บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การสกัดสารไลโคปีนจากมะเขือเทศสดสามารถทำได้ด้วยวิธีการหมักแบบมาเซอเรชันโดยได้ปริมาณมะเขือเทศแห้งร้อยละ 5.72 ของมะเขือเทศสด และนำมาทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยการใช้เซฟาเด็กซ์แอลเอช 20 เป็นวัฏภาคคงที่และตัวทำละลายอะซีโตนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ นำสารสกัดที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไลโคปีนด้วยเทคนิค HPTLC พบปริมาณสารสำคัญไลโคปีน 995 µg/กรัมมะเขือเทศแห้ง หรือ 57 µg/g มะเขือเทศสด โดยได้มีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เพื่อยอมรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารที่สกัดได้ ซึ่งจากผลพบว่า การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของสารสกัดไลโคปีนและสารมาตรฐานไลโคปีนได้ค่า Relative front (R_f) ที่ 0.76 โดยสภาวะของระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์สามารถแยกสารไลโคปีนที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารอื่น ๆ ได้ การหาความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ที่ 0.999 จากสมการเส้นตรงสามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารสกัดในช่วงความเข้มข้นของความสัมพันธ์เชิงเส้นได้ การทดสอบความแม่นโดยรายงานเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทั้งหมดเท่ากับ 101.07±1.72 และค่าเฉลี่ยร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 1.70 โดยอยู่ในช่วงค่าร้อยละการกลับคืนอ้างอิงที่ 95-105 และการทดสอบความเที่ยงได้ค่าเฉลี่ยร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเที่ยงภายในวันเดียวกันทั้งหมดเท่ากับ 1.33 ค่าเฉลี่ยร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเที่ยงต่างวันทั้งหมดเท่ากับ 0.93 โดยเกณฑ์ความเที่ยงอ้างอิงมีค่าร้อยละส่วนเบียงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ≤ 2 และ ≤ 3 สำหรับการวิเคราะห์ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน และการวิเคราะห์ความเที่ยงต่างวัน ตามลำดับ ซึ่งจากผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ HPTLC อยู่ในเกณฑ์ที่อ้างอิง (Ferenczi-fodor et al. 2001) ทำให้ยอมรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารที่สกัดได้

สารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศถูกนำมากักเก็บไว้ในอนุภาคนำส่งแบบถุง โดยสูตรตำรับอนุภาคนำส่งแบบถุงเตรียมจากส่วนผสมของแอสคอร์บิคแอซิด-6-ปาล์มมิเตท คอเลสเตอรอล และไดเซทธิลฟอสเฟท ที่อัตราส่วนโมลร้อยละ 44:44:12 ตามลำดับเป็นสูตรตำรับที่มีความคงสภาพกว่าสูตรตำรับอื่น และไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงมีสภาพความคงตัวในขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคในช่วงระยะเวลา 3 เดือน ภายใต้สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 °C และอุณหภูมิห้อง (28±2 °C) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay พบว่าการเก็บที่สภาวะมีแสงสว่างที่อุณหภูมิห้อง (28±2 °C) เป็นเวลา 5 วัน สารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงที่ความเข้มข้น 2.12, 1.70, 1.48 และ 1.27 ค่า % Scavenging capacity ลดลงประมาณร้อยละ 33, 36, 44 และ 43 ตามลำดับ สารละลายสารสกัดไลโคปีนที่ความเข้มข้น 2.12, 1.70, 1.48 และ 1.27 ค่า % Scavenging capacity ลดลงประมาณร้อยละ 67, 79, 76 และ 77 ตามลำดับ และจากการเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4±2 °C และอุณหภูมิห้อง (28±2 °C) เป็นเวลา 3 เดือน ได้ค่า % Scavenging capacity ของสารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุง ในเดือนที่ 3 ลดลงร้อยละ 2 และ 5 ตามลำดับ และสารสกัดไลโคปีนที่ไม่ได้กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงลดลงร้อยละ 55 ทั้งสองสภาวะอุณหภูมิ ซึ่งจากผลดังกล่าวแสดงถึงความคงสภาพของประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงดีกว่าสารละลายสารสกัดไลโคปีน โดยอนุภาคนำส่งแบบถุงยังมีสารแอสคอร์บิคแอซิด-6-ปาล์มมิเตท เป็นองค์ประกอบผนังของถุงทรงกลมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อนำมากักเก็บ

สารสกัดไลโคปีนจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร่วมกัน ซึ่งเป็นการพัฒนาสูตรตำรับใหม่ที่มีประสิทธิภาพสำหรับการนำไปพัฒนาในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 การเตรียมสารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ

ในการเตรียมสารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศด้วยการหมักแบบมาเซอเรชันด้วยตัวทำละลายเอทธิลอะซีเตทและทำการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีในงานวิจัยนี้ได้ปริมาณสารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ 995 µg/g มะเขือเทศแห้ง หรือ 57 µg/g มะเขือเทศสด โดยจากในงานวิจัยของ Lee, M.T และ Chen, B.H. (2001) และ งานวิจัยของ Knockaert และคณะ (2012) สกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศโดยการสกัดด้วยของเหลวสองชนิด (Liquid–liquid extraction) โดยเริ่มต้นด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสมของ เฮกเซน:อะซีโตน:เอทธานอล ในอัตราส่วน 50:25:25 สกัดสารไลโคปีนจากมะเขือเทศหลังจากนั้นเติมน้ำ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารแยกชั้น นำสารชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสารสกัดไลโคปีนมาทำการระเหยตัวทำละลายออก โดยจากในงานวิจัยของ Lee, M.T และ Chen, B.H. (2001) ได้สารสกัดไลโคปีน 21 µg/g มะเขือเทศสด และงานวิจัยของ Knockaert และคณะ (2012) ได้สารสกัดไลโคปีน 880 µg/g ของมะเขือเทศแห้ง ดังนั้นปริมาณสารสกัดไลโคปีนที่ได้จากในงานวิจัยนี้โดยการใช้เอทธิลอะซีเตทสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศ (Liu Yongfeng et al. 2010) ด้วยการหมักแบบมาเซอเรชันสามารถได้สกัดสารไลโคปีนออกมาในปริมาณที่มากได้เช่นกัน อีกทั้งการแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยสารที่เป็นวัฏภาคคงที่คือสารเซฟาเด็กซ์แอลเอช 20 ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการแยกสารโดยอาศัยความแตกต่างของขนาดโมเลกุล ทำให้แยกสารรบกวนออก ซึ่งการแยกนี้ทำให้ได้สารสกัดไลโคปีนมีความเข้มข้นมากขึ้น จากปริมาณสารสกัดไลโคปีนที่ได้แสดงว่ากระบวนการที่ใช้เป็นระบบที่มีประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

5.2.2 การตรวจเอกลักษณ์และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญไลโคปีนด้วยรงคเลขผิวบางแบบสมรรถนะสูง

โดยทั่วไปการนำสารที่ทำการแยกได้มาทำการตรวจเพื่อให้ทราบองค์ประกอบคร่าวๆของสารสามารถทำได้โดยการใช้เทคนิค TLC ซึ่งเป็นวิธีตรวจสอบที่มีต้นทุนต่ำกว่าการใช้ HPTLC อย่างไรก็ตามเนื่องจากแฟรกชันของสารที่ได้จากงานวิจัยนี้มีจำนวนไม่มาก สังเกตุได้จากสารที่มีสีต่างกัน โดยในขั้นตอนการตรวจเอกลักษณ์สารสำคัญไลโคปีนจากสารสกัดมะเขือเทศในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค HPTLC ที่มีหลักการเหมือน TLC แต่เทคนิค HPTLC มีเครื่องมืออัตโนมัติที่ช่วยในการวิเคราะห์ซึ่งให้ผลมีความแม่นยำกว่าเทคนิค TLC

