), 214-221.
- ธิดา สุขธรรม.(2557). การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยด้วย chromatographic fingerprints. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ*, 62(194), 10-12.
- ธีรวัฒน์ สุวรรณ. (2016). *กลไกการทำงานของผิวหนัง*. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://www.idoctorhouse.com/library/physiology-skin/>.
- นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธุ์, และ ประไพ วงศ์สินมั่งคอง. ทีแอลซี : วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย (พิมพ์ครั้งที่ 1) .ม.ป.ท., 2551

บรรณานุกรม (ต่อ)

- นิรันดร์ แยมไฝ. (2557). การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟรุคติกด้วยเครื่องเคซิโมมิเตอร์และผลกระทบของอุณหภูมิ เวลา และสารลดแรงตึงผิวต่อความคงตัวของกรดฟรุคติกจากสารสกัดโกฐเชียงในตำรับไมโครอิมัลชัน (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.
- บ้านสมุนไพรอโสด. (2560). โกศเชียง. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://www.bansamunpaiosot.com/product/12/> โกฐเชียง.
- ปิยนุช สนิ. (2558). การศึกษาประสิทธิภาพการลดริ้วรอยของ TISTR-GSE จากเมล็ดองุ่นพันธุ์ปอกดา *VITIS VINIFERA CV. RIBIER* ในรูปแบบนาโนอิมัลชันและรูปแบบเจลในอาสาสมัคร (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.
- พงษ์ศักดิ์ อวัยวานนท์. (2557). การพัฒนาพิกัดจุพลาธิกะในรูปยาเม็ดฟองฟู (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.
- พลนิต สารมาศ นราภรณ์จันทร์บุตร และอุบลวรรณ อยู่สุข. (2551). ศึกษาหมอนวดแบบไทย: ผู้ให้บริการส่งเสริมสุขภาพในจังหวัดเชียงใหม่ (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยแม่โจ้ : เชียงใหม่.
- พอลา ชัยกิจ. (2559). การทดสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมี การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของชุมเห็ดเทศ (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.
- พูนทรัพย์ วิชัยพงษ์. (2550). ข้าวโพดต้มสุกต้านมะเร็ง. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://www.marengok.com/2011/04/ข้าวโพดสุกต้านมะเร็ง>.
- ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่ง ตอนที่ 3. สืบค้น 28 มีนาคม, 2560, จาก <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/Knowledge/article/157/>.
- รัชนิ์ ดันทะพานิชกุล. ปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ 3. สืบค้น 3 เมษายน, 2560, จาก : <http://e-book.ramedu/e-book/c/CM328/CM328-4.pdf>.
- วรนนท์ รังสิมาวงศ์ และ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์. (2557). นาโนอิมัลชันในระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง. วารสารไทยเภสัชนิพนธ์, 9(2), 46-61.
- วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. (2552). นาโนเทคโนโลยี: การนำส่งยาและเครื่องสำอางทางผิวหนัง (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชนจำกัด.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. (2555). นาโนเทคโนโลยีในการนำส่งทางผิวหนัง *Nanotechnology in skin delivery*. กรุงเทพฯ : ประชาชน.
- วิภาภรณ์ ณ ถลาง. (2558). กรดเพอริก : สารธรรมชาติมากคุณค่าปลอดภัยสูง. *วิชาการโภชนาการและสุขภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.1*(มกราคม-มีนาคม 2558), 30-34.
- วีระวรรณ เรืองยุทธการณ. (2558). การตรวจวิเคราะห์สารพิษโดยวิธีโครมาโตกราฟี. *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่.28* (พฤษภาคม 2538), 22-33.
- สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. (2557). *INNOVATION TREND : ตลาดความต้องการสมุนไพร*. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://www.nia.or.th/innolinks/page.php?issue=201403§ion=6>.
- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2547). *นาโนเทคโนโลยี*. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://facstaff.swu.ac.th/huan/%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B9%82%E0%B8%99%E0%B9%80%E0%B8%97%E0%B8%84%E0%B9%82%E0%B8%99%E0%B9%82%E0%B8%A5%E0%B8%A2%E0%B8%B5.doc>.
- อรัญญา มโนสร้อยและจิระเดช มโนสร้อย. (2550). *ไลโปโซม สำหรับยาผ่านทางผิวหนังและเครื่องสำอาง* (พิมพ์ครั้งที่ 1) . กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- อัญญา แสงรุ่งเมือง. (2555). *การวิเคราะห์สาร furulic acid ในพิกัดโคธูบางชนิดโดยวิธี HPLC* (Unpublished Senior Project). มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.
- อำพล ไมตรีเวช, ณรงค์ สาริสุต,ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี, วสุ วิฑูรย์ศฤงฆ์ศิลป์ และ โกศล แซ่ตั้ง, *บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน : การพัฒนานุภาคนาโนและระบบนำส่ง ตอนที่ 3*. สืบค้น 1 พฤษภาคม, 2561, จาก <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/157>.
- Alam, M. T., Karim, M. M., & Khan, N. (2009). Antibacterial activity of different organic Extractof *Achyranthesaspera* and *Cassia alata*. *Journal of scientific research*, 1(2), 393-398.
- Allen et al. (2011). Reflections on developments in health promotion in the past quarter century from founding members of the American. *journal of health promotion editorial board*, 25(4), ei-eviii.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Anselmi, A., Abbate, A., Girola, F., Nasso, G., Biondi-Zoccai, GG., Possati, G. & Gaudino, M. (2004). Myocardial ischemia, stunning, inflammation, and apoptosis during cardiac surgery: a review of evidence. *Eur J Cardiothorac Surg.* 25(3), 304-11. DOI:10.1016/j.ejcts.2003.12.003.
- Anselmi, Cecilia., Centini, M., Granata, P. & Facino, R. M. (2004). Antioxidant Activity of Ferulic Acid Alkyl Esters in a Heterophasic System: A Mechanistic Insight. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6425-32. DOI: 10.1021/jf049671x.
- Arvizo, R., Bhattacharya, R., & Mukherjee, P. (2010). Gold nanoparticles: Opportunities and Challenges in Nanomedicine. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(6), 753–763. <http://doi.org/10.1517/17425241003777010>
- Aulton, M.E. (2007) . Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines. Churchill Livingstone, Amsterdam, Netherlands
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya1, K., Ezennial, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024.
- Azeem, A., Rizwan, M., Farhan, J., Zeenat, A., Khan, I., Roop, K., Mohammed Aqil, K. and Talegaonkar, S. (2008). Emerging Role of Microemulsion in Cosmetics. *Recent Patents on drug & Formulation*. 2, 275-289.
- Balasubashini, MS., Rukkumani, R., Viswanathan, P. & Menon, VP. (2004). Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytother Res.* 18(4), 310-4. DOI: 10.1002/ptr.1440
- Barone, E., Calabrese, V. & Mancuso, C. (2009). Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology*. 10(2), 97-108. doi: 10.1007/s10522-008-9160-8.
- Barone, E., Calabrese, V. and Mancuso, C. (2009) Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology*, 10(2), 97-108.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Bhatt, P. & Madhav, S. (2011). A detailed review on nanoemulsion drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(10), 2482–2489. DOI: <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232>.
- Bidyut, K.P. and Satya, P. M. (2001). Uses and Application of Microemulsion. *Current Science*, 80(8), 990-1001.
- Borman SA. (1982). HTPLC :Taking off. *Anal Chem*, 54(7), 790A-4A.
- Butkhup, L., Samappito, W. & Samappito, S.. (2013). Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Science and Technology* 48, 934–940.
- CAMAG (2018) *what is tlc/hptlc*. Retrieved May 1, 2018 from https://www.camag.com/en/tlc_hptlc/what_is_tlc_hptlc.cfm.
- Ding, H., Peng, R. & Yu, J. (2001). Modulation of *Angelica sinensis* polysaccharides on the expression of nitric oxide synthase and Bax, Bcl-2 in liver of immunological liver-injured mice. *Zhong-hua Gan Zang Bing Za Zhi*. 9, 50-2.
- Engel R. (2015). *Medical Preparedness – Burn Treatment*. Retrieved May 1, 2018, from <https://sotmp.wordpress.com/2015/06/03/medical-preparedness-burn-treatment/>.
- Engel, A., Cisternas N., Carolina, W., Mascha, E., Sonja, T., Tiantian, S., Markus, L. C. (2015). No detectable effect of CO₂ on elemental stoichiometry of *Emiliana huxleyi* in nutrient-limited, acclimated continuous cultures. *Marine Ecology Progress Series*, 507, 15-30, <https://doi.org/10.3354/meps10824>
- Fernandez, P., Andre, V., Rieger, L. and Kuhnle, A. (2004). Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 251, 53-8.
- Hemlata, A. & Kalidhar, S. (1994). Alarone, an anthrone from *Cassia alata*. *The Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section A*, 60(6), 765-768.
- Hertog, M.G., et al. (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoid and their determinant in adult in the Netherlands. *Nutr Cancer*, 20, 21-29.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Hirabayashi, T., Ochiai, H., Sakai, S., Nakajima, K. & Terasawa, K. (1995). Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on murine interleukin8 production in response to influenzaviruinfection in-vitro and in-vivo. *Plan Med.* 61, 221-226.
- Juan, J., YingJie, G. & AiJun, N. (2009). Extraction, characterization of *Angelica sinensis* polysaccharides and modulatory effect of the polysaccharides and Tai Chi exercise on oxidative injury in middle-aged women subjects. *Carbohydrate polymers.* 77, 384-388.
- Jung, C.H., et al. (2007). Anti-asthmatic action of quercetin and rutin in conscious guinea-pig challenged with aerosolized ovalbumin. *Archives of Pharmacal Research*, 30(12), 1599-1607.
- Kayahara, H., Miao, Z. & Fujiwara, G. (1999). Synthesis and biological activities of ferulic acid derivative. *Anticancer Re* 19, 3763-3768.
- Khandavilli, S., Homer, K. A., Yuste, J., Basavanna, S., Mitchell, T., & Brown, J. S. (2008). Maturation of *Streptococcus pneumoniae* lipoproteins by a type II signal peptidase is required for ABC transporter function and full virulence. *Molecular Microbiology*, 67(3), 541-557.
- Klang, V. and Valenta, C. (2011). Lecithin-based nanoemulsions. *J Drug Del Sci Tech.* 2(10), 55-76.
- Lawrence. (1993). อุตสาหกรรมพืชเครื่องเทศและพืชน้ำมันหอมระเหย *Industry of Spices and Essential Oil*. Retrieved May 1, 2018, from http://mis.agri.cmu.ac.th/download/course/lec_359460_%BA%B7%B7%D5%E8%201.doc
- Lim, D.W. & Kim, Y.T. (2014). Anti-osteoporotic effects of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels extract on ovariectomized rats and its oral toxicity in rats. *Nutrients.* 6, 4362-4372.
- Liu, Z., Li, X., Han, B., Xu, M., Han, L., Zhao, Y., Dong, H and Zhang, C. (2014). Plant growth enhancement and associated physiological responses are coregulated by ethylene and gibberellin in response to harpin protein Hpa1. *Planta*, 239(4), 831-846. <http://doi.org/10.1007/s00425-013-2013-y>

