

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

PREPARATION OF *ZINGIBER OFFICINALE* EXTRACT

LOADED SOLID LIPID NANOPARTICLES



โดย

นางสาวนภััสสร ราชรินทร์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

พ.ศ. 2555

วิทยานิพนธ์ การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
Preparation of *Zingiber officinale* Extract Loaded Solid Lipid Nanoparticles
ชื่อนักศึกษา นางสาวนภัสสร ราชรินทร์
รหัสประจำตัว 524061
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
ปีการศึกษา 2554

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ และสำนักงานคณะกรรมการ
การอุดมศึกษาได้ตรวจสอบและอนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เมื่อวันที่ 25 เมษายน พ.ศ. 2555



คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พรรณราย แสงวิเชียร)

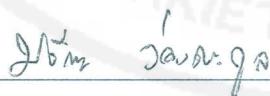
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



ประธานกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ

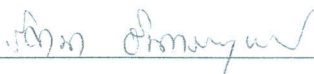
(รองศาสตราจารย์ ดร.นริศ คำแก่น)

จากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา



กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ปวีณา ว่องตระกูล)



กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.รัตนา อินทรานุปกรณ์)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มณฑนา ภาณุมากรณ์)

วิทยานิพนธ์	การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง Preparation of <i>Zingiber officinale</i> Extract Loaded Solid Lipid Nanoparticles
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนภัสสร ราชรินทร์
รหัสประจำตัว	524061
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
ปีการศึกษา	2554

บทคัดย่อ

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งซึ่งนิยมนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาทางผิวหนังมีอนุภาคขนาด 1-1000 นาโนเมตร การเก็บกักสารสำคัญในอนุภาคไขมันแข็งสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวของสารนั้นได้ 6-จินเจอร์อลเป็นสารสำคัญในสารสกัดขิง ซึ่งไม่มีความคงตัวเมื่อสัมผัสกับอากาศ แสง และความร้อน ตลอดจนไม่คงตัวเมื่อเก็บไว้ ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน ไขมันแข็งที่ใช้ในการเตรียมคือ สเตียริก แอสิด สารลดแรงตึงผิวคือ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และสารลดแรงตึงผิวร่วมคือ เอทานอล เมื่อวัดด้วยการกระเจิงแสงแบบพลวัต พบว่า ขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 453.10 และ 551.70 นาโนเมตร และมีการกระจายขนาดอนุภาคแคบ (0.15-0.33) ประสิทธิภาพในการกักเก็บและค่าความจุในการกักเก็บ 6-จินเจอร์อลทำการวิเคราะห์ห้ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง พบว่ามีค่าระหว่างร้อยละ 85.23-90.07 และ ร้อยละ 1.41-1.49 ตามลำดับ ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านแสดงให้เห็นว่าอนุภาคมีรูปร่างเป็นทรงกลม นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี ภายใน 3 เดือน จากการศึกษาเปรียบเทียบการซึมผ่านคราบของ 6-จินเจอร์อล จากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง และสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล โดยใช้อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว พบว่า นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง และสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล มีอัตราการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อลที่เวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.08 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่พัฒนาขึ้นสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสารสำคัญในสารสกัดขิงเข้าสู่ผิวหนังจึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ภายนอกสำหรับผิวหนัง

Thesis Title	Preparation of <i>Zingiber officinale</i> Extract Loaded Solid Lipid Nanoparticles
By	Miss Naphutsorn Ratcharin
Identification No.	524061
Degree	Master of Science (M.S.)
Major	Cosmetic Science
Academic Year	2011

ABSTRACT

Solid lipid nanoparticles (SLNs) which are well known as topical drug delivery systems, generally have a size ranges from 1-1000 nm. The entrapment of active compounds in SLNs has been widely reported to enhance their stability. The major component of ginger extract is 6-gingerol, it is unstable in the presence of air, light, heat and long-term storage. In this study, ginger extract loaded SLNs were developed by microemulsion technique. The nanoparticles were composed of stearic acid as solid lipids, Cremophor RH 40 as surfactant and ethanol as co-surfactant. The sizes measured by dynamic light scattering of SLNs were ranged from 453.10-551.70 nm. with acceptable size distribution (0.15-0.33). The entrapment efficiency and loading capacity of 6-gingerol determined by high performance liquid chromatography found to be in the range of 85.23-90.07% and 1.41-1.49%, respectively. Transmission electron microscopy revealed the spherical nature of the particles. The ginger extract loaded SLNs formulations showed good physical and chemical stabilities up to 3 months. The permeation of 6-gingerol from the ginger extract loaded SLNs was also investigated in comparison with the ginger extract in ethanolic solution, using the shed snake as a model membrane in Franz diffusion cell. It was found that the ginger extract loaded SLNs and ginger extract in ethanolic solution provided the flux of 6-gingerol at 24 hour, at 0.08 and 0.04 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, respectively. It can be concluded that the developed ginger extract loaded SLNs significantly enhance the permeation of the main compound in ginger extract through the skin and it is therefore suitable to use ginger extract loaded SLNs in the topical skin preparations.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาจาก อาจารย์ ดร.ปวีณา ว่องตระกูล เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.รัตนา อินทรานุกุลกรณ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และคณาจารย์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเกษตรที่ได้เอื้ออำนวยในการเบิกจ่าย อุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิตที่ให้โอกาสในการลาศึกษาพร้อมทั้งสนับสนุนทุนในการศึกษา

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดามารดาที่อบรมสั่งสอนและให้โอกาสในการเรียนรู้แก่ข้าพเจ้า สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้คำแนะนำแก่ข้าพเจ้าได้เป็นอย่างดีตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

นภัสสร ราชรินทร์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(1)
Abstract.....	(2)
กิตติกรรมประกาศ.....	(3)
สารบัญ.....	(4)
สารบัญตาราง.....	(8)
สารบัญแผนภูมิ.....	(10)
สารบัญภาพ.....	(11)
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.4 คำย่อหรือสัญลักษณ์.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
2. แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	6
2.1.1 การผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	8
1) การปั่นด้วยความเร็วสูงหรือการใช้คลื่นความถี่สูง.....	11
2) การปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันความดันสูง.....	11
3) เทคนิคไมโครอิมัลชัน.....	14
4) การทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย.....	14
2.1.2 การประเมินคุณลักษณะเฉพาะของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	15
1) การวัดขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีต้า.....	15
2) สัณฐานวิทยาของอนุภาค.....	16
3) สภาพเป็นผลึกและภาวะพหุสัณฐาน.....	17

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
2.1.3 การบรรจุสารสำคัญในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	18
2.1.4 การปลดปล่อยสารสำคัญจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	20
2.1.5 การประยุกต์ใช้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทางผิวหนัง.....	20
1) การเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ.....	21
2) การปกคลุมผิวหนัง.....	22
3) การทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นและยืดหยุ่น.....	24
4) การซึมผ่านผิวหนัง.....	25
5) การป้องกันรังสี UV (UV-blocker).....	25
2.2 คราบงู.....	26
2.3 จิง.....	27
2.4 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	32
3. ระเบียบวิธีการวิจัย	
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี.....	35
3.2 วิธีการศึกษาวิจัย.....	37
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจิง.....	37
3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดจิงด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง	38
1) การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	39
3.2.3 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	41
1) การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ.....	41
2) การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดจิง.....	43
3.2.4 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง บรรจุสารสกัดจิง.....	44
1) วัดขนาดอนุภาคและการกระจายขนาด.....	44
2) การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและ ค่าความจุในการกักเก็บ.....	44

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3) ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง.....	45
4) การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด..	45
3.2.5 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย.....	46
3.2.6 การศึกษาความคงตัว.....	47
3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	47
4. ผลการวิจัย	
4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิงด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง.....	48
4.1.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	48
4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิง.....	57
4.2 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิล ไกมันแข็ง.....	58
4.2.1 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิล ไกมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ.....	58
4.2.2 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิล ไกมันแข็งบรรจุสารสกัดจิง.....	60
4.3 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิล ไกมันแข็ง บรรจุสารสกัดจิง.....	61
4.3.1 ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค.....	61
4.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ และค่าความจุใน การกักเก็บ.....	62
4.3.3 ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง.....	62
4.3.4 การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด.....	63
4.4 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย.....	65
4.5 การศึกษาความคงตัว.....	68
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	71
5.2 อภิปรายผล.....	72

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5.2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	72
5.2.2 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็ง.....	72
5.2.3 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็ง บรรจุสารสกัดขิง.....	73
1) ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค.....	73
2) การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุ ในการกักเก็บ.....	74
3) ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง.....	74
4) การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด....	74
5.2.4 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย.....	75
5.2.5 การศึกษาความคงตัว.....	76
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	77
บรรณานุกรม.....	78
ภาคผนวก	
ผนวก ก. ข้อมูลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	86
ผนวก ข. ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันบรรจุสารสกัดขิง.....	89
ผนวก ค. ข้อมูลการกักเก็บสาร 6-จินเจอร์อล ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็ง บรรจุสารสกัดขิง.....	95
ผนวก ง. ข้อมูลการซึมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวหนังจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็ง บรรจุสารสกัดขิง.....	98
ประวัติผู้เขียน.....	103

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ไขมันและสารทำอิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	7
2.2 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	9
3.1 องค์ประกอบของภูมิภาคเคลื่อนที่แบบเกรเดียนต์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ 6-จินเจอร์อล ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง.....	39
3.2 ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ.....	42
3.3 ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญที่มี ส่วนผสมของกรดสเตียริก และครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับเอทานอล.....	42
4.1 ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล.....	52
4.2 ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืนของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิง.....	54
4.3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเที่ยงในวันเดียวกัน.....	55
4.4 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเที่ยงต่างวัน.....	56
4.5 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเที่ยงในวันเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล แตกต่างกัน.....	57
4.6 ลักษณะปรากฏทางกายภาพของ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ.....	59
4.7 ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ.....	60
4.8 ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดจิง.....	61
4.9 การกักเก็บและค่าความจุในการกักเก็บของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง บรรจุสารสกัดจิง.....	62
4.10 ข้อมูลเทอร์โมแกรม DSC ของ loaded-SLNs, unloaded-SLNs สารสกัดจิง และกรดสเตียริก.....	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.11 พารามิเตอร์ของการซึมผ่านผิวของความสัมพันธ์ ระหว่างเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล.....	68
4.12 ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส ต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง.....	69
4.13 ผลของอุณหภูมิที่ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส ต่อความคงตัว ทางเคมีของ 6-จินเจอร์อล ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง.....	70

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
2.1 การผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกัน อุณหภูมิต่ำและสูง.....	13
2.2 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	34



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 รูปแบบการบรรจุสารสำคัญในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	19
2.2 การแลกเปลี่ยนสารสำคัญที่อยู่ในวัฏภาคที่ชอบไขมันกับวัฏภาคน้ำ.....	22
2.3 ผลการปกคลุมผิวของนาโนพาร์ทิเคิลเปรียบเทียบกับไมโครพาร์ทิเคิล.....	23
2.4 เหน้่าจิง.....	27
2.5 โครงสร้างทางเคมีของ 6-จินเจอร์อล.....	28
4.1 สเปกตรัมสามมิติภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอคอะเรย์ ของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร.....	49
4.2 สเปกตรัมมุมมองจากด้านบนภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอคอะเรย์ ของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร.....	49
4.3 สเปกตรัมสามมิติภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอคอะเรย์ ของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิง ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร.....	50
4.4 สเปกตรัมมุมมองจากด้านบนภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอคอะเรย์ ของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิง ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร.....	50
4.5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล.....	51
4.6 โครมาโทแกรมของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจิง.....	51
4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล กับพื้นที่ได้ฟีก.....	53
4.8 ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง.....	59
4.9 TEM ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งบรรจุสารสกัดจิงสูตรตำรับ SLNs-2.....	63
4.10 เทอร์โมแกรมจาก DSC ของ loaded-SLNs, unloaded-SLNs สารสกัดจิง และ กรดสตีริก.....	65
4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล.....	67
4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล...	67

บทที่ 1

บทนำ

1. 1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Solid lipid nanoparticle; SLNs) ถูกเสนอให้เป็นตัวพา (carrier) ที่เป็นทางเลือกใหม่ของอนุภาคในระดับคอลลอยด์นอกเหนือไปจากอนุภาคในรูปแบบเดิม เช่น อิมัลชัน (emulsions) ลิโปโซม (liposomes) และ นาโนพาร์ทิเคิลที่เป็นพอลิเมอร์ (polymeric nanoparticles) นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเตรียมได้จากไขมันแข็งที่สามารถย่อยสลายและเข้ากันได้กับร่างกายและมีวิธีการเตรียมที่ทำได้ง่าย ปัจจุบันมีการศึกษาการนำนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเป็นตัวพาในการนำส่งสารสำคัญทางผิวหนังทั้งทางด้านเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง (Müller, et al. 2002) เนื่องจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีข้อดีหลายประการที่แตกต่างจากนาโนอิมัลชัน และ ลิโปโซม เช่น ป้องกันสารสำคัญที่เสื่อมสลายง่ายได้ดีเนื่องจากมีเมทริกซ์แข็งที่กักเก็บสารสำคัญ มีความเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญแบบควบคุม (controlled drug release) (Müller, et al. 2002, You, et al. 2007, Mehnert and Mäder. 2001) ทั้งยังสามารถเกิดการปกคลุมผิว ส่งเสริมการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนัง ทำหน้าที่เป็นสารป้องกันแสงแดดทางกายภาพ (Müller, et al. 2002, Lui, et al. 2007) นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถบรรจุสารสำคัญได้มาก สามารถกักเก็บได้ทั้งสารที่ชอบน้ำมันและชอบน้ำ จากการรายงานของ Lv และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษา การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุเพนซิโคลเวียร์ (penciclovir) ซึ่งเป็นสารที่ชอบน้ำ ผลการทดลอง พบว่า เพนซิโคลเวียร์ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งได้ถึงร้อยละ 92.40 นอกจากนี้ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่มีชีวพิษ (biotoxicity) อีกทั้งยังหลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการผลิตด้วยการใช้เครื่องมือ เช่น เครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง (Pardeike, et al. 2009) และง่ายต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (Mehnert and Mäder. 2001, Liu, et al. 2007)

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการนำสารสำคัญบรรจุไว้ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น อาทิเช่น การเปรียบเทียบผลต่อผิวหนังของครีมพื้นที่มีวิตามินเอ

ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งกับวิตามินเอทั่วไป พบว่า วิตามินเอช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้ร้อยละ 23.00 ในขณะที่ครีมพื้นที่มีวิตามินเอถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้ถึงร้อยละ 33.00 เมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังที่ไม่ทาตัวอย่าง (untreated skin) (Müller, et al. 2000) จากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของไอโซเตรติโนอิน (isotretinoin) ที่บรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่า ไอโซเตรติโนอินไม่ซึมผ่านผิวขณะที่พบ ไอโซเตรติโนอินซึมผ่านผิวจากตำรับทิงเจอร์ (tincture) ที่ใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การบรรจุไอโซเตรติโนอินในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทำให้ ไอโซเตรติโนอินไม่เกิดการซึมผ่านผิวซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงทั่วร่างกาย (Liu, et al. 2007) และการศึกษาการเพิ่มความคงตัวให้กับเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) โดยการบรรจุเคอร์คิวมินอยด์ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่า เคอร์คิวมินอยด์มีความคงตัวต่อแสงมากขึ้น (Tiyaboonchai, et al. 2007) เป็นต้น สารสำคัญอีกชนิดหนึ่ง คือ สารสกัดขิง พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบที่แรง (Chrubasik, et al. 2005, Stoilova, et al. 2007, Ali, et al. 2008, Lee, et al. 2009, Sanwal, et al. 2010) ปัจจุบันสารสกัดขิงได้รับความนิยมนำมาเป็นส่วนผสมในตำรับทางเครื่องสำอาง ซึ่งมีคุณสมบัติในการชะลอวัย ทำให้ผิวแลดูอ่อนเยาว์ ยืดหยุ่น ตึงกระชับ สารสกัดขิงแยกได้จากเหง้าขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันขันทิง (oleoresin) และน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) (Wang, et al. 2009) น้ำมันขันทิงเป็นสารประกอบที่มีกลิ่นฉุน เผ็ดร้อน สารสำคัญในน้ำมันขันทิง คือ จินเจอร์อล (gingerol) โดยสารประกอบที่มีปริมาณมากที่สุด คือ 6-จินเจอร์อล (Lee, et al. 2009) อย่างไรก็ตาม จินเจอร์อล เป็นสารประกอบที่ไม่คงตัวต่อแสง ความร้อน อากาศ และการเก็บรักษา (Hawlder, et al. 2006, Bhattarai, et al. 2007) ดังนั้น การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีระบบนำส่งนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจึงน่าจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้สารสำคัญมีความคงตัวทางเคมีมากขึ้น