ในการวิเคราะห์สาร การเคลื่อนที่ของสารไปบนวัฏภาคคงที่จะเป็นระยะทางมากน้อยแตกต่างกันขึ้นกับคุณสมบัติทางเคมีของสาร ชนิดของวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ ตำแหน่งที่ปรากฏแสดงด้วยค่า R_f โดยวัฏภาคคงที่ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่แผ่น HPTLC aluminium sheet, Silica gel ซึ่ง ซิลิกาเจลทำให้เกิดการแยกสารออกจากกันได้ตามคุณสมบัติความมีขั้ว ซึ่งสารที่มีความมีขั้วสูงจะดูดซับบนแผ่นซิลิกาเจลด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonding) หรือด้วยอันตรกิริยาไดโพล (Dipole interaction) ที่หมู่ไซลานอล (Silanol) ได้ดีกว่า จึงเคลื่อนที่ได้ระยะทางที่สั้นกว่าสารที่มีความมีขั้วต่ำ สำหรับวัฏภาคเคลื่อนที่ หากสารมีสัมพรรคภาพ (Affinity) ดีกับวัฏภาคเคลื่อนที่จะเคลื่อนที่ไปบนแผ่น HPTLC ได้ไกลกว่าสารที่มีสัมพรรคภาพต่ำ (รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2553)

จากงานวิจัย ได้ทำการทดสอบหาวัฏภาคเคลื่อนที่ที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญไลโคปีนจากสารสกัดมะเขือเทศ โดยในการทดสอบระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสม ได้ระบบ

ที่เหมาะสมเป็นระบบที่ใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ผสม ได้แก่ เมทธานอล เฮกเซน และเอทธิลอะซีเตท โดยมีสัดส่วนผสมของ เมทธานอล:เฮกเซน:เอทธิลอะซีเตท ที่อัตราส่วน 45:40:15 ซึ่งได้แสดงผลว่าเป็นระบบที่สามารถแยกสารไลโคปีนในสารสกัดมะเขือเทศได้ โดยได้ค่า R_f ที่ 0.76 เป็นค่า R_f ที่แสดงระยะทางที่สารไลโคปีนเคลื่อนที่ห่างกับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เป็นระยะที่อยู่ในช่วงการแยกที่ดี และสารไลโคปีนจากสารสกัดมะเขือเทศมีค่า R_f เดียวกับค่า R_f ของสารมาตรฐานไลโคปีน เป็นการยืนยันว่าระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เลือกใช้เหมาะสมในการวิเคราะห์สารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ได้ในงานวิจัยนี้

จากระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ได้สามารถนำมาใช้ในขั้นตอนการวิเคระห์หาปริมาณสารสกัดไลโคปีนในมะเขือเทศได้ โดยการวิเคราะห์พบปริมาณสารสำคัญไลโคปีนในสารสกัดมะเขือเทศเท่ากับ 995 µg/g มะเขือเทศแห้ง หรือเท่ากับ 57 µg/g มะเขือเทศสด

5.2.3 การตรวจสอบความถูกต้องของการพัฒนาวิธีวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดไลโคปีนด้วยเทคนิค HPTLC เพื่อให้การวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับและเชื่อถือได้ จึงมีการตรวจสอบความถูกต้องของการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ ทางด้านความจำเพาะเจาะจง ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ความแม่น และความเที่ยง โดยจากการวิเคราะห์ความจำเพาะเจาะจงเพื่อดูว่าสภาวะของระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์สามารถแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆได้หรือไม่ ซึ่งผลที่ได้ของสารสกัดและสารมาตรฐานแสดงค่า R_f เดียวกันเป็นการแสดงว่าสารสกัดเป็นสารไลโคปีน เนื่องจากค่า R_f เป็นค่าคงที่สำหรับสารชนิดหนึ่ง ๆ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ และตัวทำละลายชนิดหนึ่งๆ การได้ค่า R_f ของสารตัวอย่าง และสารมาตรฐานเท่ากันทุกครั้ง ก็ยืนยันได้ว่าสารตัวอย่างคือสารชนิดเดียวกับสารมาตรฐาน (ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. 2551) สำหรับการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารมาตรฐานได้ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ หรือค่า r ที่ 0.999 และได้สมการเส้นตรงที่สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารสกัดในช่วงความเข้มข้นของความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้ สำหรับการวิเคราะห์ความแม่นได้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 95-105 และความเที่ยงที่ได้มีค่าร้อยละส่วนเบียงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ≤ 2 และ ≤ 3 สำหรับการวิเคราะห์ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน และการวิเคราะห์ความเที่ยงต่างวัน ตามลำดับ โดยจากผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ได้ผลอยู่ในเกณฑ์ตามที่อ้างอิงจาก Validation and quality assurance of planar chromatographic procedures in pharmaceutical analysis ของ Ferenczi-fodor และคณะ (2001) ทำให้ยอมรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารที่สกัดได้