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Lu, G.H., Chan, K., Leung, K., Chan, C.L., Zhao, Z.Z. & Jiang, Z.H. (2005). Assay of ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis*. *J Chromatogr A*. 1068, 19.
- Mathur et al. (2010). A transient niche regulates the specification of Drosophila intestinal stem cells. *Science* 327(5962), 210-213.
- Metodiewa, Kochman and Karolczak. (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N,N-diethylaminoethyl ethers of flavanone oxime: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 41(5), 1067-75.
- Michael E. Aulton. (2007). *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines* 3. Churchill Livingstone.
- Moffat AC, Jackson JV, Moss MS, and Widdop B. (1986). *Clarke's isolation and identification of drugs* (2nd edition). The Pharmaceutical Press London.
- Mori, H., Kawabata, K., Yoshimi, N., Tanaka, T., Murakami, T., Okada, T. and Murai, H. (1999). Chemo- preventive effects of ferulic acid on oral and rice germ on large bowel carcinogens. *Anticancer Res.*, 19, 3775-3778.
- Ou, S. and Kwok, K. (2004). Review Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *J Sci Food Agric.*, 84, 1261-1269.
- Priyabrata, D. & McNulty, J. (2010). Dichotomous Reactivity in the Reaction of Triethyl- and Triphenylphosphane HBr Salts with Dimethyl Acetals: A Novel Entry to α -Alkoxy-Functionalized Ylides and General Synthesis of Vinyl Ethers and Alkoxy Dienes. *European Journal of Organic Chemistry*, 3587-3591.
- Pythagoras & That. (2014). *Emulsions*. Retrieved May 1, 2018, from <http://www.pythagorasandthat.co.uk/emulsions>.
- Rashmi, R., Elangeswari, A., Varalakshmi, M. & Poorni, R. (2014). Facial and Voice Recognition Using Smart Phone. *International Journal of Applications of Fuzzy Sets and Artificial Intelligence*, 4(2241-1240), 239-251