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญซึ่งสามารถช่วยยืดระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของสารสำคัญ ช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญและเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิว การวิจัยนี้จึงเป็นประโยชน์ในการพัฒนาตำรับทางเครื่องสำอางให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เพื่อเพิ่มมูลค่าให้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน
2. เพื่อศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมต่อการประเมินคุณลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
3. เพื่อศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
4. เพื่อศึกษาความคงตัวของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. สกัดสารสำคัญจากขิงโดยวิธีการหมักด้วยอะซิโตนโดยใช้เครื่องคนผสมชนิดแม่เหล็ก (magnetic stirrer)
2. สารสำคัญในสารสกัดขิงที่ทำการศึกษาคือ 6-จินเจอร์อล
3. วิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิงด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC)
4. เตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน
 - 4.1 เตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ
 - 4.2 เตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
5. ประเมินคุณลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
 - 5.1 วัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic Light Scattering ; DLS) โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Delsa™ Nano C)
 - 5.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

5.3 ตรวจสอบลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscopy, TEM)

5.4 การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด (Differential Scanning Calorimetry ; DSC)

6. ศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย

7. ศึกษาความคงตัวของทางกายภาพและเคมีที่อุณหภูมิ 4 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน

1.4 คำย่อหรือสัญลักษณ์

ppm	ส่วนในล้านส่วน
%w/w	ร้อยละน้ำหนักต่อน้ำหนัก
%w/v	ร้อยละน้ำหนักต่อปริมาตร
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
HPLC	โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
TEM	กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน
DSC	การวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด
DPPH [•]	อนุมูลดีฟีพีเอช (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)
%EE	ร้อยละประสิทธิภาพในการกักเก็บ
%LC	ร้อยละค่าความจุในการกักเก็บ
nm	นาโนเมตร
PI	โพลีดีสเพอร์ซิวิตี อินเดกซ์ (polydispersity index)
IC ₅₀	เป็นค่าความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งปฏิกิริยาได้ร้อยละ 50
n	จำนวนครั้ง
mean	ค่าเฉลี่ย
SD	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
%RSD	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
t _R	รีเทนชันไทม์ (retention time)
peak area	พื้นที่ใต้พีค

%	ร้อยละ
$\mu\text{g/mL}$	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
$\square\text{C}$	องศาเซลเซียส
%C	ร้อยละสภาพเป็นผลึก
$\mu\text{g/cm}^2$	ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร
$\mu\text{g/cm}^2/\text{h}$	ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อชั่วโมง
r^2	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชันได้
2. ทราบคุณลักษณะเฉพาะทางเคมีกายภาพ และความคงตัวของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
3. สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาระบบนำส่งสารสำคัญอื่นๆ ทางเครื่องสำอางได้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเรื่องการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงนั้น ผู้วิจัยได้ค้นคว้ารายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับทฤษฎี แนวคิดต่างๆ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องสามารถสรุปได้ดังนี้

2.1 นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2.1.1 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2.1.2 การประเมินคุณลักษณะเฉพาะของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2.1.3 การบรรจุสารสำคัญในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2.1.4 การปลดปล่อยสารสำคัญจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

2.1.5 การประยุกต์ใช้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทางผิวหนัง

2.2 ความเป็นพิษ

2.3 ขิง

2.4 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย

2.1 นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 1-1,000 นาโนเมตร เริ่มพัฒนาในปี ค.ศ. 1990 ถูกเสนอให้เป็นตัวพา ที่เป็นทางเลือกใหม่ของอนุภาคในระดับคอลลอยด์ นอกเหนือไปจากอนุภาคในรูปแบบเดิม เช่น อิมัลชัน ลิโปโซม และ นาโนพาร์ทิเคิลที่เป็นพอลิเมอร์ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งพัฒนาขึ้นจากอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ โดยการแทนที่ไขมันที่เป็นของเหลว (น้ำมัน) ด้วยไขมันแข็ง โดยเฉพาะชนิดที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิของร่างกาย (Müller, et al. 2002) สามารถเตรียมได้จากองค์ประกอบที่ประกอบด้วยไขมันแข็ง (solid lipids) สารทำอิมัลชัน (emulsifiers) และน้ำ ไขมันแข็งที่ใช้ในการเตรียม ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) เช่น ไตรสเตียรีน (tristearin) พาร์ทเซียลกลีเซอไรด์ (partial glycerides) เช่น อิมิเตอร์

(Imwitor) กรดไขมัน (fatty acids) เช่น กรดสเตียริก (stearic acid) สเตอรอยด์ (steroids) เช่น คอเลสเตอรอล (cholesterol) และแว็กซ์ (waxes) เช่น ซิทิลปาล์มิเตท (cetyl palmitate) สารทำอิมัลชันทุกประเภทสามารถนำมาใช้ในการทำให้เกิดความคงตัวของอนุภาคไขมัน การใช้สารทำอิมัลชันหลายชนิดร่วมกันอาจป้องกันการรวมตัวกันเป็นก้อนของอนุภาคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Mehnert and Mäder. 2001) สารประกอบที่ใช้ทั่วไปในการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ดังแสดงในตารางที่ 2.1 (Mehnert and Mäder. 2001)

ตารางที่ 2.1

ไขมันและสารทำอิมัลชันที่ใช้ในการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

Solid lipids	Emulsifiers /co-emulsifiers
Triglycerides	Soybean lecithin
Tricaprin	Egg lecithin
Trilaurin	Phosphatidylcholine
Trimyristin	Poloxamer 188
Tripalmitin	Poloxamer 182
Tristearin	Poloxamer 407
Hydrogenated coco-glycerides	Poloxamine 908
Hard fat types	Tyloxapol
Witepsol [®] W 35	Polysorbate 20
Witepsol [®] H 35	Polysorbate 60
Witepsol [®] H 42	Polysorbate 80
Witepsol [®] E 85	Sodium cholate
Glyceryl monostearate	Sodium glycocholate
Glyceryl behenate	Taurocholic acid sodium salt
Glyceryl palmitostearate	Taurodeoxycholic acid sodium salt

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Solid lipids	Emulsifiers /co-emulsifiers
Stearic acid	Butanol
Palmitic acid	Butyric acid
Decanoic acid	Dioctyl sodium sulfosuccinate
Behenic acid	Monooctylphosphoric acid sodium

ที่มา : Mehnert and Mäder. 2001.

2.1.1 การเตรียมนานพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

การเตรียมนานพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น การปั่นด้วยความเร็วสูงและหรือการใช้คลื่นความถี่สูง (high shear homogenization and/or ultrasound) การปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง (high pressure homogenization ; HPH) เทคนิคไมโครอิมัลชัน (microemulsion technique) การทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย (solvent emulsification and evaporation) การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธีดังแสดงในตารางที่

2.2 (Veerawat Teeranachaideekul. 2008)

ตารางที่ 2.2

การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

วิธีการผลิต	ข้อดี	ข้อเสีย
1. การปั่นด้วยความเร็วสูง หรือการใช้คลื่นความถี่สูง (High shear homogenization and ultrasound)	1. เครื่องมือที่ใช้เป็นเครื่องมือที่ มีอยู่แล้วทั่วไปใน ห้องปฏิบัติการ 2. ง่ายต่อการผลิต	1. ต้องใช้เวลาในการให้คลื่น ความถี่สูงเป็นเวลานาน อาจ เกิดการปนเปื้อนของโลหะจาก การใช้หัวโพรบ (probe) 2. ไขมันต่างชนิดกันต้องใช้ กระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน 3. ทำให้ได้ไมโครพาร์ทิเคิลติด มาด้วย
2. เทคนิคการปั่นผสมเป็นเนื้อ เดียวกันอุณหภูมิสูง (Hot homogenization techniques)	1. ได้อนุภาคขนาดเล็กและมีค่า การกระจายขนาดที่แคบ 2. สามารถผลิตได้ในปริมาณ สูง 3. มีความสม่ำเสมอในการผลิต (reproducibility) 4. ง่ายต่อการขยายการผลิต 5. สามารถทำให้ได้อนุภาคที่มี การปลดปล่อยจับปล้น (burst release) และตามด้วยการ ปลดปล่อยแบบเนิ่นนาน (sustained release)	1. ไม่เหมาะสมกับตัวยาที่ไม่ ทนความร้อน 2. อาจทำให้เกิดสภาวะ ของเหลวที่เย็นอย่างยิ่งยวด (supercooled melt) ในไขมัน บางชนิด เช่น Dynasan 114 หลังการผลิต 3. กักเก็บสารสำคัญที่ชอบน้ำ ได้ต่ำ

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

วิธีการผลิต	ข้อดี	ข้อเสีย
3.เทคนิคการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันอุณหภูมิต่ำ (Cold homogenization techniques)	<ol style="list-style-type: none"> 1. เหมาะสมกับสารสำคัญที่ไม่ทนความร้อน 2. สามารถกักเก็บสารสำคัญที่ชอบน้ำได้ 3. หลีกเลี่ยงความซับซ้อนในขั้นตอนการตกผลึกนาโนอิมัลชันที่จะนำไปสู่การเกิดสถานะของเหลวที่เย็นอย่างยิ่งยวด (supercooled melt) 4. สามารถทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญที่กักเก็บแบบเนิ่นนาน 	<ol style="list-style-type: none"> 1. มีขั้นตอนการผลิตหลายขั้นตอน 2. ทำให้ได้อนุภาคขนาดใหญ่และมีการกระจายขนาดที่กว้าง 3. อาจทำให้ได้ไมโครพาร์ทิเคิลติดมาด้วย
4. เทคนิคไมโครอิมัลชัน (Microemulsion technique)	<ol style="list-style-type: none"> 1. เป็นไปได้ต่อการผลิตปริมาณมาก 2. ไม่ต้องใช้พลังงาน 3. กักเก็บได้ทั้งสารที่ชอบน้ำและชอบไขมัน 4. ใช้เครื่องมือธรรมดาทั่วไปในการผลิต 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ต้องใช้สารทำอิมัลชันในปริมาณสูง 2. อาจทำให้ได้ปริมาณไขมันจำนวนน้อย เนื่องจากต้องทำการเจือจางระหว่างการผลิต

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

วิธีการผลิต	ข้อดี	ข้อเสีย
5. การทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย (Solvent emulsification and evaporation)	1. ได้อนุภาคขนาดเล็ก 2. หลีกเลี่ยงการใช้ความร้อน	1. การตกค้างของตัวทำละลายอินทรีย์ 2. มีข้อจำกัดเรื่องขนาดการผลิต

ที่มา : Veerawat Teeranachaideekul. 2008.

1) การปั่นด้วยความเร็วสูงและ/หรือการใช้คลื่นความถี่สูง

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยการปั่นด้วยความเร็วสูงและ/หรือการใช้คลื่นความถี่สูง ให้อิมัลชันไขมันแข็งแล้วกระจายลงในสารละลายน้ำของสารลดแรงตึงผิวที่ร้อนและตามด้วยการปั่นด้วยความเร็วสูงหรือการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง วิธีนี้เป็นวิธีที่เตรียมได้ง่าย ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการทั่วไป (Mehnert and Mäder. 2001) แต่ปัญหาที่เกิดขึ้น คือ ได้อนุภาคที่มีการกระจายขนาดที่กว้างไปจนถึงช่วงไมโครเมตร ทำให้เกิดความไม่คงตัวทางกายภาพ เช่น อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นระหว่างการเก็บ ซึ่งอาจป้องกันได้ด้วยการใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้นสูงแต่อาจทำให้เกิดปัญหาเรื่องความเป็นพิษหากนำไปใช้กับการให้ยาโดยการฉีด ข้อเสียคือเกิดการปนเปื้อนของโลหะจากการใช้หัวโพรบ (probe) ของเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง

ในการเพิ่มความคงตัว อาจใช้วิธีการปั่นความเร็วสูงร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูงที่อุณหภูมิสูง เพื่อทำได้อนุภาคที่มีความคงตัวทางกายภาพดีขึ้นและมีการกระจายขนาดแคบแต่อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ใช้ความเข้มข้นของไขมันค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 1.00) และความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวค่อนข้างสูง (Wissing, et al. 2004)

2) การปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง

การเตรียมด้วยวิธีการปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูงนี้สามารถเตรียมได้สองแนวทางคือ เทคนิคการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำและสูง ขึ้นกับชนิดของสารสำคัญที่กักเก็บ (Müller, et al. 2000, Müller, et al. 2002) หลักการของวิธีการปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ด้วยความดันสูงคือ การลดขนาดอนุภาคด้วยการทำให้สารผ่านช่องแคบ (cavitation) และการทำให้ปั่นป่วน (turbulences) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมวิธีนี้ได้แก่ ประเภทเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ความดัน จำนวนรอบ และอุณหภูมิ วิธีการปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูงทั้งสองวิธีสามารถใช้เตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ความเข้มข้นของไขมันสูงถึงร้อยละ 40.00 และได้อนุภาคที่มีการกระจายขนาดอนุภาคที่แคบมาก โดยมีค่า PI น้อยกว่า 0.20 (Wissing, et al. 2004) ภาพที่ 2.1 แผนภูมิการผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันอุณหภูมิต่ำและสูง (Mehnert and Mäder. 2001)

2.1) เทคนิคการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิสูง

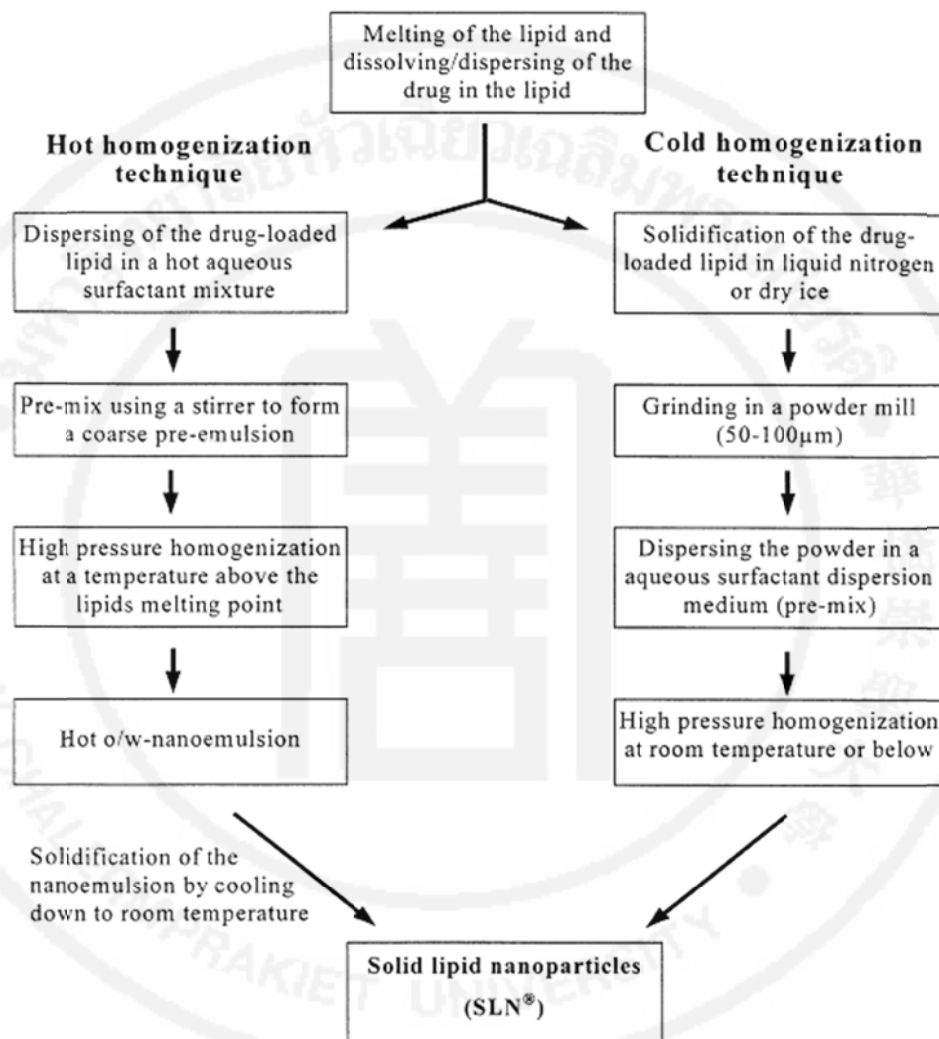
การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิสูงเริ่มจากการหลอมไขมันโดยใช้อุณหภูมิสูงกว่าจุดหลอมเหลวของไขมันประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสำคัญมาละลายในไขมันที่หลอมและผสมเข้ากับสารละลายน้ำของสารลดแรงตึงผิวที่อุณหภูมิเดียวกัน ปั่นด้วยความเร็วสูงจนเกิดเป็นอิมัลชันเริ่มต้น (pre-emulsion) ที่ร้อนแล้วนำไปผ่านเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันความดันสูงที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดหลอมเหลวของไขมันโดยทั่วไปใช้ความดันที่ 500-1500 บาร์ จำนวน 3 รอบ หรือ 800 บาร์ จำนวน 2 รอบ จนได้เป็นนาโนอิมัลชัน เมื่อนาโนอิมัลชันถูกทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิต่ำหรือต่ำกว่า ไขมันจะตกผลึก (recrystallization) จนได้เป็นนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Pardeike, et al. 2009)