5.2.4 การตรวจสารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศด้วยนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์และเครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR)

สารไลโคปีนที่สกัดได้ สามารถยืนยันโครงสร้างที่มีพันธะคู่แบบคอนจูเกต ได้ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์และเทคนิคอินฟราเรดสเปคโตรเมทรี (FT-IR) ดังภาพที่ 8 และ 10 ตามลำดับ

ผลของสเปกตรัมโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ของไลโคปีนที่สกัดได้มีค่าเคมีคัลชิฟท์และตำแหน่งโปรตอนที่ยืนยันลักษณะเฉพาะของไลโคปีน โดยช่วง 0-3 มีความหนาแน่นสูง และช่วง 5-6.5 มีความหนาแน่นต่ำ ซึ่งเป็นลักษณะของสารหมู่อะไซคลิกอะลิฟาติคและหมู่โอเลฟินิคตามลำดับ ซึ่งเป็นสารประกอบอะลิฟาติคไฮโครคาร์บอนที่มีพันธะคู่แบบคอนจูเกต 11 แห่ง แสดงว่าสารสกัดเป็นสารไลโคปีน (El-Raey, M.A. et al. 2013)

จากภาพที่ 10 (b) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเลขคลื่น และหมู่ฟังก์ชันในไลโคปีน ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) โดยสเปคตรัมของไลโคปีนแสดงพีค C-H

stretching ที่ 3010, 2922, 2853 cm^{-1}, C=C stretching ที่ 1742, 1711, 1662 cm^{-1}, C-H bending 1457, 1377 cm^{-1} ซึ่งผลของสเปคตรัมของสารไลโคปีนในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Kamil และคณะ (2011)

5.2.5 การตรวจสารสกัดไลโคปีนจากมะเขือเทศด้วยแมสสเปกโทรเมทรี

แมสสเปกตรัมจากสารสกัดแสดงพีคเบสที่ 537.5263 ซึ่งเป็นพีคที่สูงที่สุดของแมสสเปกตรัมของสารสกัด ซึ่งข้อมูลที่ได้จากแมสสเปตรัมเป็นข้อมูลที่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้อย่างง่าย จากสารอินทรีย์ร้อยละ 80-90 ให้พีคโมเลกูลาร์อิออน (Molecular ion peak) ที่ $(M+1)^+$ เป็นพีคเบส ซึ่งเกิดจากโมเลกุลของสารเกิดการให้อิเล็กตรอนเป็นแฟรกเมนต์อิออนที่เสถียรซึ่งเป็นปริมาณและน้ำหนักไอโซโทปของธาตุที่มีในธรรมชาติ ข้อมูลที่ได้สามารถนำมาใช้หาน้ำหนักโมเลกุลของสารที่นำมาวิเคราะห์ได้ โดยจากพีคเบสของสารสกัดที่ 537.5263 เป็นค่าโมเลกูลาร์อิออน $(M+1)^+$ ของสารที่ได้ค่าสอดคล้องกับน้ำหนักโมเลกูลาร์อิออนของสารไลโคปีน ($[M+H]^+$: $C_{40}H_{57}^+$) ซึ่งเป็นการยืนยันว่าสารสกัดเป็นสารไลโคปีน ($C_{40}H_{56}$)

5.2.6 การเตรียมอนุภาคนำส่งแบบถุงและสภาพความคงตัวของไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุง

การเตรียมอนุภาคนำส่งแบบถุงโดยวิธีฟิล์มไฮเดรชันเป็นวิธีเตรียมดั้งเดิมที่สะดวกและไม่ซับซ้อนในการเตรียมในระดับห้องปฏิบัติการ จากการเตรียมตามสูตรตำรับที่ 1-7 พบว่าเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ตัวอย่างทั้ง 7 ตำรับมีลักษณะอนุภาคนำส่งแบบถุง การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงโพลาไรซ์เมื่อใช้แสงปกติจะเห็นอนุภาคขนาดเล็กกระจายอยู่ เมื่อตรวจภายใต้แสงโพลาไรซ์จะเห็นแสงหักเหสองแนว (Birefringence) ลักษณะเป็นรูปแบบ X-cross ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของอนุภาคนำส่งแบบถุง และเมื่อนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบอนุภาคค่อนข้างกลมโดยมีขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโนขนาดประมาณ 50-250 นาโนเมตร สารในสูตรตำรับที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยแอสคอร์บิคแอซิด - 6-ปาล์มมิเตท และคอเลสเตอรอลสามารถทำให้เกิดอนุภาคแบบถุงได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Gopinath และคณะ (2004) ซึ่งการผสมคอเลสเตอรอลมีส่วนช่วยในการเกิดอนุภาคและยังมีส่วนทำให้อนุภาคมีความคงตัวเพิ่มขึ้น เพราะเป็นการเพิ่มค่าอุณหภูมิทรานสิชันของอนุภาคทำให้อุณหภูมิทรานสิชันมีพิสัยกว้างขึ้น (อรัญญา มโนสร้อย และ จีรเดช มโนสร้อย. 2545) แต่ไม่มีความคงสภาพทางกายภาพพบการตกตะกอนในเดือนที่ 2 ซึ่งการเติมสารไดเซทธิลฟอสเฟตที่เป็นสารประจุลบจะช่วยเพิ่มความคงสภาพทางกายภาพของระบบได้ (Gopinath et al. 2004)

การศึกษาผลของสารประจุลบต่อความคงตัวของระบบทำโดยการเติมสารประจุลบในอัตราส่วนต่างๆ กันดังสูตรตำรับที่ 2-7 เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสม และทำการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าซึ่งเป็นค่าความต่างศักย์ของศักย์ไฟฟ้าบริเวณชั้นความหนาแน่นของประจุที่อยู่รอบๆ อนุภาค (ชั้นสเทิร์น : Stern layer) กับศักย์ไฟฟ้าในวัฏภาคของเหลวของระบบ (Delsa™ Nano Submicron Particle Size and Zeta Potential, User's Manual version May 2011. Available: https://www.beckmancoulter.com :ออนไลน์) ทั้งนี้ความคงสภาพของอีมัลชันและสารแขวนลอยตามทฤษฎีดีแอลวีโอ (DLVO:Derjaguin, Landau, Verwey and Overbeek) ที่ว่าความคงสภาพของอนุภาคคอลลอยด์ขึ้นกับความสมดุลระหว่างแรงดึงดูดระหว่างอนุภาคด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der waals) และแรงผลักจากไฟฟ้าสถิตย์ของอนุภาค (Electrostatic repulsion) ดังนั้นค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าจึงเป็นตัวบ่งชี้หนึ่งถึงความคงสภาพของสารแขวนลอย ระบบที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าสูงจะช่วยป้องกันการตกตะกอนของอนุภาค เนื่องจากแรงผลักระหว่างอนุภาคมีค่ามากกว่าแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค ถ้าศักย์ไฟฟ้าของระบบต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมอนุภาคจะรวมกันเนื่องจากแรงดึงดูด ตามหลักการค่าศักย์ไฟฟ้าสัมบูรณ์ (อาจเป็นบวกหรือลบ) ประมาณ 30 ทำให้