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Rondini, L., Peyrat-Maillard, M. N., Marsset-Baglieri, A., & Berset, C. (2002). Sulfated ferulic acid is the main in vivo metabolite found after short-term ingestion of free ferulic acid in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3037–3041.
- Rukkumani R1, Aruna K, Varma PS, Rajasekaran KN, Menon VP. (2004) . Comparative effects of curcumin and an analog of curcumin on alcohol and PUFA induced oxidative stress. *J Pharm Pharm Sci*, 7(2), 274-83.
- Shah, P., Bhalodia, D. and Shelat, P. (2010). Nanoemulsion: A Pharmaceutical Review. *Sys Rev-pharm. 1* (1), 24-32.
- Walters, W. (2002) Mapping Schengenland: Denaturalizing the Border. *Environment & Planning D: Society & Space*, 20(5), 561-80.
- Wilasrusmee, C., Kittur, S., Shah, G., Siddiqui, J., Bruch, D., Wilasrusmee, S. & Kittur, D.S. (2002). Immunostimulatory effect of *Silybum Marianum* (milk thistle) extract. *Med Sci Monit*. 8(11)(Nov), BR439-43.
- Yamuna, M. & Karthika, K. (2014). A Note on Domatic Subdivision Stable Graphs. *Universal Journal of Applied Mathematics*, 2, 170 - 175. doi: 10.13189/ujam.2014.020402.
- Ye, Y., et al. (2003) Function of the p97-Ufd1-Npl4 complex in retrotranslocation from the ER to the cytosol: dual recognition of nonubiquitinated polypeptide segments and polyubiquitin chains. *J Cell Biol* 11, 62(1), 71-84.
- Zeeshan A.S., Sadia S., Somia G., Aqib Z. & Salaha S. (2015). A novel HPTLC method for quantitative estimation of biomarkers in polyherbal formulation. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(11), 955-959.
- Zhao, Z., & Moghadasian, M.H. (2008). Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*, 109(4), 691-702. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.039.
- Zhou, H., et al. (2010). Preparation and characterization of a lecithin nanoemulsion as a topical delivery in system. *Nanoscale Res Lett*, 5(1), 224–30.

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก.

รูปขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดโกฐเชียง



รูปที่ 1 แสดงถึงขั้นตอนการนำสมุนไพร โกฐเชียงมาบดหยาบ ด้วยเครื่องบดสมุนไพร



รูปที่ 2 แสดงถึงขั้นตอนการนำสมุนไพร โกฐเชียงมาหมักด้วย EtOH 95% หมักเป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการนำสารสกัดโกฐเชียงที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรอง Burner
โดยผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการนำสารสกัดโกฐเชียงมาทำ Evaporator



รูปที่ 5 แสดงขั้นตอนการนำสารสกัดโกฐเชียงที่ได้ไประเหยบน Water bath



รูปที่ 6 แสดงถึงสารสกัดโกฐเชียงที่มีลักษณะข้นเหนียว เรียกว่า สารสกัดหยาบ (crude extract) นำมาปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ให้สนิทเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อเตรียมสำหรับการทดลองต่อไป



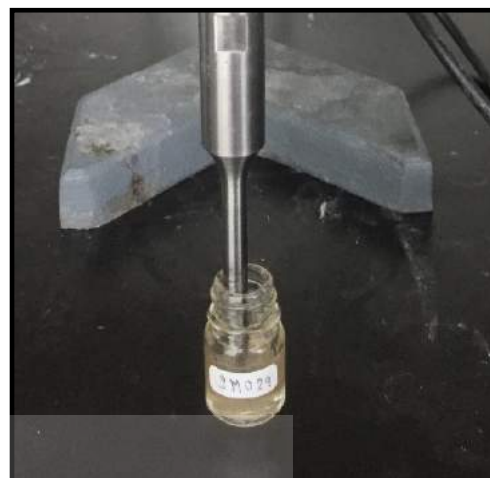
ขั้นตอนการเตรียมสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง
การเตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน



รูปที่ 7 แสดงถึงขั้นตอนการเตรียมสูตรตำรับพื้นฐาน ประกอบด้วย สารลดแรงตึงผิว (Tween20, Tween80, Span80) น้ำมันหอมระเหย (น้ำมันอโวคาโดและน้ำมันโรสแมรี่) และน้ำ



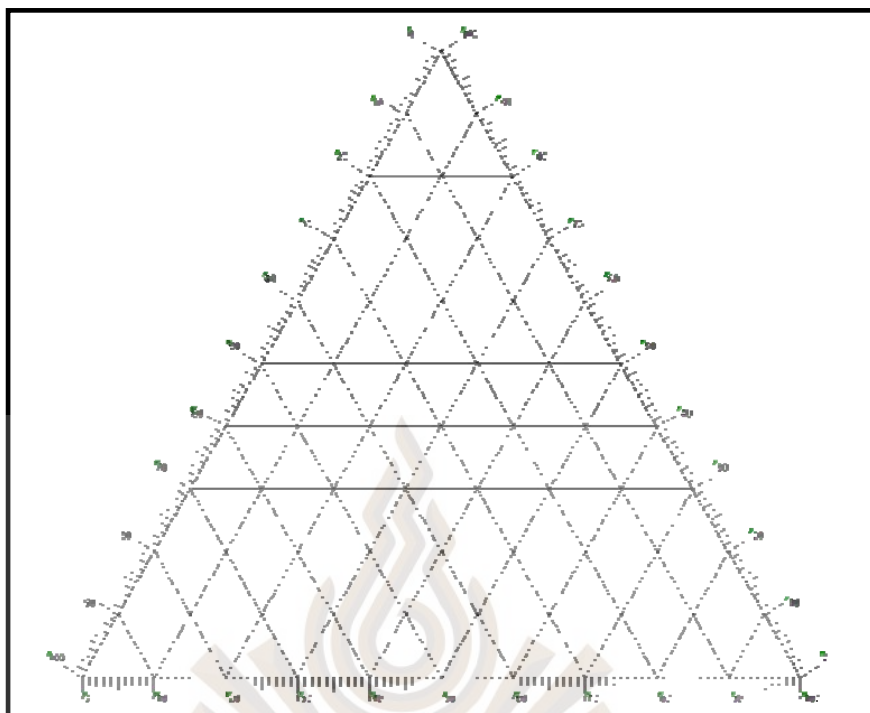
รูปที่ 8 แสดงถึงขั้นตอนการนำสารลดแรงตึงผิว (Tween20, Tween80, Span80) น้ำมันหอมระเหย (น้ำมันอโวคาโดและน้ำมันโรสแมรี่) และน้ำ มาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer



รูปที่ 9 แสดงถึงขั้นตอนการนำสูตรตำรับพื้น (สารลดแรงตึงผิว น้ำมันหอมระเหย และน้ำ) มาลดขนาดด้วยเครื่อง sonicator



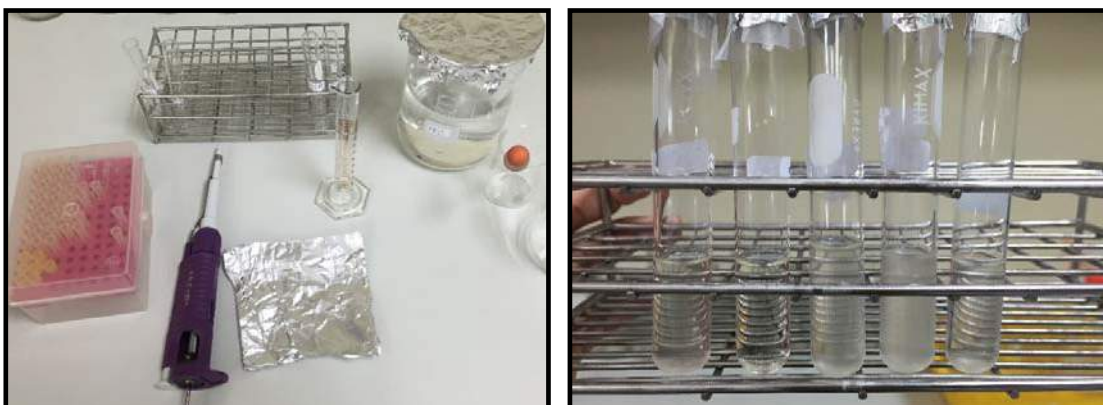
รูปที่ 11 แสดงถึงภาพประกอบของอิมัลชันแต่ละประเภทที่ได้จากการลดขนาดด้วยเครื่อง sonicator (แยกประเภทอิมัลชัน จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพ)



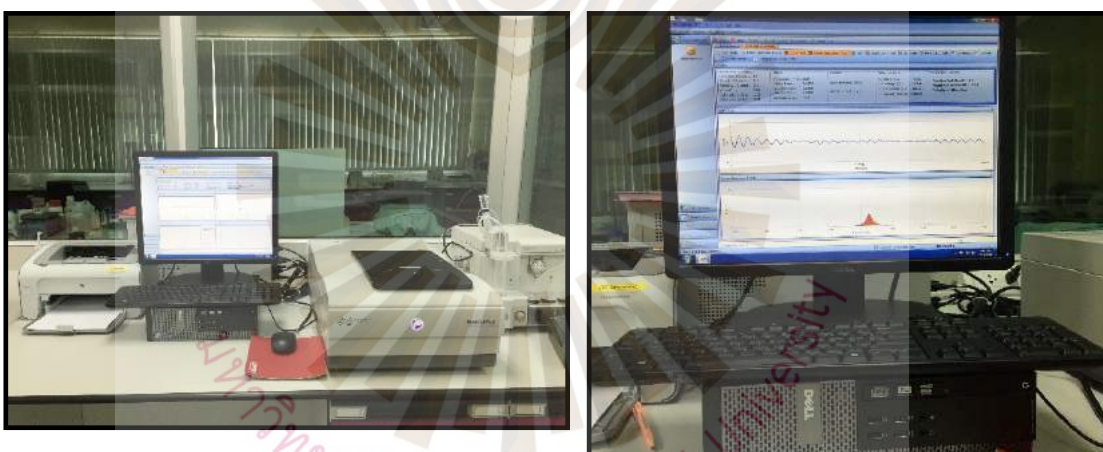
รูปที่ 12 แสดงถึง ternary phase diagram
(ใช้สำหรับพล็อตเพื่อแยกประเภทของอิมัลชันจากการสังเกตลักษณะทางกายภาพ)



รูปที่ 13 แสดงถึงลักษณะของสูตรตำรับพื้น (อิมัลชัน, อัตราส่วน)
ที่มีลักษณะทางกายภาพที่เป็นนาโนอิมัลชัน (โปร่งแสงและไม่แยกชั้น)



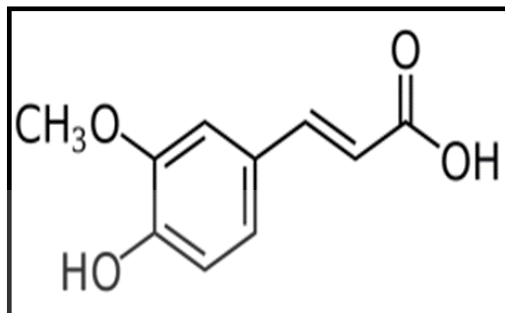
รูปที่ 14 แสดงถึงการนำสูตรตำรับพื้น ที่มีลักษณะทางกายภาพที่เป็นนาโนอิมัลชัน มาเจือจางเพื่อเตรียมมาวัดขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า



รูปที่ 15 แสดงถึงขั้นตอนการวัดขนาดของอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาด้วยเครื่อง Nano Plus

การเพิ่มสารสกัดโกฐเชียงลงในสูตรตำรับ

หลังจากที่ได้อัตราส่วนที่เป็นนาโนอิมัลชันจากการเตรียมสูตรตำรับพื้นแล้วให้เตรียมอัตราส่วนนั้นขึ้นมาใหม่ แล้วนำมาเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง (1% w/w) ลงไป