2.2) เทคนิคการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำ

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับสารสำคัญที่ละลายได้ง่ายหรือที่ชอบน้ำ โดยเริ่มจากการหลอมไขมันและสารสำคัญเข้าด้วยกันและทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว โดยใช้น้ำแข็งแห้ง (dry ice) หรือไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) จากนั้นนำไปผ่านการย่อยขนาดจนได้ไมโครพาร์ทิเคิล (microparticle) ที่มีขนาดในช่วง 50-100 ไมครอน นำไมโครพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไปกระจายตัวในสารละลายน้ำของสารลดแรงตึงผิวที่เย็นจัด จากนั้นนำไปผ่านเครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันความดันสูงที่อุณหภูมิต่ำหรือต่ำกว่าอุณหภูมิต่ำ โดยใช้ความดันที่ 1500 บาร์ จำนวน 5-10 รอบ จนได้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Pardeike, et al. 2009) ดังแสดงตามแผนภูมิที่ 2.1

แผนภูมิที่ 2.1

การผลิตนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันอุณหภูมิต่ำและสูง



ที่มา : Mehnert and Mäder. 2001.

3) เทคนิคไมโครอิมัลชัน

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน หลอมไขมันแข็งประมาณร้อยละ 10.00 ที่อุณหภูมิ 60-75 องศาเซลเซียส ผสมกับสารลดแรงตึงผิวร้อยละ 15.00 และสารลดแรงตึงผิวร่วมร้อยละ 10.00 และน้ำ ที่อุณหภูมิเดียวกันแล้วผสมจะได้สารละลายไมโครอิมัลชันใส จากนั้นนำไมโครอิมัลชันใสนี้ไปกระจายในน้ำเย็นอุณหภูมิประมาณ 2-3 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนของไมโครอิมัลชันกับน้ำเย็นเท่ากับ 1:20 หรือ 1:50 พร้อมการปั่นตลอดเวลา จากนั้นกำจัดปริมาณน้ำจำนวนมากนี้ด้วยวิธีการกรองละเอียดเข้มข้น (ultrafiltration) หรือด้วยการทำให้แห้งเยือกแข็ง (lyophilization) เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของอนุภาคเพิ่มขึ้น (Mehnert and Mäder. 2001, Wissing, et al. 2004)

ปัจจัยในการผลิต เช่น ส่วนผสมของไมโครอิมัลชัน เครื่องมือที่ใช้กระจายอนุภาค และการทำให้แห้งเยือกแข็ง ต่อขนาดและโครงสร้างของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ได้ นั้นมีการศึกษาเป็นจำนวนมาก ข้อสังเกตที่สำคัญคือการกำจัดปริมาณน้ำจำนวนมากเป็นเรื่องยุ่งยากเนื่องจากอนุภาคที่ได้มีขนาดเล็กมาก นอกจากนี้วิธีนี้ต้องใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม เช่น บิวทานอล (butanol) ปริมาณสูงในการผลิต ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการในการนำไปประยุกต์ใช้ (Wissing, et al. 2004)

4) การทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งโดยวิธีนี้ ให้ละลายไขมันในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่เข้ากับน้ำ เช่น โทลูอีน (toluene) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) เติมลงในสารละลายน้ำจนเกิดเป็นอิมัลชัน แล้วระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะการลดความดัน ระหว่างการระเหยตัวทำละลาย ไขมันจะตกตะกอนออกมาจนได้เป็นนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ข้อดีของวิธีนี้คือไม่ใช้ความร้อนในระหว่างการเตรียม จึงมีความเหมาะสมในการกักเก็บสารสำคัญที่สลายตัวง่าย แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นคืออาจเกิดการตกค้างของตัวทำละลายอินทรีย์ Sjöström และคณะ (1992) พบว่าการตกค้างของโทลูอีน มีค่าประมาณ 20-100 ppm ในสารแขวนลอยสุดท้าย และสารแขวนลอยที่ได้มีความเจือจางเนื่องจากขีดการละลายของไขมันในตัวทำละลายอินทรีย์มีค่าจำกัด โดยทั่วไปความเข้มข้นของไขมันในสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ได้มีค่าประมาณ 0.10 กรัมต่อลิตร ดังนั้นต้องทำให้ความเข้มข้นของอนุภาคเพิ่มขึ้น เช่น การกรองละเอียดเข้มข้นหรือการระเหย

ในวิธีการทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหยนี้อาจใช้ตัวทำละลายที่เข้ากับน้ำได้บ้าง ตัวอย่างเช่น เบนซิลแอลกอฮอล์ (benzyl alcohol) และเอทิลฟอร์มेट (ethyl formate) โดยเริ่มด้วยการทำให้ตัวทำละลายอิมัลชันในตัวน้ำเพื่อให้เกิดภาวะสมดุลทางเทอร์โมไดนามิกระหว่างของเหลวทั้งสอง จากนั้นละลายไขมันลงในตัวทำละลายที่อิมัลชันด้วยน้ำ แล้วนำไปทำการอิมัลซิไฟด์ด้วยสารละลายน้ำของสารลดแรงตึงผิวที่อิมัลชันด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูง นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจะตกตะกอนเมื่อเติมลงในน้ำปริมาณมาก (โดยทั่วไปใช้อัตราส่วน 1:5-1:10) เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์แพร่ออกจากหยดอิมัลชันออกไปสู่สภาพภายนอก สารแขวนลอยที่ได้จากวิธีนี้ค่อนข้างเจือจาง จำเป็นต้องทำให้เข้มข้นด้วยการกรองละเอียดยิ่งยวดหรือการทำให้แห้งเยือกแข็ง ขนาดอนุภาคเฉลี่ยที่ได้มีค่าประมาณ 100 นาโนเมตร และมีการกระจายขนาดค่อนข้างแคบ (Wissing, et al. 2004)

2.1.2 การประเมินคุณลักษณะเฉพาะของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

การประเมินลักษณะเฉพาะ (characterization) ของสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเป็นสิ่งจำเป็นต่อการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คุณลักษณะที่ส่งผลต่อความคงตัวของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ควรทำการตรวจสอบ (Müller, et al. 2000, Mehnert and Mäder. 2001) ได้แก่

1. ขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีต้า (zeta potential)
2. ดัชนีการตกผลึก (degree of crystallinity) และการเปลี่ยนรูปแบบไขมัน (lipid modification)
3. การตรวจสอบคอลลอยด์อื่น เช่น ไมเซลล์ ลิโปโซม ของเหลวสถานะเย็นอย่างยิ่งยวด (supercooled melts) และการเปลี่ยนแปลงการกระจายขนาดของอนุภาคต่อเวลา

1) การวัดขนาดอนุภาคและศักย์ไฟฟ้าซีต้า

สำหรับวิธีการวัดขนาดอนุภาค นิยมใช้วิธีโพตอนคอร์รีเลชันสเปกโทรสโกปี (Photon Correlation Spectroscopy ; PCS) และการเลี้ยวเบนของแสงเลเซอร์ (Laser Diffraction ; LD)

วิธีโฟตอนคอร์รีเลชันสเปกโทรสโกปี (PCS) หรือการกระเจิงแสงแบบพลวัต (Dynamic Light Scattering ; DLS) เป็นการวัดการขึ้นลงของ (fluctuation) ของความเข้มแสงที่กระเจิง (scattered light) ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนที่ของอนุภาค วิธีนี้สามารถวัดขนาดในช่วงนาโนเมตรถึง 3 ไมครอน จึงสามารถวัดขนาดของนาโนพาร์ทิเคิลได้ แต่ไม่สามารถวัดอนุภาคขนาดใหญ่ได้

การเลี้ยวเบนของแสงเลเซอร์ (LD) เป็นวิธีที่ขึ้นกับมุมเลี้ยวเบน (diffraction angle) ของรัศมีของอนุภาค ซึ่งอนุภาคขนาดเล็กเกิดการกระจายแสงมากกว่าที่มุมกว้างเมื่อเทียบกับอนุภาคขนาดใหญ่ ข้อดีของ LD คือสามารถตรวจสอบอนุภาคขนาดในช่วงนาโนเมตรถึงมิลลิเมตร การพัฒนาเทคโนโลยีพีไอดีเอส (Polarize Intensity Differential Scattering ; PIDS) เป็นการช่วยเพิ่มความไวของการใช้ LD ในการวัดอนุภาคขนาดเล็ก (Mehnert and Mäder. 2001, Müller, et al. 2000)

การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าในการทำนายความคงตัวทางกายภาพของระบบคอลลอยด์ ประจุที่ผิวของอนุภาคเกิดขึ้นจากกลุ่มที่แตกตัวที่ผิวหรือการดูดซับไอออนที่ผิวของอนุภาค อย่างไรก็ตาม การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าไม่ใช่การวัดค่าประจุที่ผิวของอนุภาคแต่เป็นการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าที่แนวระนาบ (Shear plane) (Mehnert and Mäder. 2001, Müller, et al. 2000) โดยทั่วไปค่าศักย์ไฟฟ้าซีต้าค่าที่สูงมากกว่า 60 มิลลิโวลต์และมากกว่า 30 มิลลิโวลต์ แสดงว่า ระบบมีความคงตัวทางกายภาพดี ค่าระหว่าง 5 และ 15 มิลลิโวลต์ อยู่ในช่วงจำกัดของการจับกันเป็นก้อนของอนุภาค ค่าระหว่าง 5 และ 3 มิลลิโวลต์ อยู่ในช่วงการจับกันเป็นก้อนของอนุภาคมากที่สุด (Heurtault, et al. 2003)

2) ลักษณะวิทยาของอนุภาค

การตรวจสอบลักษณะรูปร่างอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ทำได้ด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดต่างๆ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope ; TEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอม (Atom Force Microscope ; AFM) ภาพถ่ายที่ได้จากวิธีการดังกล่าวนี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลโดยตรงในการตรวจสอบรูปร่างและขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ใช้ตรวจสอบรูปร่างและขนาดอนุภาค ต้องทำให้สารตัวอย่างแห้ง แล้วเคลือบด้วยชั้นที่มีการนำไฟฟ้า (conductive layer) เช่น ทอง ก่อนการ

ตรวจสอบ ดังนั้น อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของอนุภาคได้ ในระหว่าง การตรวจสอบ สารตัวอย่างจะถูกส่งผ่านด้วยลำแสงอิเล็กตรอน และทำการตรวจหาอิเล็กตรอน ทูติยุมิที่จ่ายแสง ออกมาจากสารตัวอย่าง ทำให้ได้ภาพถ่ายสามมิติของสารตัวอย่าง

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ทำให้ได้ภาพถ่ายสองมิติ ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีอื่น ในการตรวจสอบสัณฐานของอนุภาคร่วมด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ประกอบด้วยเทคนิคหลายอย่างร่วมกัน เช่น ย้อมสี (staining) เทคนิคการตัดตัวอย่างภายใต้อุณหภูมิต่ำที่เย็นจัด (freeze fracture) และกล้องจุลทรรศน์แบบครายโออิเล็กตรอน (Cryoelectron Microscope) สำหรับเทคนิคการย้อมสี นิยมใช้สารโลหะหนัก เช่น ยูรานิลอะซิเตต (uranyl acetate) และกรด ฟอสฟอรัส (phosphotungstic acid) เป็นอนุภาคสีย้อม ในขั้นตอนการย้อมสีอาจทำให้เกิดสิ่ง แปรปกน (artifacts) ได้ เช่น การเปลี่ยนรูปร่างของอนุภาคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ไขมันระหว่างการย้อม ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการตรวจสอบด้วยเทคนิคการตัดตัวอย่าง ภายใต้อุณหภูมิต่ำที่เย็นจัด วิธีนี้ทำให้ได้ข้อมูลทั้งรูปร่าง ขนาด และ โครงสร้างภายในอนุภาค อีก เทคนิคคือกล้องจุลทรรศน์แบบครายโออิเล็กตรอน เป็นการทำให้ตัวอย่างอยู่ในสภาพเยือกแข็งและ ทำการตรวจสอบโดยตรงโดยไม่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่าง

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอม หรือกล้องจุลทรรศน์แบบแรงส่องกราด (Scanning Force Microscopy; SFM) เป็นการบันทึกแรงดูดและแรงผลักที่เกิดขึ้นจากปลายแหลม (tip) ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอมกับพื้นผิวตัวอย่าง ได้ข้อมูลที่เป็นภาพสามมิติ วิธีนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจสอบขนาดอนุภาค รูปร่าง เนื่องจากมีการแยก (resolution) รายละเอียดของภาพสูงถึง 0.01 นาโนเมตร โดยทั่วไปกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรงอะตอม แบ่งเป็น 2 วิธี คือ แบบสัมผัส (contact) และ ไม่สัมผัส (non-contact) สำหรับวิธีสัมผัสอาจทำให้เกิด การเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นผิวเนื่องจากการสัมผัสของปลายแหลมและผิวตัวอย่าง ซึ่งแก้ไขได้ โดยการใช่วิธีแบบไม่สัมผัส (Veerawat Teeranachaiideekul. 2008)

3) สภาพเป็นผลึกและภาวะพหุสัณฐาน

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่เตรียมจากไขมันแข็ง สามารถเกิดการตกผลึกหลังการเตรียมอยู่ ในรูปของผลึกอสัณฐาน (amorphous) ดังนั้น โมเลกุลของสารสำคัญจะสามารถเข้าไปอยู่ใน โครงสร้างไขมัน นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บ

(Han, et al. 2008) ในระหว่างการเก็บรักษาโครงสร้างภายในของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความไม่คงตัวของเทอร์โมไดนามิกซึ่งมีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนจากผลึกอสัณฐานไปเป็นผลึกที่มีการจัดเรียงโครงสร้างภายในแน่นขึ้นจะส่งผลให้เกิดการผลึกสารสำคัญออกมา ทั้งนี้เนื่องจากมีช่องว่างที่จะรองรับสารสำคัญได้น้อยลง ดังนั้น การตรวจสอบการเปลี่ยนรูปแบบไขมันด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด (Differential Scanning Calorimetry ; DSC) และการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction) เป็นวิธีที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง เพื่อเฝ้าสังเกตการเปลี่ยนแปลงรูปแบบไขมันหลังการเตรียมและระหว่างการเก็บรักษา

การวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด เป็นเทคนิคที่ใช้ในการประเมินความแตกต่างของความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างธาตุอย่างและธาตุอ้างอิง ข้อมูลที่ได้จากการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด จะใช้ประเมินการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ทำการศึกษา ได้แก่ จุดหลอมเหลว (melting point) เอนทาลปี (enthalpy) สภาพเป็นผลึก (crystallinity) และ ภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) เป็นต้น

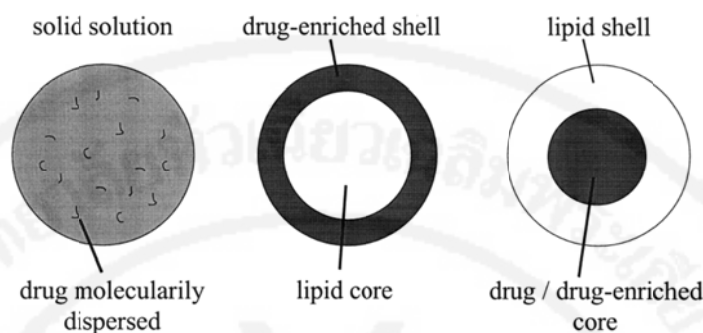
การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนรูปแบบไขมัน ข้อมูลจากการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์จะแสดงโครงสร้างผลึกของสาร โดยทั่วไปเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์มี 2 เทคนิค ได้แก่ การกระเจิงรังสีเอ็กซ์มุมเล็ก (SAXS) และมุมกว้าง (WAXS) (Veerawat Teeranachaiideekul. 2008, วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. 2552)

2.1.3 การบรรจุสารสำคัญในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

การบรรจุสารสำคัญมี 3 รูปแบบ (Müller, et al. 2000, Müller, et al. 2002) ดังภาพที่ 2.1 ได้แก่ รูปแบบเมทริกซ์เนื้อเดียวกัน (homogeneous matrix model) รูปแบบสารสำคัญเข้มข้นที่เปลือก (drug-enriched shell model) และ รูปแบบสารสำคัญเข้มข้นที่แกนกลาง (drug-enriched core model) การเกิดเป็นนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งรูปแบบใด ขึ้นกับส่วนประกอบของสูตร ได้แก่ ไขมัน สารสำคัญ สารลดแรงตึงผิว และวิธีการผลิต

ภาพที่ 2.1

รูปแบบการบรรจุสารสำคัญในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง



ที่มา : Müller, et al. 2000.