อนุภาคมีความคงสภาพดี ค่าประมาณ 20 ทำให้ความคงสภาพสั้น ค่าประมาณ 5 จะเกิดการตกตะกอนอย่างรวดเร็ว (Honary and Zahir. 2013) ในตำรับที่ 2-7 เมื่อเริ่มต้นพบว่าค่าศักย์ไฟฟ้าสัมบูรณ์มีค่ามากกว่า 30 แสดงถึงระบบเมื่อเริ่มต้นมีค่าศักย์ไฟฟ้าเหมาะสม เมื่อทำการศึกษาความคงสภาพในเดือนที่ 3 พบว่าการเติมสารประจุลบในอัตราส่วนที่น้อย ทำให้แรงผลักจากไฟฟ้าสถิตย์บนอนุภาคน้อยกว่าแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค ทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ระยะหนึ่ง และค่าการกระจายอนุภาคเพิ่มขึ้นซึ่งแสดงถึงการกระจายของอนุภาคในระบบที่มีขนาดและน้ำหนักที่แตกต่างกันมากขึ้น โดยค่าการกระจายอนุภาคควรน้อยกว่า 0.5 (Mohammadpour Dounighi N. et al. 2012) และจากการรวมตัวของอนุภาคทำให้พื้นที่ผิวของอนุภาคลดลง สารประจุลบบริเวณชั้นความหนาแน่นของประจุที่อยู่รอบ ๆ อนุภาคจึงมีปริมาณลดลงด้วย ดังนั้นค่าศักย์ไฟฟ้าสัมบูรณ์ของระบบจึงลดลง โดยเห็นชัดเจนในสูตรตำรับที่ 2 และ 3 โดยตำรับ 3 มีการคงสภาพนานกว่าตำรับ 2 เนื่องมาจากปริมาณของสารไดเซทธิลฟอสเฟตที่มากกว่า ส่วนการเติมสารประจุลบในอัตราส่วนที่มากเกินไปดังตำรับที่ 7 ระบบก็ไม่มีความคงตัว ทั้งนี้เพราะสารประจุลบจะเรียงตัวอยู่ในชั้นสเทิร์นในปริมาณที่เหมาะสม ปริมาณสารประจุลบที่มีมากไม่สามารถอยู่บริเวณชั้นความหนาแน่นของประจุที่อยู่รอบ ๆ อนุภาคได้ ดังนั้นค่าศักย์ไฟฟ้าสัมบูรณ์ของประจุลบที่วัดได้เริ่มต้นจึงไม่แปรผันตามปริมาณสารประจุลบที่ใส่เพิ่มขึ้น สารประจุลบที่มีปริมาณมากเกินไปจะกระจายอยู่ในวัฏภาคของเหลวของระบบ โดยเมื่อตั้งทิ้งไว้เกิดมีลิ่มขาวลอยอยู่เหนือสารละลายเป็นปริมาณมาก ซึ่งเกิดจากสารไดเซทธิลฟอสเฟตที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อยและมีค่าความหนาแน่นต่ำกว่าน้ำ เมื่ออนุภาคที่อยู่ในระบบเกิดการรวมตัวขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น ค่าการกระจายอนุภาคจึงเพิ่มขึ้น และค่าศักย์ไฟฟ้าสัมบูรณ์ลดลงที่ระยะการเก็บที่ 1 เดือน และสารมีสีขาวขุ่นมากในเดือนที่ 2 และมีการตกตะกอนในเดือนที่ 3 โดยตำรับที่ 6 เกิดขึ้นในลักษณะเดียวกับตำรับที่ 7 แต่ระยะการเปลี่ยนแปลงช้ากว่า ส่วนตำรับที่ 5 ค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้ามีการเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้นค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้น และมีการกระจายอนุภาคมากขึ้น แต่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดมากกว่าตำรับที่ 4 จากผลการศึกษาความคงสภาพ พบว่าตำรับที่ 4 มีความคงสภาพกว่าสูตรตำรับอื่น แสดงถึงการเติมสารที่เป็นประจุลบในอัตราส่วนที่เหมาะสมเป็นการลดการรวมตัวหรือหลอมตัวรวมกันของอนุภาค เนื่องจากอนุภาคนำส่งแบบถุงผลักกันจากประจุลบเป็นการช่วยเพิ่มความคงตัว จึงได้นำสูตรตำรับที่ 4 ซึ่งมีความคงสภาพที่สุดมาใช้ในการกักเก็บสารสำคัญคือสารสกัดไลโคปีน และทางด้านความคงสภาพที่ 3 เดือนพบว่าอนุภาคนำส่งแบบถุงที่กักเก็บสารสกัดไลโคปีนในอนุภาคที่เตรียมได้มีความคงสภาพทางกายภาพภายใต้สภาวะที่เก็บ