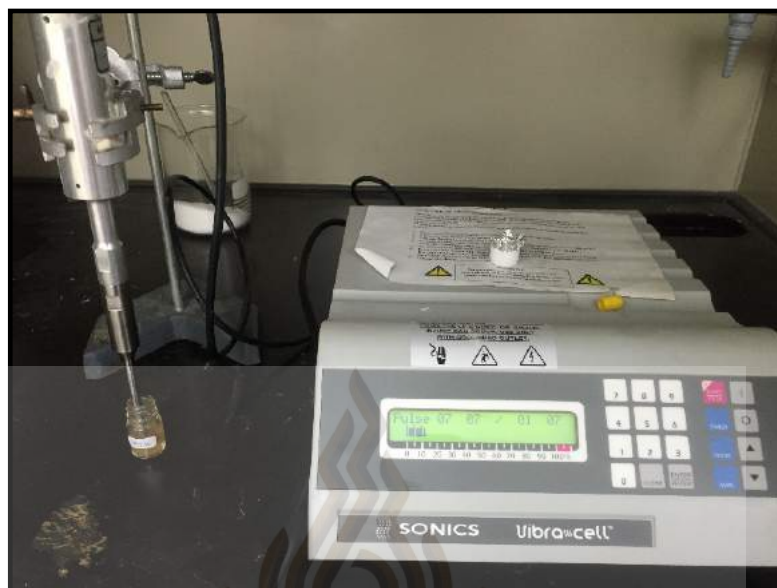


รูปที่ 16 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างของกรดเฟรุลิก

(https://www.ebay.com/itm/FERULIC-ACID-5-gr-Pure-Ferulic-Acid-Powder-Antioxidant-Anti-Aging-Cosmetic-/173109419705?_ul=BR, 4 เมษายน 2561)



รูปที่ 17 แสดงถึงสารสกัดโกฐเชียงที่ซื้อโกฐเชียงมาจากร้านแห่งหนึ่งในกรุงเทพฯ แล้วจึงนำมาสกัด (ใช้สำหรับเพิ่มลงไปนสูตรที่ถูกเตรียมขึ้นใหม่)



รูปที่ 18 แสดงถึงการนำสูตรตำรับที่เพิ่มสารสกัดโกฐเชียงลงไปแล้ว มาลดขนาดด้วยเครื่อง soniccate



รูปที่ 19 แสดงถึงการนำสูตรตำรับที่เพิ่มสารสกัดโกศเชียงมาวัดขนาดของอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซิตา ด้วยเครื่อง Nano Plus

วิธีการวัดขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตา ด้วยเครื่อง Nano Plus

การวัดขนาดอนุภาค ด้วยเครื่อง Nano Plus

เตรียมนาโนอิมัลชันที่จะวัดขนาด pipette ปริมาตรมา 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำ HPLC 25 เท่า



จากนั้นเทลงใน cuvette และทำการวัดขนาดที่อุณหภูมิ 25 °C ทำการวัดซ้ำ 5 ครั้ง



นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ด้วยเครื่อง Nano Plus

นำกระบอกฉีดสารคูดนาโนอิมัลชันที่เจือจาง มาประมาณ 1 มิลลิลิตร



สามเข้ากับเซลล์ที่ใช้วัด Zeta potential โดยปลายอีกด้านหนึ่งจะมีกระบอกฉีดสาร



ทำการกดสารในกระบอกฉีดสารอันดับแรกให้สารผ่านเข้าไปในเซลล์ ซึ่งจะเป็นการดันกระบอกฉีดสารอีกด้านหนึ่ง หากมีฟองอากาศให้ไล่ฟองอากาศออกให้หมด โดยการผลักกระบอกฉีดสารเข้า-ออกจนฟองหายไป



หลังจากนั้นนำกระบอกฉีดสารออก นำเซลล์ใส่ลงในเครื่อง Nano Plus

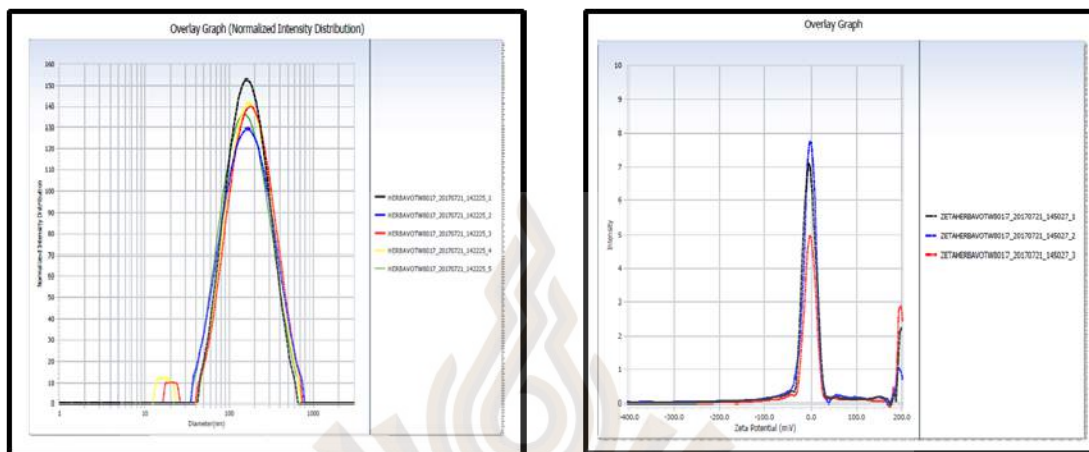


ทำการเปลี่ยนโหมดการวัดให้เป็นการวัด Zeta potential ที่อุณหภูมิ 25 °C ทำการวัดซ้ำ 5 ครั้ง