1) รูปแบบเมทริกซ์เนื้อเดียวกัน (Homogeneous matrix model)

เป็นรูปแบบที่โมเลกุลของสารสำคัญกระจายทั่วทั้งเมทริกซ์ของแข็ง ซึ่งได้จากการเตรียมด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำหรือเมื่อการบรรจุสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำมันมากในการเตรียมด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิสูง ซึ่งไขมันและสารสำคัญไม่เกิดการแยกชั้นในระหว่างขั้นตอนการทำให้เย็นตัว

2) รูปแบบสารสำคัญเข้มข้นที่เปลือก (Drug-enriched shell model)

จะเกิดขึ้นเมื่อไขมันเกิดการตกผลึกก่อนสารสำคัญ ซึ่งรูปแบบนี้จะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญอย่างฉับพลัน (burst release)

3) รูปแบบสารสำคัญเข้มข้นที่แกนกลาง (Drug-enriched core model)

จะเกิดขึ้นเมื่อสารสำคัญในไขมันหลอมเกิดการตกผลึกก่อนไขมัน รูปแบบนี้ทำให้สารสำคัญมีการปลดปล่อยแบบเนิ่นนาน (sustained release) เนื่องจากถูกควบคุมการแพร่ผ่านโดยชั้นของไขมันแข็งที่เปลือก

ปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดค่าความจุในการกักเก็บ (loading capacity) (Müller, et al. 2000) ได้แก่

- 1) การละลายของสารสำคัญในไขมันหลอม

- 2) ความเข้ากันได้ระหว่างสารสำคัญและไขมัน
- 3) โครงสร้างทางเคมีและกายภาพของไขมันและสารสำคัญ
- 4) สภาวะพหุสัณฐาน (polymorphic state) ของไขมัน

2.1.4 การปลดปล่อยสารสำคัญจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

การปลดปล่อยสารสำคัญจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ผ่านมามีการทดสอบโดยใช้หลายวิธีด้วยกัน อาทิเช่น การทดสอบในหลอดทดลอง (ที่ไม่ใช้เมมเบรน) การใช้อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว (Franz diffusion cells) ที่ใช้เมมเบรนเซลลูโลส เมมเบรนไดอะไลซิส ผิวหนังสัตว์ เช่น ผิวหนังหนูไร่ขนและผิวหนังหมู หรือผิวหนังคน และการจุ่มถุงไดอะไลซิสของสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลในตัวกลางรับปริมาณมาก (Veerawat Teeranachaiidekul. 2008)

ในการพัฒนานาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีความมุ่งหวังว่าการปลดปล่อยสารสำคัญจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งจะเป็นแบบเนิ่นนานเมื่อเทียบกับนาโนอิมัลชันและสารละลาย แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ เช่น อีโทมิเดต (etomidate) และเตตราเคน (tetracaine) ที่ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่เตรียมโดยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำและสูง มีการปลดปล่อยอย่างรวดเร็ว จากผลการศึกษานี้จึงคาดว่าสารสำคัญสะสมอยู่ที่ผิวนอกของอนุภาค มีรายงานการศึกษาการปลดปล่อยเพรดนิโซโลน (prednisolone) จากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่เตรียมด้วยวิธีการปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยอุณหภูมิต่ำ พบว่ามีการปลดปล่อยแบบเนิ่นนาน จากการศึกษาที่ใช้อุณหภูมิสูงและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงในการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่าเกิดการปลดปล่อยสารสำคัญอย่างฉับพลัน (Müller, et al. 2002)

2.1.5 การประยุกต์ใช้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทางผิวหนัง

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งนอกจากการถูกเสนอให้เป็นทางเลือกใหม่ของระบบนำส่งยาทางด้านเภสัชกรรมแล้ว ยังพบว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีคุณสมบัติพิเศษที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นระบบนำส่งสารสำคัญทางเครื่องสำอาง ได้แก่ สามารถป้องกันสารที่ไวต่อการเสื่อมสลายทางเคมี (chemical degradation) ตัวอย่างเช่น วิตามินเอ และวิตามินอี การควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ

(ขึ้นอยู่กับรูปแบบการกักเก็บสารสำคัญ) มีคุณสมบัติปกคลุมผิวหนัง (occlusive effect) และช่วยเพิ่มปริมาณน้ำ (water content) ในผิวหนังทำให้เกิดการชุ่มชื้นผิว (skin hydration) นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการเป็นตัวป้องกันรังสียูวี (UV-blocker) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารป้องกันแสงแดดทางกายภาพ (physical sunscreens) และยังสามารถเสริมผลการป้องกันแสงแดดอีกด้วย

1) การเพิ่มความคงตัวของตัวทางเคมีของสารสำคัญ

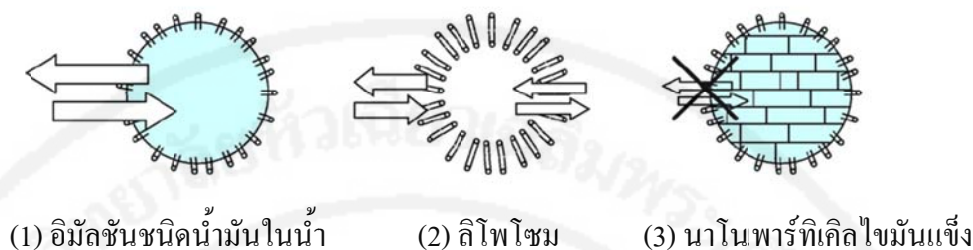
อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและลิโปโซมถูกนำมาใช้เพื่อการนำส่งสารสำคัญทางเครื่องสำอาง แต่ระบบดังกล่าวไม่สามารถป้องกันการเสื่อมสลายของสารสำคัญที่สลายตัวได้ง่าย เนื่องจากหยดนํ้ามันของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมีลักษณะเป็นของเหลว ดังนั้นการแบ่งภาค (partition) ของสารสำคัญที่ชอบไขมันออกจากวัฏภาคนํ้ามันเข้าไปในน้ำเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ทำให้สารสำคัญเกิดการเสื่อมสลายได้ง่ายในน้ำและสารสำคัญที่สลายตัวแล้วอาจเกิดการแบ่งภาค กลับเข้าไปอยู่ในหยดนํ้ามันและเข้าไปแทนที่สารสำคัญที่ยังไม่สลายตัวให้แพร่เข้าสู่วัฏภาคนํ้า (ภาพที่ 2.2 (1)) เหตุการณ์ทำนองเดียวกันนี้เกิดขึ้นได้ในลิโปโซม สารสำคัญที่ชอบไขมันที่อยู่ในชั้นของลิโปโซมเกิดการแบ่งภาคในทำนองเดียวกันกับของเหลวในหยดนํ้ามันและสารสำคัญที่ชอบน้ำที่ละลายอยู่ในแกนกลางของลิโปโซมสามารถเกิดการแลกเปลี่ยนกับน้ำที่อยู่วัฏภาคภายนอกได้ แต่สามารถทำให้การแลกเปลี่ยนช้าลงได้ด้วยการเพิ่มความแข็งแรงของผนังสองชั้นของลิโปโซม เช่น การเติมคอเลสเตอรอล (ภาพที่ 2.2 (2)) สำหรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีลักษณะอยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็ง ทำให้การแบ่งภาคของสารสำคัญระหว่างอนุภาคของแข็งกับน้ำเกิดขึ้นช้าลง (ภาพที่ 2.2 (3)) เนื่องจากการแพร่ของสารมีค่าแปรผกผันกับความหนืด (η) ของตัวกลาง (medium) ตามกฎของ Einstein–Stokes ดังนี้ (Müller, et al. 2007)

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (1)$$

เมื่อ	D	คือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusion coefficient)
	k	คือค่าคงตัวโบลท์ซมันน์ (Boltzmann constant)
	T	คือค่าอุณหภูมิสัมบูรณ์ (absolute temperature)
	r	คือรัศมี (หรือขนาด) ของอนุภาค

ภาพที่ 2.2

การแลกเปลี่ยนสารสำคัญที่อยู่ในภูมิภาคที่ชอบไขมันกับภูมิภาคน้ำ



ที่มา : Müller, et al. 2007.

จากการศึกษาความคงตัวของไอโซเตรติโนอิน ร้อยละ 0.06 ที่ถูกบรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าไอโซเตรติโนอินที่ถูกบรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีความคงตัวดี และพบว่าไอโซเตรติโนอินไม่เกิดการเสื่อมสลายเมื่อบรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง (Liu, et al. 2007)

จากการศึกษาความคงตัวของเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) ที่ถูกบรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ทำการตรวจสอบโดยนำครีมที่ผสมผงแห้งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุเคอร์คิวมินอยด์และครีมที่ผสมเคอร์คิวมินอยด์ เก็บที่อุณหภูมิห้อง ไม่ให้ถูกแสงแดด เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ครีมที่ผสมผงแห้งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุเคอร์คิวมินอยด์ มีปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ โดยวิเคราะห์แยกเป็นสารสำคัญสามชนิด ได้แก่ เคอร์คิวมิน (curcumin) เหลืออยู่ร้อยละ 91.00 บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) เหลืออยู่ร้อยละ 96.00 และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) เหลืออยู่ร้อยละ 88.00 เมื่อเปรียบเทียบกับครีมที่ผสมเคอร์คิวมินอยด์ พบว่าเคอร์คิวมินอยด์สูญหายไปร้อยละ 50.00 (Tiyaboonchai, et al. 2007)

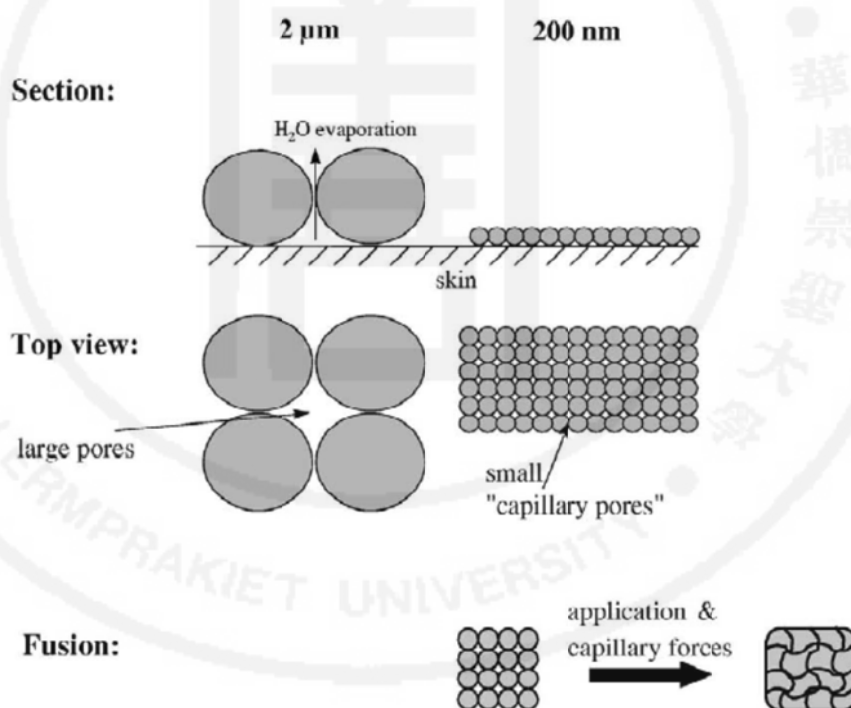
2) การปกคลุมผิวหนัง

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีความสามารถในการยึดผิวที่ดีเนื่องจากประสิทธิภาพการยึดติดผิวนี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามขนาดของอนุภาคที่เล็กลง การยึดติดนี้จะนำไปสู่การเกิดการสร้างฟิล์มบางบนผิวที่มีช่องว่างระหว่างอนุภาคน้อยมากและทำให้เกิดผลการปกคลุมผิว (occlusion effect) ตามมา

ภาพที่ 2.3 แสดงผลการปกคลุมผิวของนาโนพาร์ทิเคิลขนาด 200 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับไมโครพาร์ทิเคิล ขนาด 2 ไมโครเมตร ทำให้การปกคลุมผิวของไมโครพาร์ทิเคิลมีค่าน้อย เนื่องจากมีช่องว่างอนุภาคขนาดใหญ่ ทำให้เกิดการระเหยของน้ำออกไปได้ง่าย นาโนพาร์ทิเคิลมีช่องว่างระหว่างอนุภาคที่แคบขนาดเล็่มาก ทำให้ลดการระเหยของน้ำจึงทำให้เกิดผลการปกคลุมผิว จะนำไปสู่การเพิ่มความชุ่มชื้นผิว (skin hydration)

ภาพที่ 2.3

ผลการปกคลุมผิวของนาโนพาร์ทิเคิลเปรียบเทียบกับไมโครพาร์ทิเคิล



ที่มา : Müller, et al. 2002.