การศึกษาการกักเก็บสารสกัดไลโคปีนในอนุภาคนำส่งโดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectrophotometer (FT-IR) ซึ่งการตรวจวัดโดยใช้คลื่นอินฟราเรดให้ข้อมูลที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการหาหมู่ฟังค์ชันในโมเลกุลของสารประกอบอินทรีย์ย่านอินฟราเรดในสเปคตรัมของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า พบว่าในการตรวจวัดนี้ได้สเปคตรัมของอนุภาคนำส่งแบบถุงผสมสารสกัดไลโคปีน (Physical mixture) แสดงพีคของไลโคปีนในช่วง 1600 และ 1000 cm^{-1} อย่างชัดเจน เนื่องจากการกระจายตัวอย่างอิสระของสารสกัดไลโคปีนที่ไม่ถูกกักเก็บในวัฏภาคของอนุภาคนำส่งแบบถุง ในขณะที่พีคของไลโคปีนปรากฏเป็นพีคขนาดเล็กในสเปคตรัมของอนุภาคนำส่งแบบถุงที่กักเก็บสารสกัดไลโคปีนไว้ภายใน ซึ่งอาจเนื่องมาจากการแทรกตัวของสารสกัดไลโคปีนในผนังส่วนที่ชอบไขมันของอนุภาคนำส่งแบบถุง ทำให้สเปคตรัมของพีคไลโคปีนอ่อนและมีขนาดเล็ก ซึ่งเป็นการแสดงถึงสารสกัดไลโคปีนได้ถูกกักเก็บอยู่ในอนุภาคนำส่งแบบถุง

5.2.7 การตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay

วิธี DPPH Assay เป็นการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของสารสกัดจากพืชที่เป็นที่นิยมมากที่สุดวิธีหนึ่ง ด้วยข้อดีคือขั้นตอนการเตรียมสารที่ไม่ยุ่งยาก ต้นทุนการทดสอบไม่สูง และอุปกรณ์ที่ใช้คือเครื่องยูวีสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นเครื่องที่มีอยู่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ (Alam et al. 2013) และมีการใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไลโคปีนและให้ผลอย่างมีนัยสำคัญในงานวิจัยของ Liu Donghong และคณะ (2008) การทดสอบความคงอยู่ของฤทธิ์ของสารสำคัญที่ระยะเวลาต่างๆ ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลที่แสดงถึงความมีอยู่หรือความคงสภาพของสารสำคัญนั้นๆ จากการทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพื่อแสดงถึงความคงสภาพของสารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงเปรียบเทียบกับสารละลายของสารสกัดไลโคปีน ซึ่งรายงานผลในรูปของ % scavenging capacity พบว่าแสง (ภายในห้องที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิห้อง 28±2 ºC เป็นเวลา 5 วัน) ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงและสารละลายของสารสกัดไลโคปีนลดลงอย่างเร็ว โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไลโคปีนที่ไม่ได้กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงลดลงมากกว่าที่กักเก็บในอนุภาคประมาณ 2 เท่า ซึ่งผลของการทดสอบจากการเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิ 4±2 ºC และอุณหภูมิห้อง (28±2 ºC) เป็นเวลา 3 เดือน แสดงผลในทำนองเดียวกัน คือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไลโคปีนที่ไม่ได้กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงลดลงมากกว่าที่กักเก็บในอนุภาคเกือบ 2 เท่า โดยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (4±2 ºC และ 28±2 ºC) ไม่ได้ส่งผลต่อการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่แสงส่งผลต่อการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอย่างชัดเจน จากผลการวิจัยพบว่าการเก็บกักสารในอนุภาคนำส่งแบบถุงช่วยคงสภาพสารสกัดไลโคปีนทางด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

1) ศึกษาสภาพความคงตัวของอนุภาคนำส่งแบบถุงและสารสกัดไลโคปีนที่กักเก็บในอนุภาคนำส่งแบบถุงที่ระยะเวลา 6 เดือน

2) ศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดไลโคปีนในอนุภาคนำส่งแบบถุง

3) พัฒนาการใช้ในสูตรตำรับเครื่องสำอาง