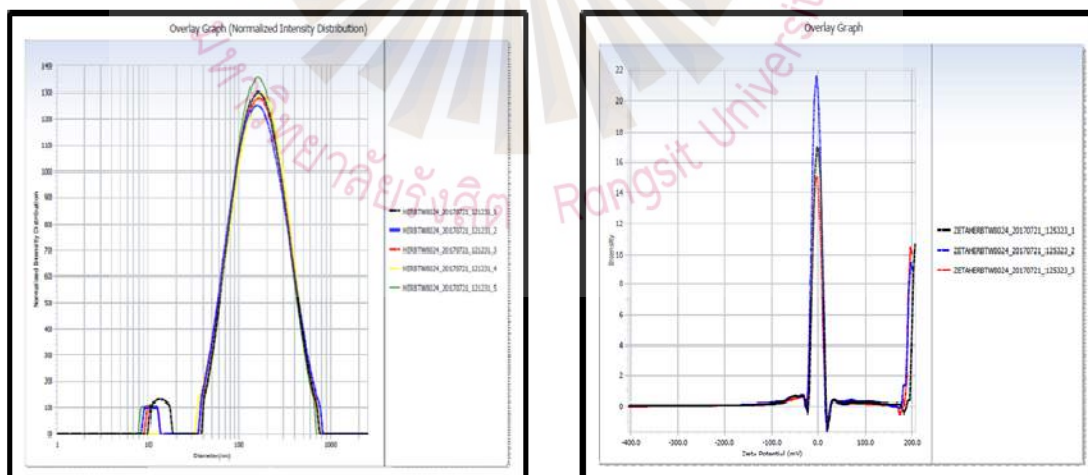


นำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

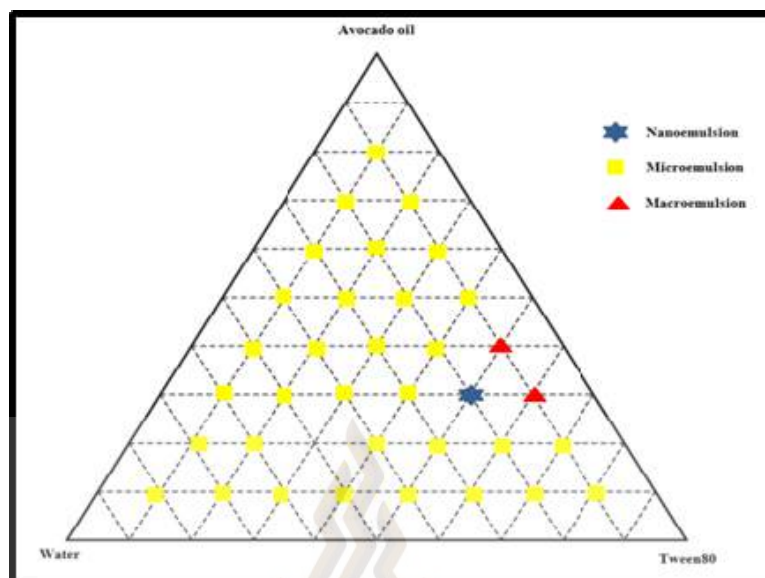
ลักษณะขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของสารสกัดโกฐเชียงในอัตราส่วน Avocado oil : Tween80 : H₂O(3 : 5 : 2) และ Rosemary oil:Tween80 :H₂O(2 : 5 : 3)ที่วัดผลโดยเครื่อง Nano Plus



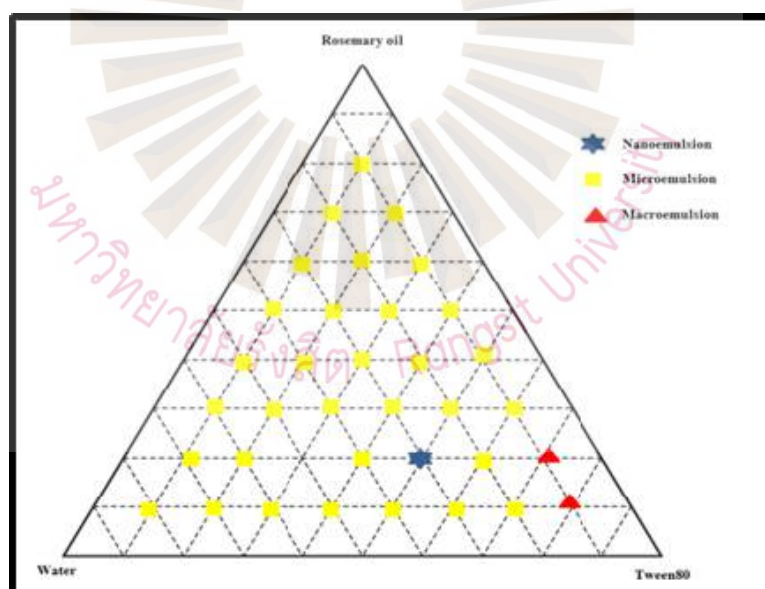
รูปที่ 20 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาของนาโนอิมัลชัน Avocado oil : Tween80 : H₂Oอัตราส่วน 3 : 5 : 2 เมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง 1% w/w



รูปที่ 21 แสดงถึงขนาดอนุภาคและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าซีตาของนาโนอิมัลชันRosemary oil:Tween80 : H₂Oอัตราส่วน 2 : 5 : 3 เมื่อเพิ่มสารสกัดโกฐเชียง1% w/w



รูปที่ 22 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Avocado oil: Tween80 : H₂O
อัตราส่วน 3 : 5 : 2

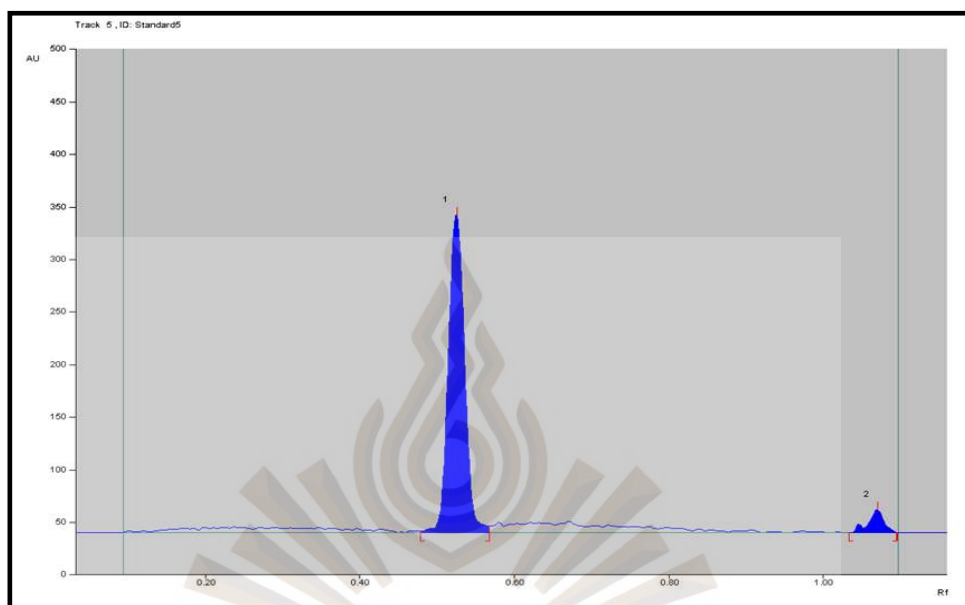


รูปที่ 23 แสดงถึงพื้นที่การเกิดนาโนอิมัลชันของ Rosemary oil : Tween80 : H₂O
อัตราส่วน 2 : 5 : 3