มีรายงานว่า ผลการปกคลุมผิวนี้ขึ้นกับขนาดอนุภาค โดยทั่วไปการจัดเรียงตัวของอนุภาคทรงกลมที่ชิดที่สุดแบบหกเหลี่ยม (hexagonal packing) มีพื้นที่ผิวประมาณร้อยละ 76.00 ที่ครอบคลุมด้วยอนุภาคและพื้นที่ร้อยละ 24.00 เป็นส่วนที่ไม่มีอนุภาคปกคลุมหรือเป็นช่องว่าง

เกิดขึ้นจริงกับทั้งไมโครพาร์ทิเคิลและนาโนพาร์ทิเคิล แต่อนุภาคของไมโครพาร์ทิเคิลมีขนาดช่องว่างค่อนข้างใหญ่ ซึ่งเป็นส่วนทำให้น้ำระเหยออกไปได้ ดังนั้นผลการปกคลุมผิวเกิดขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อทานาโนพาร์ทิเคิลบนผิวหนัง (Müller, et al. 2002) ค่าการปกคลุมผิวยังขึ้นกับชนิดของระบบคอลลอยด์ เมื่อเปรียบเทียบผลการปกคลุมผิวระหว่างอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่าการปกคลุมผิวของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเกิดขึ้นอย่างชัดเจน (Wissing and Müller. 2002)

3) การทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นและยืดหยุ่น

จากผลของการปกคลุมผิวของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งซึ่งสามารถป้องกันการระเหยของน้ำ จะนำไปสู่การเพิ่มความชุ่มชื้นผิว (Müller, et al. 2002) การเปรียบเทียบผลต่อผิวหนังของครีมพื้นที่มีวิตามินเอถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งกับครีมวิตามินเอทั่วไป พบว่าภายหลังการทาบนผิวหนังเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ครีมวิตามินเอ ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้ร้อยละ 23.00 ในขณะที่ครีมพื้นที่มีวิตามินเอถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้ถึงร้อยละ 33.00 เมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังที่ไม่ทาตัวอย่าง (untreated skin) นอกจากนี้ ยังพบว่าครีมพื้นที่มีวิตามินเอถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง สามารถช่วยลดความหยาบกระด้างของผิวลงได้ร้อยละ 10.30 ส่วนครีมวิตามินเอช่วยลดความหยาบกระด้างของผิวลงได้เพียงร้อยละ 4.1 เท่านั้น (Müller, et al. 2000)

จากการศึกษาการทดสอบในอาสาสมัคร 25 คน เพื่อเปรียบเทียบครีมที่ไม่ผสมและผสมร้อยละ 4.00 ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง หลังการทาครีมทั้งสองตำรับบนผิวหนังเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วนำไปวัดค่าความชุ่มชื้นผิวด้วยเครื่องคอร์นีโอมิเตอร์ (Corneometer® CM 825) และประเมินความยืดหยุ่นของผิว (skin elasticity) ด้วยเครื่องคิวโตมิเตอร์ (Cutometer® SEM 575) พบว่าครีมที่ผสมร้อยละ 4.00 ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังได้ร้อยละ 32.00 ส่วนครีมที่ไม่ผสมร้อยละ 4.00 ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวหนังได้ร้อยละ 24.00 เมื่อเทียบกับความชุ่มชื้นของผิวหนังของอาสาสมัครควบคุมที่ไม่ได้ทาครีม ส่วนการประเมินความยืดหยุ่นของผิวหนัง พบว่า ทั้งสองตำรับไม่เพิ่มความยืดหยุ่นของผิวหนังในอาสาสมัคร ซึ่งอธิบายได้ว่าอาจเป็นเพราะเป็นการศึกษาในอาสาสมัครที่อายุน้อย (27 ± 4 ปี) ความยืดหยุ่นของผิวหนังสูง จึงไม่พบความความยืดหยุ่นที่เพิ่มขึ้น (Wissing and Müller. 2003b)

4) การซึมผ่านผิวหนัง

จากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของไอโซเตรติโนอิน ที่บรรจุในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ด้วยการใช้อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว โดยใช้ผิวหนังหนู หลังการทดสอบเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า ไอโซเตรติโนอินไม่ซึมผ่านผิวในขณะที่พบไอโซเตรติโนอินซึมผ่านผิวจากสูตรตำรับทิงเจอร์ที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการบรรจุไอโซเตรติโนอินในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทำให้ไอโซเตรติโนอินไม่เกิดการซึมผ่านผิวซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงทั่วร่างกายและนำส่งสารสำคัญสู่เป้าหมายที่ผิวหนัง (skin targeting) (Liu, et al. 2007)

5) การป้องกันรังสี UV (UV-blocker)

จากการที่ชั้นโอโซนในบรรยากาศลดน้อยลง ทำให้รังสีโดยเฉพาะยูวีเอ (UV-A) และยูวีบี (UV-B) สามารถส่องมาถึงผิวโลกได้ในปริมาณมากขึ้น ดังนั้นการป้องกันผิวหนังจากรังสียูวี (UV) มีความจำเป็นและสำคัญเพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายที่จะเกิดกับผิวหนัง เช่น มะเร็งผิวหนัง การอักเสบหรืออาการไหม้ สิ่งเหล่านี้สามารถป้องกันได้ด้วยการใช้สารกันแดด เช่น เบนโซนฟีโนน (benzophenone) และ ไททาเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสารเหล่านี้อาจแทรกซึมสู่ผิวหนังทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหรือเกิดการแพ้ได้ (Müller, et al. 2002) ดังนั้นการใช้สารกันแดดที่ออกฤทธิ์นาน ควรป้องกันการซึมผ่านของสารเข้าสู่ผิวหนัง เช่น การใส่สารลงในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

จากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังโดยการทดสอบแบบลอกผิว (stripping test) ในอาสาสมัคร 26 คน อายุ 26 ± 3 ปี เพื่อเปรียบเทียบการซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังของออกซีเบนโซน (oxybenzone) ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งและอิมัลชัน หลังจากการทำตำรับบนผิวหนัง 30 นาที พบว่า ตำรับที่มีออกซีเบนโซนร้อยละ 5.00 ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ให้อัตราการซึมผ่านร้อยละ 4.40 ± 60.14 และตำรับที่มีออกซีเบนโซนร้อยละ 5.00 ในอิมัลชัน ให้อัตราการซึมผ่านร้อยละ 5.48 ± 60.19 ส่วนตำรับที่มีออกซีเบนโซนร้อยละ 10.00 ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ให้อัตราการซึมผ่านร้อยละ 1.73 ± 60.02 และตำรับที่มีออกซีเบนโซนร้อยละ 10.00 ในอิมัลชัน ให้อัตราการซึมผ่านร้อยละ 3.35 ± 60.04 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถลดการซึมผ่านของออกซีเบนโซนเมื่อเทียบกับอิมัลชัน และยังพบว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่บรรจุออกซีเบนโซนร้อยละ 10.00 มีการซึมผ่านน้อยกว่า นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่บรรจุออกซีเบน

โชนร้อยละ 5.00 เนื่องจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่บรรจุออกซิเจนโชนร้อยละ 10.00 มีรูปแบบการบรรจุสารสำคัญเข้มข้นที่แกนกลาง สามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ดีกว่าและนำไปสู่การซึมผ่านได้น้อยลง ส่วนนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่บรรจุออกซิเจนโชนร้อยละ 5.00 มีรูปแบบการบรรจุสารสำคัญเข้มข้นที่เปลือกเกิดการปลดปล่อยแบบฉับพลัน (Wissing and Müller, 2002) นอกจากนี้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งยังทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันแสงแดดทางกายภาพและยังสามารถเสริมผลการป้องกันแสงแดดอีกด้วย (Wissing and Müller, 2003a)

2.2 คราบงู

ในการทดสอบการซึมผ่านผิวหนังนั้น การใช้เมมเบรน (membrane) ต่างๆมีความสำคัญในการทดสอบมาก ซึ่งเมมเบรนที่ใช้ได้แก่ ผิวหนังของมนุษย์ ผิวหนังสัตว์ทดลอง เมมเบรนที่ดีที่สุดคือผิวหนังมนุษย์ เพราะผลที่ได้ย่อมนำมาอนุมานผลจากการทดสอบได้โดยตรง แต่มีข้อจำกัดในด้านจริยธรรมและการคัดเลือกผิวหนังมาใช้ การใช้ผิวหนังจากสัตว์ทดลองรวมทั้งคราบงูให้ผลที่มีความแปรปรวนหรือความเบี่ยงเบนน้อย และทดสอบซ้ำได้มากกว่า ผิวหนังสัตว์ทดลองที่นิยมใช้ได้แก่ หนู กระต่าย หมู และงู เป็นต้น การใช้ผิวหนังจากสัตว์ทดลองอาจใช้ผิวหนังจากสัตว์ที่ตายหรือยังมีชีวิตอยู่ก็ได้ การนำผิวหนังสัตว์มาใช้นี้ยังต้องคำนึงถึงจริยธรรมและความเหมาะสมในการใช้งานอีกหลายประเด็น (อรุณศรี ปรีเปรม และคณะ 2547)

งูเป็นสัตว์เลื้อยคลานซึ่งลอกคราบเป็นประจำ คราบงูเป็นหนังชั้นนอกที่งูลอกออกมา มีส่วนประกอบสำคัญคือ โปรตีนจำพวกเคอราติน ทั้งหนังงูและคราบงูจึงได้รับความสนใจนำมาทดสอบการซึมผ่านผิวหนังของยาต่างๆ การใช้คราบงูมีข้อดีกว่าการใช้หนังงูตรงที่คราบงูเป็นวัสดุทิ้ง หากสามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ได้จะส่งเสริมโอกาสของการสร้างผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุทิ้ง มีรายงานการศึกษาการซึมผ่านคราบงูของยาหลายชนิด อาทิเช่น เฟลอบิโพรเฟน (flurbiprofen) ไอโซซอร์ไบด์โมโนไนเตรต (isosorbide dinitrate) และแอนติไพรีน (antipyrin) (สุวรรณณี พนมสุข และคณะ 2542) เมทิลพาราเบน (methyl paraben) โพรพิลพาราเบน (propyl paraben) และ บิวทิลพาราเบน (butyl paraben) (Pripem, et al. 2008) เอธิลนิโคติเนต (ethyl nicotinate) (Ngawhirunpat, et al. 2002) เป็นต้น จากการรายงานของ ณะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์ (2551) ได้ทำการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของยาในคราบงู 3 สายพันธุ์ คือ งูเห่า (*Naja kaouthia*) งูเห่าม (*Pythonmolurus bivistatu*) และ งูหลาม (*Vipera russelli*) และผิวหนังมนุษย์ ศึกษาโดยวิธีการทดสอบภายนอกกายโดยใช้อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว

ชนิดแนวนอน (side by side) โดยใช้ตัวยา 16 ชนิดประกอบด้วยตัวยาที่ละลายน้ำดีจำนวน 8 ชนิด และตัวยาที่ละลายน้ำน้อยจำนวน 8 ชนิด พบว่า สัมประสิทธิ์การซึมผ่านของตัวยาที่ละลายน้ำดี จะมีค่าต่ำกว่าตัวยาที่ละลายน้ำน้อย ซึ่งพบในทั้งคราบงูและผิวหนังมนุษย์โดยพบว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวพบในผิวหนังของหนูเช่นกัน อย่างไรก็ตามพบว่าในคราบงูห่าการซึมผ่านเมื่อเปรียบเทียบกับจากอัตราการซึมผ่านผิวหนังมีค่าต่ำกว่าคราบงูเหลือมและงูหลาม และจากผลการทดสอบทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าสามารถนำคราบงูสายพันธุ์ไทยมาทดสอบเป็นเมมเบรนต้นแบบในการศึกษาการซึมผ่านแทนผิวหนังมนุษย์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มยาที่ละลายน้ำน้อย นอกจากนี้เนื่องจากคราบงูเมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังมนุษย์จะเท่ากับผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) ซึ่งเป็นเยื่อชั้นการแพร่ผ่านที่มีการคัดเลือกสารแพร่อย่างจำเพาะ ดังนั้นหากยาหรือสารสำคัญซึมผ่านคราบงูได้ก็จะสามารถซึมผ่านผิวหนังในชั้นต่อไปได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงประยุกต์ใช้คราบงูเหลือมเป็นเมมเบรนในการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอก

2.3 จิง

ภาพที่ 2.4

เหง้าจิง

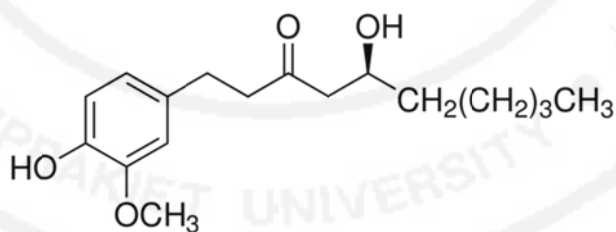


ที่มา : คีมน้ำจิงคลายเครียดช่วยย่อยอาหาร. 2553 : ออนไลน์.

จิง (*Zingiber officinale* (L.) Rosc) ดังแสดงตามภาพที่ 2.4 เป็นเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอม รสเผ็ด ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ร้อยละ 3.00 และน้ำมันชัน (oleoresin) ร้อยละ 20.00-25.00 (Chrubasik, et al. 2005) กลิ่นหอมฉุนและรสเผ็ดในจิงเป็นสารจำพวกน้ำมันชัน สารสำคัญในน้ำมันชัน คือ จินเจอร์อล (gingerol) ประกอบด้วย 6-จินเจอร์อล, 8-จินเจอร์อล และ 10-จินเจอร์อลในอัตราส่วนต่างๆ โดยมี 6-จินเจอร์อล ในปริมาณสูงสุด ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมี ดังภาพที่ 2.5 ปัจจุบันสารสกัดจิงได้รับความนิยมนำมาเป็นส่วนผสมในตำรับทางเครื่องสำอาง ซึ่งมีคุณสมบัติในการชะลอวัย ทำให้ผิวแลดูอ่อนเยาว์ ยืดหยุ่น ตึงกระชับ อย่างไรก็ตาม จินเจอร์อล เป็นสารประกอบที่ไม่คงตัวต่อแสง ความร้อน อากาศ และการเก็บรักษา (Hawlder, et al. 2006, Bhattarai, et al. 2007) ซึ่ง จินเจอร์อล จะเปลี่ยนเป็น โชกาออล (shogaol) ด้วยปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (dehydration) และเปลี่ยนเป็น ซิงเจอโรน (zingerone) ด้วยปฏิกิริยารีโทร-อัลดอล (retro-aldol) ดังนั้นน้ำมันชันที่มีคุณภาพต่ำ จะมีปริมาณของโชกาออล และซิงเจอโรนสูง

ภาพที่ 2.5

โครงสร้างทางเคมีของ 6-จินเจอร์อล



ที่มา : Sigmaaldrich. 2011 : Online.

1) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

จิงเป็นพืชทางเขตร้อนแถบเอเชีย ปลูกโดยใช้เหง้าในดินร่วนซุยผสมปุ๋ยหมักหรือดินเหนียวปนทราย เริ่มเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 10-12 เดือน หลังจากปลูกหรือจะสังเกตได้จากใบและลำต้นเริ่มเหี่ยวเฉา จึงจัดเป็นพืชล้มลุก มีเหง้าใต้ดิน (rhizome) ส่วนเหนือดินสูงประมาณ 40-100

เซนติเมตร เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีนวล มีกลิ่นหอมเฉพาะ แทงหน่อหรือลำต้นเทียม (pseudostem) ขึ้นเป็นกอ ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับกันเป็นสองแถว ใบรูปหอกแกมรูปไข่ กว้าง 1.5-2.0 เซนติเมตร ยาว 12-20 เซนติเมตร กลีบดอกสีเหลืองเขียวและกลีบรองกลีบดอกอย่างละ 3 กลีบ เกสรตัวผู้มี 6 อัน เกสรตัวผู้ที่ฝ่อ (sterile) มีสีแดงจุดเหลือง ลักษณะคล้ายลิ้น ปลายกลีบกลมมนสั้นกว่ากลีบดอกเกสรตัวเมีย 1 รั้งไข่ 3 ช่อง (locule) ผลมี 3 พู (สมพร ภูதியานนท์. 2546)

2) องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของขิงสามารถสรุปเป็นสารสำคัญหลักได้ดังนี้ (Ali, et al. 2008, Shukla and Singh, 2007)

น้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ซิงจิเบอรีน (zingiberene), ซิงจิเบอรอล (zingiberol), ลินาโลอล (linalool), บิมเสน (borneol), ซิทรัล (citral), เมซิลเฮปทีนอล (methylheptenone), โนนิลอัลดีไฮด์ (nonyl aldehyde), แคมฟิน (camphene), เทอร์พีน (terpene), เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene) ซีนิออล (cineol), เจอนิออล (geraniol), เนรัล (neral), เคอร์คูมิน (curcumene) และ ฟาร์เนซีน (farnesene) เป็นต้น

น้ำมันชั้น ได้แก่ 6-จินเจอร์อล, 8-จินเจอร์อล, 10-จินเจอร์อล, 6-โซกาออล, ซิงเจอโรน (zingiberone), ซิงจิเบโรน (zingiberone) และพาราโดล (paradol) เป็นต้น

สารสำคัญอื่นๆ ได้แก่ แอสพาราจีน (asparagines), กรดพิพิคอลลิก (pipecolic acid), กรดแอสพาราจิก (asparagic acid), กรดกลูตามิก (glutamic acid), เซรีน (serine), ไกลซีน (glycine) และเรซิน (resin) เป็นต้น

3) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและคลินิก

3.1) ฤทธิ์ต้านออกซิเดนต์

จากการทดสอบการยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ (DPPH) ของสารสกัดขิงเปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดนต์สังเคราะห์บิวทิลเลดไฮดรอกซีทูลูเอินหรือบีเอชที (butylated hydroxytoluene, BHT) ผลการทดลองพบว่า สารสกัดขิงสามารถยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ (DPPH) ได้ดีกว่า บีเอชที (BHT) โดยที่สารสกัดขิงเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ (DPPH) ได้ถึงร้อยละ 90.10 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนบีเอชที (BHT) มีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดขิงสามารถป้องกันการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

(lipid peroxidation) ได้สูงกว่าบีเอชที (BHT) ในทำนองเดียวกันสารสกัดจึงมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซี (OH[•]) ได้ดีกว่า ควอร์เซทิน (quercetin) (Stoilova, et al. 2007) นอกจากนี้จากการรายงานยังพบว่า 6-จินเจอร์อลในสารสกัดจึงมีฤทธิ์ต้านออกซิแดนซ์ (anti-oxidant) และฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ที่แรง ทั้งในการทดสอบภายนอกร่างกาย (in vitro) และการทดสอบในร่างกาย (in vivo) (Ali, et al. 2008)

3.2) ฤทธิ์ในการยับยั้งการอาเจียน

จากการทดลองฉีดสารสกัด 50% เมทานอลจากขิง ขนาด 10 กรัมต่อกิโลกรัม แก่กบที่ถูกเหนี่ยวนำให้อาเจียนด้วยคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate) พบว่า สามารถต้านการอาเจียนได้ สารสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งการอาเจียน ได้แก่ 6-จินเจอร์อล, 8-จินเจอร์อล, 10-จินเจอร์อล และ 10-โซกาออล (สมพร ภูติยานันท์. 2546) สารสกัดอะซีโตน และ 50% เอทานอลจากขิง ขนาด 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ต้านอาเจียนในสุนัขที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยการฉีดซิสพลาติน (cisplatin) 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยสารสกัดอะซีโตนจากขิงมีฤทธิ์มากกว่าสารสกัด 50% เอทานอลจากขิง อย่างไรก็ตามสารสกัดทั้งสองมีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาต้านการอาเจียน กรานีสเซทรอน (granisetron) (5-HT₃ antagonist) และไม่มีประสิทธิภาพในการต้านอาเจียนที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยอโปมอร์ฟีน (apomorphine) (Sharma, et al. 1997)

3.3) ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร

น้ำมันหอมระเหยในขิงสามารถลดอาการจุกเสียด ขับลม สารออกฤทธิ์ที่สำคัญ ได้แก่ เมนทอล (menthol) และ cineole นอกจากนี้ โซกาออล และ จินเจอร์อล ทำให้เกิดการเคลื่อนไหวชนิดบีบไล่ (propulsive movement) จึงช่วยขับลม มีรายงานว่าสารสกัด อะซีโตน จากขิง และผงขิง มีฤทธิ์ขับน้ำดีจึงช่วยย่อย นอกจากนี้ยังมี พิมเสน (borneol), เฟนโชน (fenchone), 6-จินเจอร์อล และ 10-จินเจอร์อล ที่มีฤทธิ์ขับน้ำดี (สมพร ภูติยานันท์. 2546) สารสกัดอะซีโตนจากขิง ขนาด 1 กรัมต่อกิโลกรัม สารซิงจีเบอริน (zingiberene) (แยกได้จากสารสกัดอะซีโตนจากขิง) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 6-จินเจอร์อล ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อป้อนให้แก่หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วย กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ เอทานอล พบว่า มีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลได้ร้อยละ 97.50, 53.60 และ 54.50 ตามลำดับ (Shukla and Singh. 2007) นอกจากนี้เมื่อนำตำรับยาที่มีขิงเป็นส่วนประกอบ ขนาด 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ป้อน

ให้หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะด้วยเอทานอล มีผลด้านการเกิดแผลได้ร้อยละ 55.90 และ 38.00 ตามลำดับ และ ขนาด 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลลดปริมาณของเอนไซม์ไมอีโคโนเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase) (Kawashima, et al. 2006)

3.4) ฤทธิ์ลดการอักเสบ

มีรายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากขิง มีฤทธิ์ลดการอักเสบ ลดอาการปวด และลดไข้ในหนู (Ali, et al. 2008) จากการทดลองนำสารสกัดน้ำจากขิง ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ป้อนและฉีดเข้าช่องท้องให้หนูทุกวันเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า มีฤทธิ์ลดการอักเสบโดยจะไปยับยั้งการสร้างพรอสตาแกลนดิน อี₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) (Thomson, et al. 2002) จากการทดลองฉีดสารสกัด 70% เอทานอลของขิง ขนาด 186 และ 310 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าช่องท้องของหนูขาว พบว่า มีฤทธิ์ลดการอักเสบที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วย คาร์ราจีแนน (carrageenan) สาร 48/80 และ ซีโรโทนิน (serotonin) นอกจากนี้ยังพบว่า มีฤทธิ์ลดการอักเสบที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่ผิวหนังด้วยสาร 48/80 และซีโรโทนิน (Penna, et al. 2003)

3.5) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ

สารสกัดเอทานอลจากขิง มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Helicobacter pylori* สารสกัดเอทานอลจากขิง มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes/pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* และ *Escherichia coli* (Chrubasik, et al. 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้แก่ 6-จินเจอร์อล, 8-จินเจอร์อล, 10-จินเจอร์อล และ 6-จินเจอไดออล (6-gingerdiol) และความเข้มข้นน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราก่อโรคในคน (Ficker, et al. 2003)

3.6) การทดสอบความเป็นพิษ

สารสกัดขิงด้วยน้ำร้อน ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อจานเพาะเชื้อ มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA 100 นอกจากนี้ จินเจอร์อล และซาโกออล มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA 100 และ TA 1535 แต่ไม่มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA 98 ส่วน ซิงเจอโรน ไม่มีฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์และยังสามารถยับยั้งฤทธิ์ในการก่อกลายพันธุ์ของ จินเจอร์อล และซาโกออล (สมพร ภูติยานันท์. 2546)

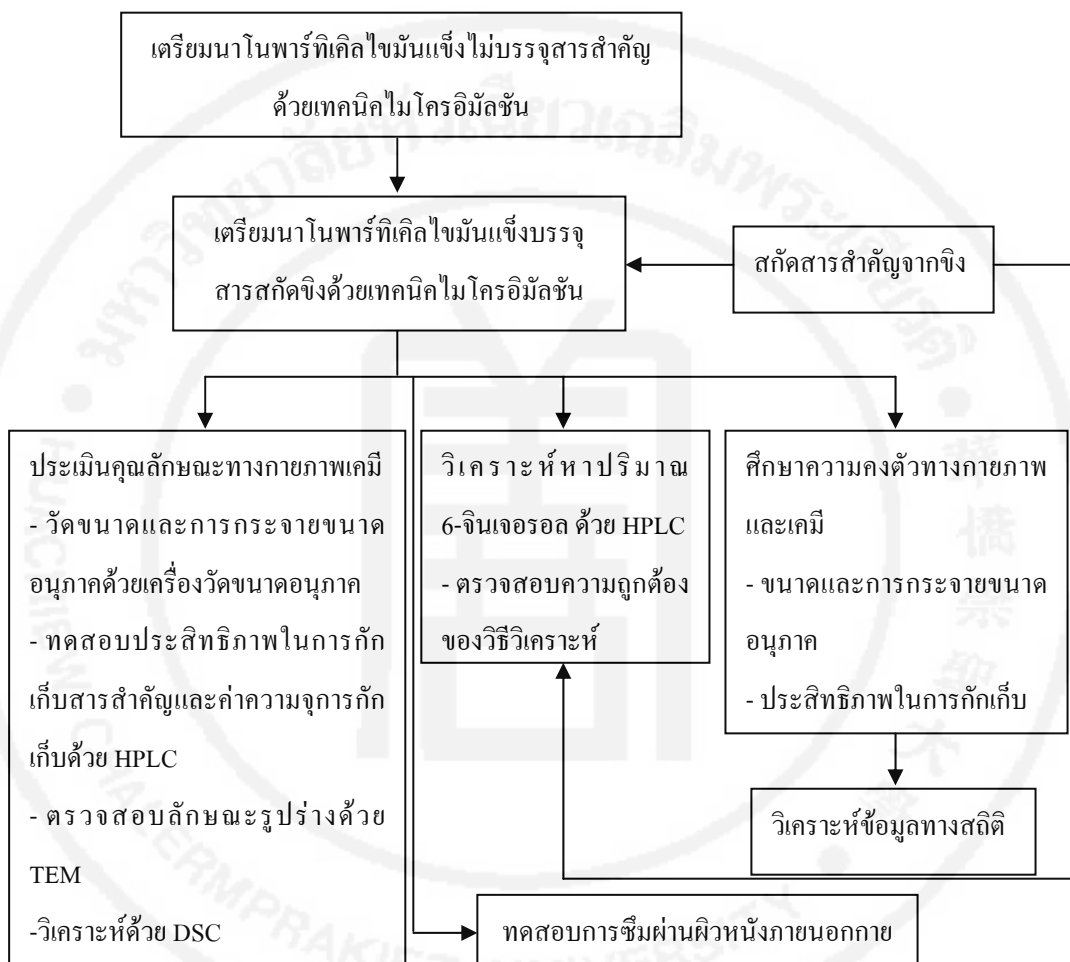
จากการทดลองป้อนสารสกัดขิง ขนาด 100, 333 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้กับหนูขาว กำลังตั้งครรภ์ในช่วงวันที่ 6-15 ของการตั้งครรภ์ พบว่าไม่เป็นพิษต่อแม่หนูและไม่มีผลต่อตัวอ่อน และไม่ทำให้แม่หนูแท้ง (Ali, et al. 2008)

2.4 กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย

จากการทบทวนวรรณกรรมดังกล่าวข้างต้น นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเป็นตัวพาในการนำส่งสารสำคัญทางผิวหนังทั้งทางด้านเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง สามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น การปั่นด้วยความเร็วสูงและหรือการใช้คลื่นความถี่สูง การปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยความดันสูง เทคนิคไมโครอิมัลชัน การทำให้เกิดอิมัลชันด้วยตัวทำละลายและการระเหย ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชันเนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่เตรียมได้ง่าย ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เมื่อเตรียมได้จะทำการเติมสารสกัดจากธรรมชาติในการศึกษานี้ คือ สารสกัดขิง จากรายงานของ Sandra และคณะ (2008) พบว่า สารสกัดถั่วเหลือง และตำรับครีมที่ผสมสารสกัดถั่วเหลือง เกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิสูงหรืออาจมีการเติมสารตัวอื่นในสารสกัดถั่วเหลืองที่สลายตัวได้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เช่น โพลีฟีนอล (polyphenols) เป็นต้น และจากรายงานของ Tiyafoonchai และคณะ (2007) กล่าวว่า ร้อยละของเคอร์คิวมินอยด์ที่ยังคงอยู่ในสูตรตำรับครีม ลดน้อยลงกว่าร้อยละ 50.00 หลังการเก็บเป็นระยะเวลา 3 เดือน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ทีโพลี ฟีนอล (tea polyphenols) ไม่มีความคงตัวต่อแสง อากาศ อุณหภูมิ การเติมสารทีโพลีฟีนอลในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญได้ (Ma, et al. 2007) จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า สารสกัดธรรมชาติเกิดความไม่คงตัวทางเคมีทั้งที่อยู่ในรูปของสารสกัด หรือเมื่อเติมไปในตำรับครีม ในทำนองเดียวกันมีรายงานว่า สารสกัดขิงซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติไม่คงตัวต่อแสง ความร้อน อากาศ และการเก็บรักษา ดังนั้น การพัฒนาตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งในการนำส่งเพื่อที่จะยืดเวลาความคงตัวของสารสำคัญได้ เมื่อทำการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงแล้ว จากนั้นทำการประเมินคุณลักษณะเฉพาะของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้ ซึ่งประกอบไปด้วยการวัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัต โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค เป็นวิธีที่

สามารถวัดขนาดในช่วงนาโนเมตรถึง 3 ไมครอน และแสดงผลในค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยและค่าการกระจายขนาดอนุภาค ทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ซึ่งเป็นเครื่องที่มีความไว (sensitivity) สูงและวิเคราะห์สารในปริมาณไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้ ตรวจสอบลักษณะรูปร่างด้วยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน เป็นวิธีที่เตรียมตัวอย่างง่ายและไม่ต้องทำให้สารตัวอย่างเป็นของแข็ง จากนั้นทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของไขมันด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องผ่าน นอกจากนี้ยังทำการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกและศึกษาความคงตัวของกายภาพและเคมีของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้ ซึ่งสามารถเขียนเป็นกรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัยได้ดังแผนภูมิที่ 2.2

แผนภูมิที่ 2.2
กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย



บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

การวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง โดยเริ่มจากการสกัดขิงด้วยการหมัก ทำการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในสารสกัดขิง จากนั้นเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง 2 ลักษณะคือ 1) แบบไม่บรรจุสารสำคัญ ศึกษาชนิดไขมันแข็ง และชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการฟอร์มตัวเป็นนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งแล้วทดสอบความคงตัวเป็นระยะเวลา 3 เดือน 2) แบบบรรจุสารสกัดขิง โดยทำการเลือกตำรับแบบไม่บรรจุสารสำคัญที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีในการเติมสารสกัดขิง แล้วศึกษาขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคประสิทธิภาพในการกักเก็บและค่าความจุการกักเก็บ ลักษณะรูปร่าง สภาพความเป็นผลึกและภาวะพหุสัณฐาน ทดสอบการซึมผ่านผิวหนังภายนอก ทดสอบความคงตัวของขนาดอนุภาคและประสิทธิภาพในการกักเก็บเป็นระยะเวลา 3 เดือน และวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดขนาดอนุภาค (รุ่นDelsa™ Nano C, Particle analyzer, Japan)
2. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (TEM) (รุ่น TECNAI 20, Philips, Japan)
3. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) (Thermo Electron Corporation, U.S.A.)
4. เครื่องวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด (DSC) (รุ่น DSC 204 F1 Phoenix® ASC, UK)
5. เครื่องโฮโมมิคเซอร์ (homomixer) (รุ่น L 4RT, Silverson, England)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (รุ่น UNIVERSAL 320R, Hettich, Germany)
7. เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (รุ่น Christ Alpha 1-2 LD, UK)

8. เครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศแบบหมุน (รุ่น Heizbad HB digit, Heidolph, Germany)
9. อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว (Franz diffusion cell)
10. เครื่องคนผสมชนิดแม่เหล็ก (magnetic stirrer) (รุ่น MR 3001, Heidolph, Germany)
11. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (รุ่น 800, K.K. Scientific CO., LTD.)
12. ตู้เย็น (SNOWLAND®)
13. ตู้แช่แข็ง
14. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (adventure™ OHAUS)
15. เตาให้ความร้อน (hot plate)
16. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
17. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร
18. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
19. กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 10, 25 และ 250 มิลลิลิตร
20. กรวยกรอง (funnel)
21. หลอดทดลอง (test tube)
22. ขวดก้นกลม (round bottle) ขนาด 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
23. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25, 50, 100 และ 250 มิลลิลิตร
24. ไมโครปิเปต (micropipette)
25. ขวดไวอัลไซและสีชา (vial) ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
26. ที่วางหลอด (rack)
27. แท่งแก้วคน (stirring rod)
28. หลอดหยด (dropper)
29. เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
30. กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 (Whatman no.1)

3.1.2 วัตถุดิบและสารเคมี

1. จิงแก่สด จากตลาดในประเทศ เมื่อวันที่ 7 มกราคม พ.ศ. 2554
2. คราบงูเหลือม ได้รับความอนุเคราะห์จากสวนสัตว์เขาดิน กรุงเทพมหานคร
3. อะซีโตน (acetone)
4. เมทานอล (methanol) HPLC grade
5. สารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล (G1046-5MG, Sigma)
6. กรดสเตียริก (stearic acid) บริษัท ศรีจันทร์สหโอสถ
7. กลีเซอริต โมโนสเตียเรต (glyceryl monostearate) บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด
8. ครีโมเฟอร์ อาร์เอช 40 (Cremophor RH 40) บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด
9. ทวิน 80 (Tween 80) บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด
10. โพลอกซาเมอร์ 188 (Poloxamer 188) บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด
11. 95% เอทานอล (95% ethanol) บริษัท เอกตรงเคมีภัณฑ์ (1985) จำกัด
12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)
13. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate)
14. น้ำปราศจากไอออน (DI water)

3.2 วิธีการศึกษาวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจิง

นำจิงแก่สดล้างด้วยน้ำให้สะอาดแล้วหั่นเป็นแว่น นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บดด้วยเครื่องบด ชั่งผงจิง 100 กรัม แล้วใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมอะซีโตน (acetone) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทำการสกัดด้วย เครื่องคนผสมชนิดแม่เหล็ก ที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน นำมากรองด้วยกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 (Whatman no.1) แยกสารละลายเก็บและสกัดส่วนของแข็งอีก

2 ครั้งในสภาวะเดิม กรองและนำส่วนสารละลายทั้ง 3 รวมกัน นำไปแยกตัวทำละลายออกด้วย เครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิงด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง

สารสำคัญในสารสกัดขิงที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง คือ 6-จินเจอร์อล ดัดแปลงตามวิธีของ Schwertner และ Rios (2007) ซึ่งสภาวะในการ วิเคราะห์เดิมคือ คอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-8 (reversed phase C-8) เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร และยาว 150 มิลลิเมตร วัฏภาคเคลื่อนที่คือสารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำ ใน อัตราส่วน 65:35 โดยปริมาตร อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที ในเวลา 48 นาที ดีเทกเตอร์ดีโอดอะเรย์ (diode array detector) โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ 282 นาโนเมตรและปริมาตรในการฉีด 25 ไมโครลิตร ได้ดัดแปลงสภาวะในการวิเคราะห์จาก สภาวะเดิมดังนี้

สภาวะในการวิเคราะห์

วัฏภาคคงที่ (stationary phase): คอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-18 (reversed phase C-18) เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตรและยาว 250 มิลลิเมตร วัสดุที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดอนุภาค 10 ไมครอน

วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) : สารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำ โดยกำหนดให้มีการผสมแบบเกรเดียนต์ (gradient) ดังอัตราส่วนที่แสดงในตารางที่ 3.1 ควบคุมอัตราการไหลของ วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที

เครื่องตรวจวัด : ดีเทกเตอร์ดีโอดอะเรย์ โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ 282 นาโนเมตร

ปริมาตรที่ฉีด : 20 ไมโครลิตร

การเลือกความยาวคลื่นในการตรวจวัด ทำการสแกนสเปกตรัมภายใต้พื้นที่ใต้พีคของดีเทกเตอร์ดีโอดอะเรย์ ของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล และ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง ที่ช่วงความยาว คลื่นตั้งแต่ 200-360 นาโนเมตร

ตารางที่ 3.1

องค์ประกอบของวิถีกาเคลื่อนที่ของสารละลายผสมระหว่างเมทานอล (A) กับ น้ำ (B)

แบบเกรเดียนต์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ 6-จินเจอร์อล

เวลา (นาที)	A	B	อัตราการไหล (มิลลิลิตร/นาที)
0	60	40	1
5	70	30	1
12	80	20	1
15	100	0	1
25	100	0	1
26	60	40	1
36	60	40	1

1) การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง เลือกพารามิเตอร์ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)

1.1) ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง เป็นพารามิเตอร์แสดงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ค่าที่วัดได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด การทดสอบความเป็นเส้นตรงทำโดยการสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารกับความเข้มข้นต่างๆ กันในช่วงความเข้มข้นที่กำหนดกับพื้นที่ใต้พีก (peak area) ค่าความเป็นเส้นตรงรายงานเป็นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r^2)

การสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อลโดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อลในเมทานอล ให้มีความเข้มข้น 2, 3, 4, 5 และ 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละตัวอย่างทำการฉีดเข้า

3 ครั้ง สมการเส้นตรงได้จากการสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล

การวิเคราะห์หาปริมาณของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง ทำการเจือจางสารสกัดขิง 1 มิลลิลิตร ในเมทานอล 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองผ่านเมมเบรนฟิลเตอร์ (membrane filter) ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน นิดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำไปหาปริมาณของ 6-จินเจอร์อล โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล

1.2) ความแม่นยำ (Accuracy)

ความแม่นยำเป็นพารามิเตอร์ที่บอกลถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งเป็นตัวที่แสดงความใกล้เคียงกันระหว่างผลวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้วิธีที่ต้องการทดสอบความถูกต้องกับค่าแท้จริง (true value) ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์รายงานค่าเป็นร้อยละการกลับคืน (% recovery)

การทดสอบความแม่นยำทำโดยการเติมสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในสารสกัดขิง โดยครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 3 ระดับที่ร้อยละ 75.00, 100.00 และ 125.00 ของปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง นิดซ้ำระดับละ 3 ครั้ง นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณร้อยละการกลับคืนได้ดังนี้

$$\% \text{ การกลับคืน} = \frac{C_a - C_b}{C_c} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ C_a = ปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดขิงที่เติมสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล

C_b = ปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดขิง

C_c = ปริมาณสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่เติมลงไปนในสารสกัดขิง

เกณฑ์การยอมรับของร้อยละการกลับคืนตาม A.O.A.C. อยู่ในช่วงร้อยละ 80.00-120.00 ในแต่ละระดับ (A.O.A.C. 2005)

1.3) ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้อบอถึงความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์หรือความใกล้เคียงของผลการทดสอบที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำๆ กันหลายครั้ง โดยใช้ตัวอย่างที่เป็นเนื้อเดียวกันภายใต้สภาวะที่กำหนด

ทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน (within run precision) ทำโดยนำสารสกัดขิง นี๊ดซ้ำ 6 ครั้ง ในวันเดียวกัน

ทดสอบความเที่ยงต่างวัน (between run precision) ทำโดยนำสารสกัดขิงตัวอย่างเดียวกัน การทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกันมาฉีดซ้ำ 6 ครั้ง ในวันที่ 4 นับถัดจากวันฉีดในวันเดียวกัน

ผลการทดสอบที่ได้จะแสดงด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD, relative standard deviation) และจะต้องมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกิน 2 (A.O.A.C. 2005)

3.2.3 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ทำการเตรียมทั้งนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและบรรจุสารสกัดขิง ดังนี้

1) การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญเตรียมด้วยเทคนิคไมโครอิมัลชัน ส่วนผสมของตำรับที่ใช้ในการเตรียมดังแสดงในตารางที่ 3.2 แยกส่วนผสมเป็น 2 ภูมิภาค คือ 1) ไขมันแข็ง และ 2) น้ำ (สารลดแรงตึงผิว+สารลดแรงตึงผิวรวม+น้ำ) โดยให้ความร้อนทั้ง 2 ภูมิภาคที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำภูมิภาคน้ำเทลงในภูมิภาคไขมันแข็งที่หลอมพร้อมกับคนด้วยแท่งแก้ว คน ได้สารละลายไมโครอิมัลชันใส จากนั้นนำไมโครอิมัลชันใสไปกระจายในน้ำเย็นประมาณ 2 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนของไมโครอิมัลชันใสต่อน้ำเย็นเท่ากับ 1:20 ภายใต้การปั่นตลอดเวลา ด้วยเครื่องโฮโมมิคเซอร์ (homomixer) (Silverson, รุ่น L 4RT) ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เวลา 15 นาที โดยไขมันแข็งที่ใช้ ได้แก่ กรดสเตียริก (stearic acid) หรือ กลีเซอรอลโมโนสเตียเรต (glyceryl monostearate, GMS) สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ ได้แก่ โพลอกซาเมอร์ 188 (Poloxamer 188) หรือ ทวิน 80 (Tween 80) หรือ ครีโมเฟอร์ อาร์เอช 40 (Cremophor RH 40) และสารลดแรงตึงผิวรวมที่ใช้ คือ เอทานอล (ethanol) เพื่อทำการเลือกชนิดไขมันแข็งและชนิดสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมในการฟอร์มตัวเป็นนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า กรดสเตียริก และ ครีโมเฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล เป็นตำรับที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.2

ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

ไขมันแข็ง (10.00 %w/w)	สารลดแรงตึงผิว (20.00 %w/w)	สารลดแรงตึงผิวร่วม (20.00 %w/w)	น้ำ (50.00 %w/w)
กลีเซอรอล โมโนสเตียเรต	โพลอกซาเมอร์ 188	เอทานอล	น้ำ
กลีเซอรอล โมโนสเตียเรต	ทวิน 80	เอทานอล	น้ำ
กลีเซอรอล โมโนสเตียเรต	ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40	เอทานอล	น้ำ
กรดสเตียริก	โพลอกซาเมอร์ 188	เอทานอล	น้ำ
กรดสเตียริก	ทวิน 80	เอทานอล	น้ำ
กรดสเตียริก	ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40	เอทานอล	น้ำ

ตารางที่ 3.3

ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญที่มีส่วนผสมของ

กรดสเตียริก และ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล

ตำรับ	กรดสเตียริก (%w/w)	ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 (%w/w)	เอทานอล (%w/w)	น้ำ (%w/w)
1	10.00	10.00	10.00	70.00
2	10.00	15.00	15.00	60.00
3	10.00	20.00	20.00	50.00
4	10.00	25.00	25.00	40.00
5	10.00	30.00	30.00	30.00

ดังนั้นจึงศึกษาปริมาณสารลดแรงตึงผิว (ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (เอทานอล) ในช่วงร้อยละ 10.00-30.00 โดยน้ำหนัก (%w/w) ในอัตราส่วน 1:1 โดยคงปริมาณของ

ไขมันแข็ง (กรดสเตียริก) ที่ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก เท่าเดิม และปรับปริมาณของน้ำให้ครบ ร้อยละ 100.00 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 3.3 จากนั้นเก็บทุกตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน โดยสังเกตลักษณะทางกายภาพด้วยตา วัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัต โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค ที่ครบ 1 วันและเมื่อครบ 3 เดือน

2) การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

เลือกตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญที่มีความคงตัวทางกายภาพเพื่อทำการบรรจุสารสกัดขิง โดยทำการเติมสารสกัดขิง ปริมาตรร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก ลงในไขมันหลอมและทำวิธีการเดียวกันกับการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ จากการศึกษาเบื้องต้นโดยการทดสอบหาค่าความจุของสารสกัดขิง ปริมาตรร้อยละ 0.30, 0.50 และ 0.70 โดยน้ำหนัก ในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่า ปริมาตรร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก มีค่าความจุสูงสุด และจากการศึกษาของ Stoilova และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดขิงมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.64 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ (DPPH) และยับยั้งได้ร้อยละ 90.10 ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดลองนี้ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีสารสกัดขิง ปริมาตรร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก มีความเข้มข้นของสารสำคัญ (6-จินเจอร์อล) เท่ากับ 41.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณเพียงพอในการยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดขิง ปริมาตรร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก เติมในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

3) การทำแห้งเยือกแข็ง

การทำแห้งเยือกแข็งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งได้ดัดแปลงตามวิธีของ A. Del Pozo Rodríguez และคณะ (2007) ซึ่งมีวิธีการทำแห้งเยือกแข็งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งโดยได้นำสารตัวอย่างแช่แข็งที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำแห้งเยือกแข็งที่อุณหภูมิ -55 องศาเซลเซียส ความดัน 0.2 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในการทดลองนี้ได้ดัดแปลงวิธีการทำแห้งเยือกแข็งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งดังนี้ ตวงตัวอย่างสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งปริมาตร 20 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทำแห้งเยือกแข็งที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส ความดัน 0.0012 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (Christ Alpha

1-2 LD Freeze dryer) ผงแห้งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่ได้นำไปทดสอบด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด

3.2.4 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

1) วัดขนาดอนุภาคและการกระจายขนาด

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง ทำการวัดด้วยการกระเจิงแสงแบบพลวัตโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค ที่ 25 องศาเซลเซียส มุมกระเจิงที่ 165 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงหลังการเตรียมครบ 1 วัน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน ควอทซ์คิวเวตต์ (quartz cuvette) จากนั้นใส่ลงไปในห้องใส่ตัวอย่างของเครื่องแล้วทำการวัดขนาด ผลที่ได้คือ ขนาดอนุภาคเฉลี่ย และ PI ซึ่งเป็นค่าบอกการกระจายขนาดอนุภาค แต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ครั้ง

2) การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บ

การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง ทำการแยกสารสกัดที่ไม่ได้ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการกรองละเอียดเข้มข้น (ultrafiltration method) โดยใช้ เซนทริฟิวกัลฟิวเตอร์ทิวบ์ (centrifugal filter tubes) ซึ่งมีมวลโมเลกุลที่น้อยที่สุดซึ่งถูกกำจัดด้วยเมมเบรน (molecular weight cut-off) ที่ 10 กิโลดาลตัน นำตัวอย่างสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงใส่ลงในเซนทริฟิวกัลฟิวเตอร์ทิวบ์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นของสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงเท่ากับ 41.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรอง (filtrate) ไปวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บตามสมการข้างล่าง (Lv, et al. 2009)

$$EE = \frac{W_{\text{initial drug}} - W_{\text{free drug}}}{W_{\text{initial drug}}} \times 100 \quad (2)$$

$$LC = \frac{W_{\text{initial drug}} - W_{\text{free drug}}}{W_{\text{lipid}}} \times 100 \quad (3)$$

โดยที่ $W_{\text{initial drug}}$ คือปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่เติมในตำรับ
 $W_{\text{free drug}}$ คือปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่วิเคราะห์ได้จากของเหลวที่ผ่านการกรอง
 W_{lipid} คือน้ำหนักของไขมันที่เติมในตำรับ

3) ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง

ตรวจสอบลักษณะรูปร่างของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงโดยการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน เลือกตำรับ SLNs-2 ในการส่อง โดยหยดตัวอย่างลงบน คอปเปอร์กริด (copper grid) และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหยด 2% สารละลายกรดฟอสฟอรัสที่แห้งที่อุณหภูมิห้องและนำไปสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน

4) การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด เป็นการสำรวจการเปลี่ยนแปลงไขมัน เลือกตำรับ SLNs-2 ไปทำให้แห้งเยือกแข็งและนำไปวิเคราะห์ โดยชั่งน้ำหนักของตัวอย่างประมาณ 8-11 มิลลิกรัม ใส่ลงในอะลูมิเนียมแพน (aluminium pan) ปิดด้วยฝาให้สนิทแล้วเจาะบนฝา 1 รู จากนั้นนำไปวิเคราะห์ โดยใช้แพนเปล่าเป็นตัวอ้างอิงภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน อัตราในการให้ความร้อน (heating rate) อยู่ที่ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5-90 องศาเซลเซียส ผลที่ได้จากเทอร์โมแกรม (thermogram) คือ จุดหลอมเหลว (melting point) และเอนทัลปี (enthalpy; ΔH) แล้วนำค่าเอนทัลปีที่ได้มาคำนวณหาค่าสภาพเป็นผลึก (crystallinity, %C) ตามสมการข้างล่าง (Han, et al. 2008)

$$\%C = \frac{\text{Enthalpy}_{\text{Freeze-dried SLNs}}}{\text{Enthalpy}_{\text{buik}}} \times 100 \quad (4)$$

โดยที่ $\text{Enthalpy}_{\text{Freeze-dried SLNs}}$ คือ พงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและ พงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดชิง