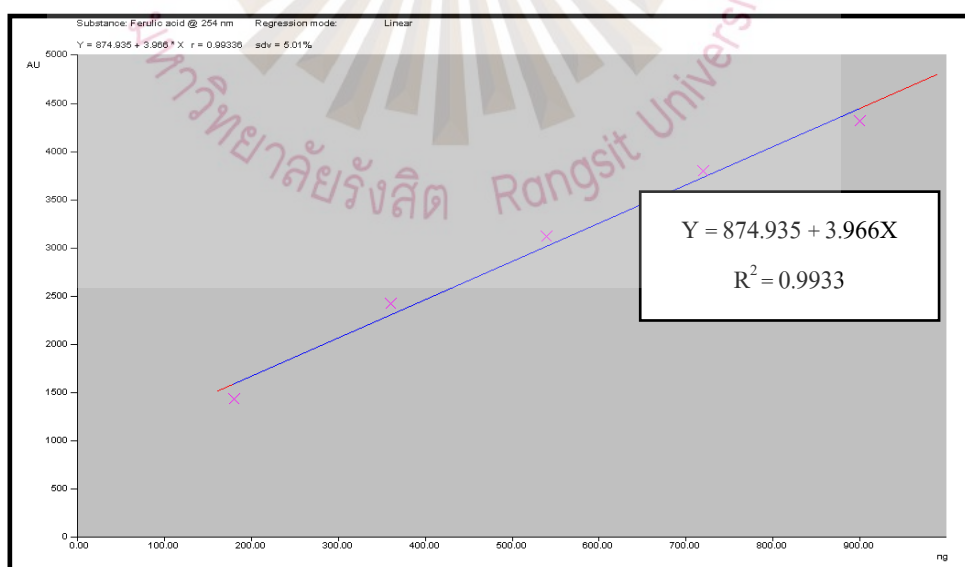
ภาคผนวก ข
รูปการวิเคราะห์และผลการวิจัย



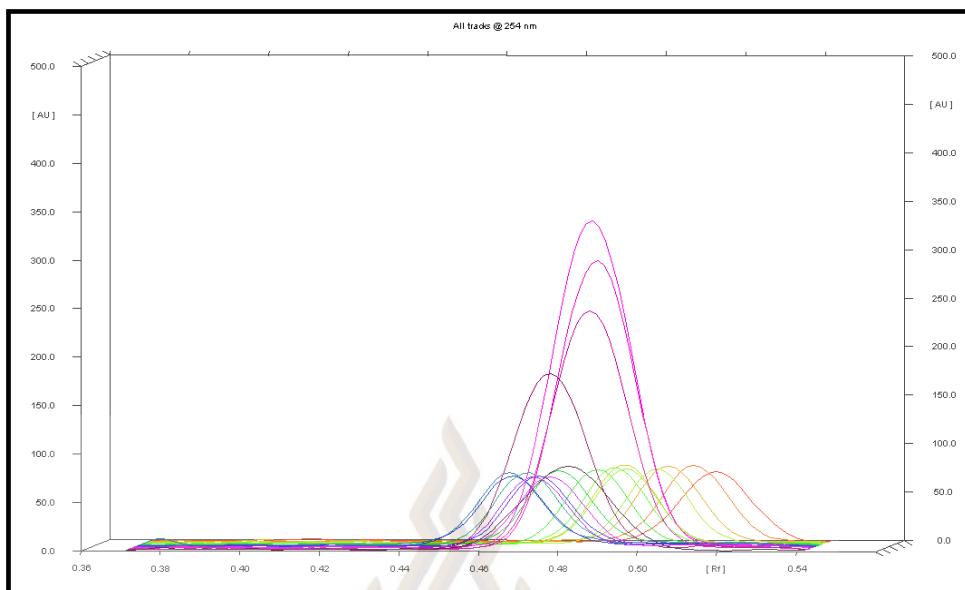
ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเฟรูลิกในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)



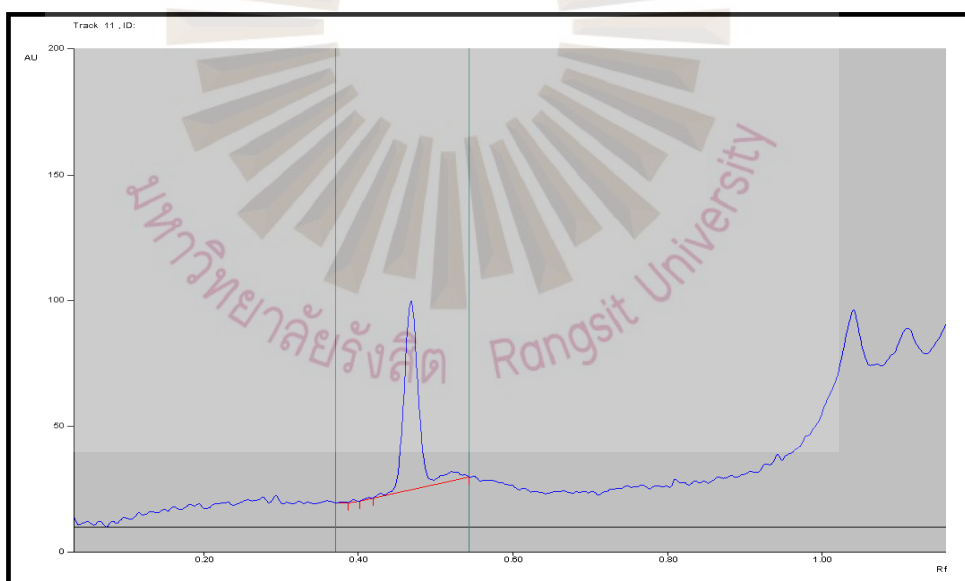
รูปที่ 24 แสดงลักษณะ HPTLC Chromatogram ของสารละลายมาตรฐาน Ferulic acid



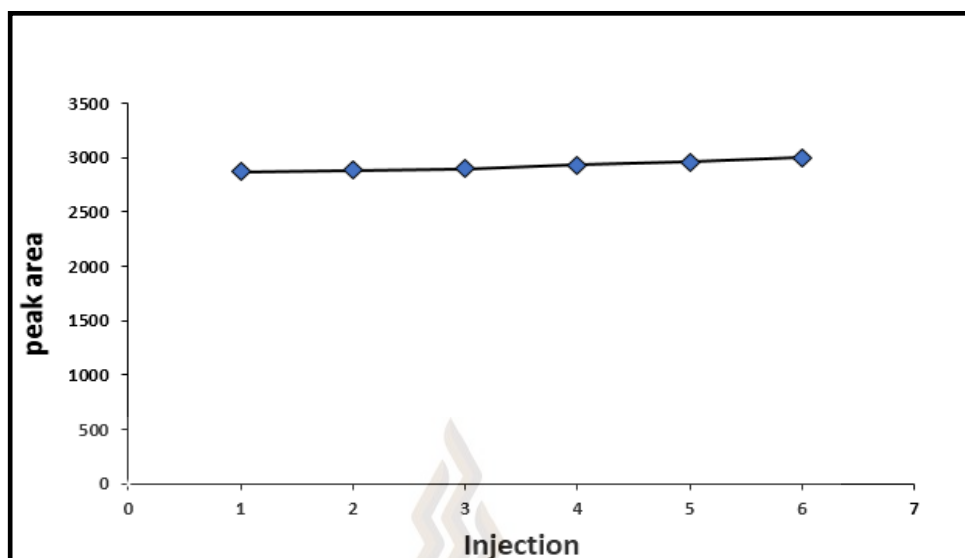
รูปที่ 25 แสดงถึงลักษณะ *standard curve* ของสารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 180 – 900 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร



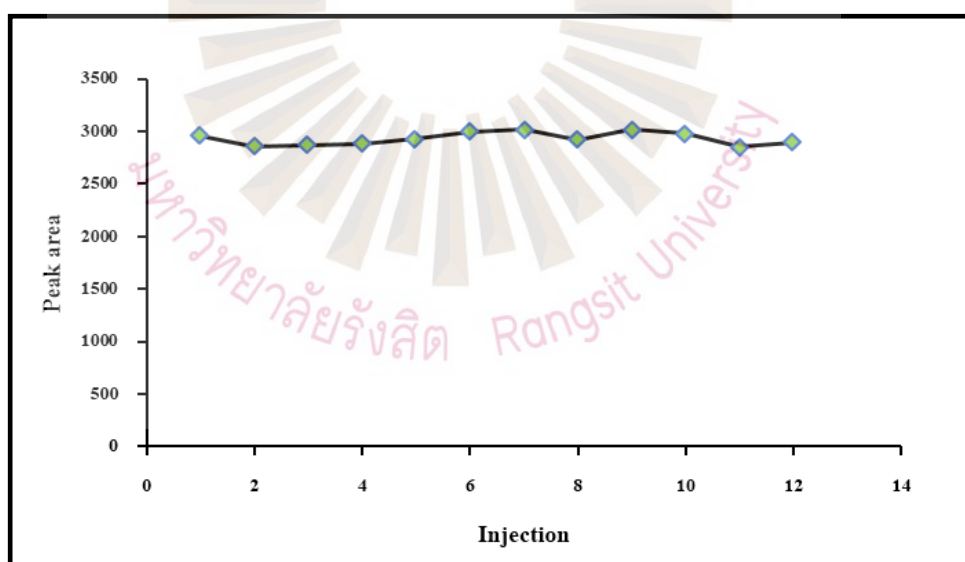
รูปที่ 26 แสดงถึงลักษณะกราฟสามมิติของกรดฟูลิกที่เครื่องวัดปริมาณสามารถวัดค่าได้



รูปที่ 27 แสดงถึงลักษณะHPTLC Chromatogram ของสารละลายตัวอย่าง



รูปที่ 28 แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิก แบบ intraday precision (spotซ้ำ 6 ครั้ง)
เมื่อ plot ความสัมพันธ์ระหว่าง peak area และ จำนวนครั้งการ spot



รูปที่ 29 แสดงถึงกราฟของผลการศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดเฟรูลิกแบบ Interday precision (ทำซ้ำวันละ 6 ครั้ง) เมื่อ plot กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง peak area และจำนวนครั้งของการ spot

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟรุคติกในตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดโกฐเชียง โดยวิธีการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPTLC, High Performance Thin Layer Chromatography)

การเตรียมสภาวะโครมาโทกราฟี (Chromatographic Condition)

เตรียม Methanol 50 ml. ใส่ในแท่ง twin trough chamber ปิดฝา



นำแผ่น TLC Plate ขนาด 20×20 มาตัดแบ่งครึ่งให้เท่ากัน โดยเว้นด้านบนไว้ 10 cm.



ชะล้างแผ่น TLC เปล่าโดยการปล่อยให้สารละลายในแท่งเคลื่อนที่ถึงขอบบนของแผ่น TLC ที่ระยะทาง 10 cm. จากนั้นวางทิ้งไว้จนแห้งและนำแผ่น TLC มาเก็บในภาชนะที่แห้งจนกว่าจะใช้งาน



เตรียม Dichloromethane : Methanol : Formic acid (96 : 3 : 1) ลงในแท่ง twin trough chamber โดยการใส่แผ่นกระดาษกรองปล่อยให้วัฏภาคเคลื่อนที่ไหลท่วมแผ่นกระดาษกรอง เป็นเวลา 25 นาที



Spot สารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC ด้วยเครื่องมือหยดสารอัตโนมัติ (automatic sample spotter) โดยหยดปริมาตรสารละลาย 2 μ L และให้ช่วงห่างระหว่างสารตัวอย่างของแต่ละจุดห่างกัน 6 mm.



จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟรุคติกด้วยเครื่อง Densitometer TLC Scanner 3

ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่น 254 nm.

โดยใช้โปรแกรม winCATS Software ในการวิเคราะห์

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) คำนวณค่า Correlation Coefficient (R-Square) ของความสัมพันธ์ที่ได้ทำการทดลองทั้งหมด โดยค่าที่ R-Square จะต้องอยู่ในช่วง 0.9995-0.9999



ศึกษาความแม่นยำ (Injection Precision) คือ ศึกษา Intraday precision ค่า %RSD ของ Peak Area ค่าที่ได้นั้นจะต้องไม่เกินร้อยละ 2 และ ศึกษา Interday precision ค่า %RSD ที่ได้นั้นต้องไม่เกินร้อยละ 2



ศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) โดยค่า % recovery ที่ยอมรับได้จะอยู่ในช่วง ร้อยละ 95 ถึง 105



วิเคราะห์ Low Limit of Detection (LOD) สามารถตรวจวัดได้ที่ $S/N = 3:1$ และวิเคราะห์ Low Limit of Quantitation (LOQ) สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ที่ $S/N = 10:1$



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	สุกัญญา ทิราพงษ์
วัน เดือน ปีเกิด	27 ธันวาคม 2534
สถานที่เกิด	จังหวัดชลบุรี ไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก , 2557 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผน ตะวันออก, 2560
ประกาศนียบัตร	ใบประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนไทย ประเภทเวชกรรมไทย ใบประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนไทย ประเภทเภสัชกรรมไทย ใบประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนไทย ประเภทผดุงครรภ์ไทย ใบประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนไทย ประเภทนวดไทย ใบประกาศนียบัตร อบรมสัมมนาวิชาการ เรื่อง พื้นฐานการแพทย์โฮมีโอ พาธีและการแพทย์ทางเลือก
ที่อยู่ปัจจุบัน	68/1 ม.3 ต.ธาตุทอง อ.บ่อทอง จ.ชลบุรี 20270