$\text{Enthalpy}_{\text{buik}}$ คือ กรดสเดียริก

3.2.5 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย

การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกายทำการทดสอบโดยอุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว ผิวหนังที่ใช้คือคราบงูเหลือม พื้นที่ที่คราบงูทำหน้าที่เป็นเมมเบรน คือ 1.65 ตารางเซนติเมตร และตัวบรรจุสารละลายรองรับตัวยาที่ซึมผ่านผิวหนัง (receptor chamber) มีปริมาตร 12.85 มิลลิลิตร นำคราบงูเหลือมแช่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเป็นกรดต่าง 7.4 (phosphate buffer pH 7.4) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลายผสมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเป็นกรดต่าง 7.4 และ 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 7:3 โดยปริมาตร (v/v) ลงในส่วนบรรจุสารละลายรองรับตัวยาที่ซึมผ่านผิวหนัง (เอทานอลใช้เป็นตัวละลาย 6-จินเจอร์อล) แล้วเติมตัวอย่างตำรับสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดชิง (เลือกตำรับ SLNs-2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในส่วนบรรจุสารละลายยา (donor) ปิดให้แน่นด้วยพาราฟิล์ม ตำรับสารละลายสารสกัดชิงในเอทานอลใช้เป็นตัวควบคุม เซลล์ทดสอบควบคุมอุณหภูมิที่ 32 องศาเซลเซียสและคนสารละลายที่บรรจุในส่วนรองรับ (receiving solution) อย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องคนผสมชนิดแม่เหล็ก ทำการเก็บสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร จากส่วนบรรจุสารละลายรองรับตัวยาที่ซึมผ่านผิวหนัง ที่เวลา 3, 5, 8, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง และเติมสารละลายผสมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเป็นกรดต่าง 7.4 และ 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 7:3 โดยปริมาตร กลับทันทีที่ปริมาตรเท่ากัน จากนั้นทำการกรองสารตัวอย่างผ่านเมมเบรนฟิลเตอร์ (membrane filter) ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ 6-จินเจอร์อล ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะ โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน

3.2.6 การศึกษาความคงตัว

การศึกษาความคงตัวทดสอบทั้งทางกายภาพและเคมี นำตัวอย่างสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงใส่ในขวดไวอัลลีซาปิดสนิท แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ความคงตัวทางกายภาพ วัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัต โดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค ที่ครบรอบ 3 เดือน

ความคงตัวทางเคมี วิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่เหลืออยู่เมื่อครบรอบ 1, 2 และ 3 เดือน ทำการแยกสารสกัดที่ไม่ได้ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการกรองละเอียดเข้มข้น โดยใช้เซนทริฟิวกัลฟิวเตอร์ทิวบ์ ซึ่งมีมวลโมเลกุลที่น้อยที่สุดซึ่งถูกกำจัดด้วยเมมเบรนที่ 10 กิโลดาลตัน นำตัวอย่างสารแขวนลอยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงใส่ลงใน เซนทริฟิวกัลฟิวเตอร์ทิวบ์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรอง ไปวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาร้อยละการกักเก็บสารสำคัญตามสมการที่ 3

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

ใช้สถิติพื้นฐาน คือ ค่าสถิติร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (arithmetic mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) วิเคราะห์ขนาดอนุภาคและประสิทธิภาพในการกักเก็บของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง แล้วทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้สูตร paired t-test (กัลยา วาณิชบัญญัติ, 2545) ซึ่งกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ($p < 0.01$)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิงด้วย

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

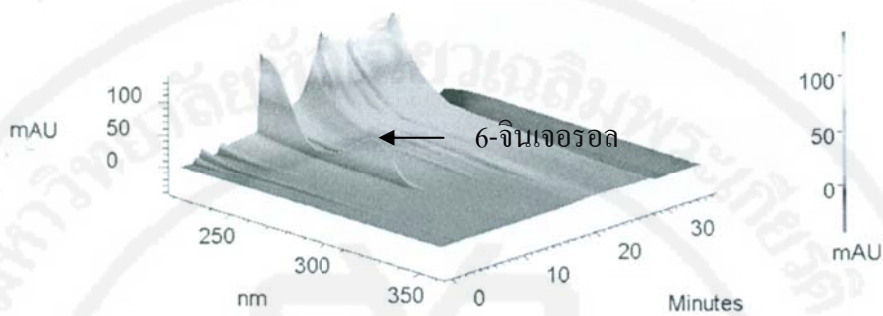
4.1.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

การยืนยันสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล กับ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง ทำการสแกนสเปกตรัมภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอโอดอะเรย์ ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-360 นาโนเมตร เมื่อเทียบสเปกตรัมของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล กับ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง พบว่า มีความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ที่ 282 นาโนเมตร และมีค่ารีเทนชันไทม์ที่ประมาณ 10.75 นาทีเหมือนกัน นอกจากนี้ยังพบว่าภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง ไม่มีฟีกซ้อนทับกัน แสดงว่า 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิงเป็นตัวเดียวกันกับสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 แสดงสเปกตรัมสามมิติ ส่วนภาพที่ 4.3 และ 4.4 แสดงสเปกตรัมมุมมองจากด้านบน

จากการสแกนสเปกตรัมของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล และ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง แสดงความยาวคลื่นสูงสุดที่ 282 นาโนเมตร จึงเลือกความยาวคลื่นนี้ในการตรวจวัด และทำการวิเคราะห์ตามสภาวะของวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ผลการทดลองพบว่า สารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล และ 6-จินเจอร์อลในสารสกัดขิง มีค่ารีเทนชันไทม์ที่ประมาณ 10.60 นาที แสดงโครมาโทแกรมดังภาพที่ 4.5 และ 4.6

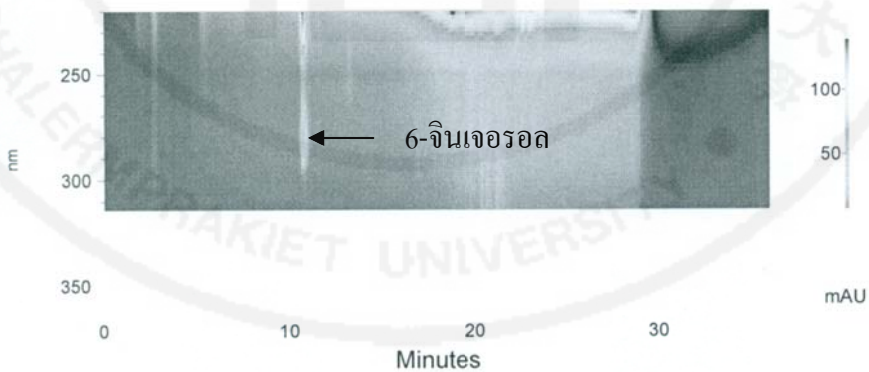
ภาพที่ 4.1

สเปกตรัมสามมิติภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอโอดะเรย์ของ
สารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร



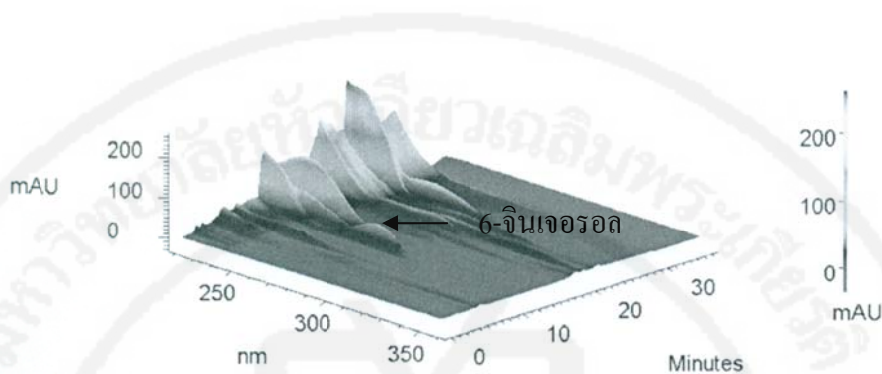
ภาพที่ 4.2

สเปกตรัมมุมมองจากด้านบนภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ดีไอโอดะเรย์
ของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร



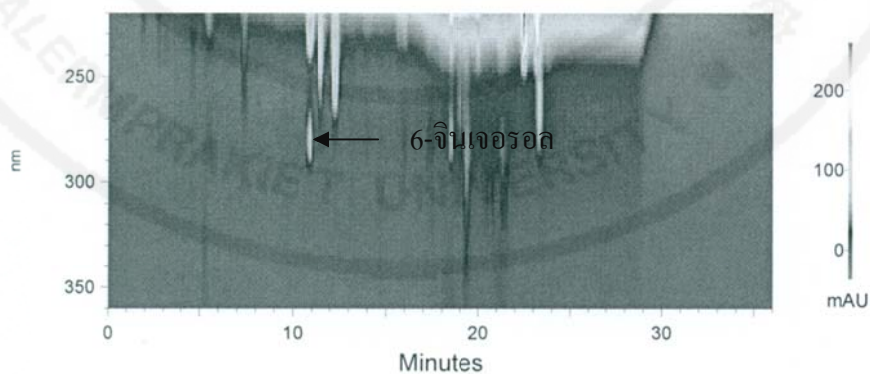
ภาพที่ 4.3

สเปกตรัมสามมิติภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ไดโอดอะเรย์ของ
6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร



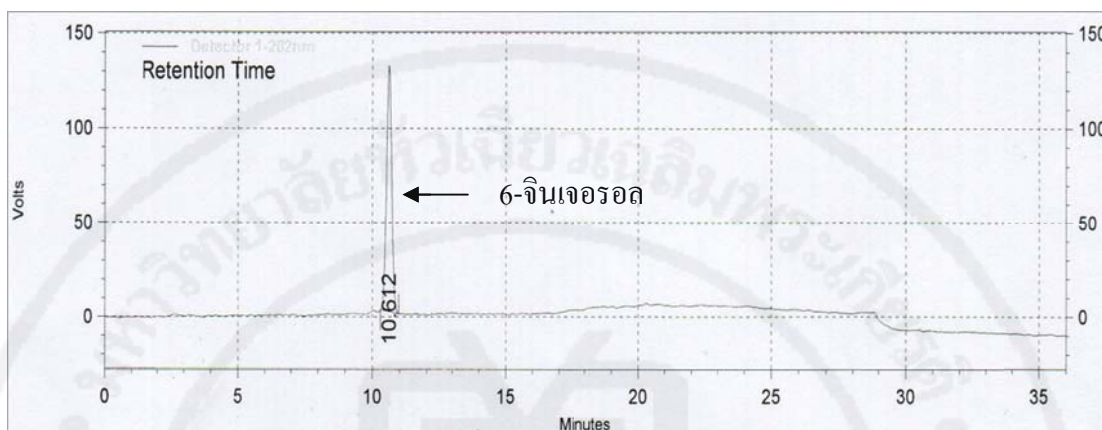
ภาพที่ 4.4

สเปกตรัมมุมมองจากด้านบนภายใต้พื้นที่ได้ฟีกของดีเทกเตอร์ไดโอดอะเรย์
ของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร



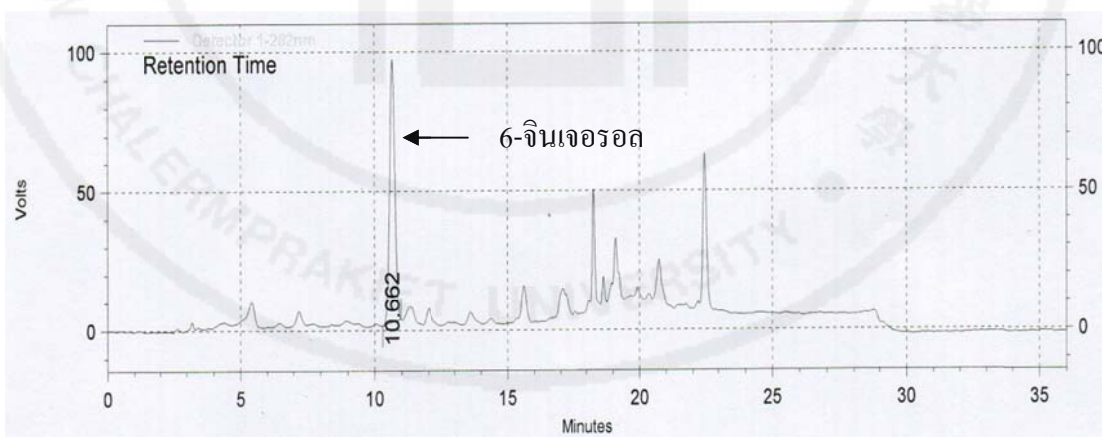
ภาพที่ 4.5

โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล



ภาพที่ 4.6

โครมาโทแกรมของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง



1) ความเป็นเส้นตรงหรือความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

การสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล ทำการนํีสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ความเข้มข้น 2, 3, 4, 5 และ 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สมการเส้นตรงได้จากการสร้างกราฟเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ผลการทดลองแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9992 ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.1

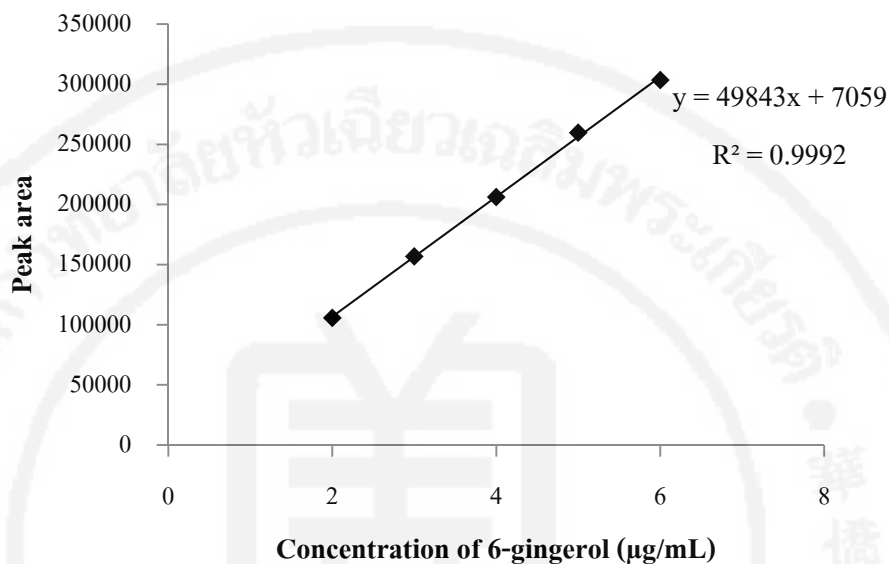
ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล

ลำดับ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	t_R (นาที)	พื้นที่ใต้พีค
1	2	10.83	105759.33
2	3	10.64	156865.00
3	4	10.90	206241.33
4	5	10.98	259754.00
5	6	10.68	303528.00
ความชัน	49843		
จุดตัดแกน y	7059		
r^2	0.9992		

หมายเหตุ : t_R คือ รีเทนชันไทม์ (retention time) และ r^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

ภาพที่ 4.7

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล กับพื้นที่ใต้พีค



2) ความแม่นยำ

การทดสอบความแม่นยำ โดยเติมสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในสารสกัดจริง โดยครอบคลุมช่วงความเข้มข้น 3 ระดับที่ร้อยละ 75.00, 100.00 และ 125.00 ของปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดจริง ผลการกลับคืนของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ที่ระดับร้อยละ 75.00 เท่ากับ ร้อยละ 102.97 ที่ระดับร้อยละ 100.00 เท่ากับ ร้อยละ 96.82 และที่ระดับร้อยละ 125.00 เท่ากับ ร้อยละ 97.70 ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2

ค่าเฉลี่ยร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง

ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง (%)	การกลับคืน (%)
75.00	102.97
100.00	96.82
125.00	97.70
ค่าเฉลี่ย	99.16
SD	1.97

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ความเข้มข้น ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ในแต่ละความเข้มข้น

3) ความเที่ยง

ทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน นำสารสกัดขิง นีคซ่า 6 ครั้ง ในวันเดียวกันและทดสอบความเที่ยงต่างวัน นำสารสกัดขิงตัวอย่างเดียวกับการทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกันมา นีคซ่า 6 ครั้ง ในวันที่ 4 นับถัดจากวันนิตในวันเดียวกัน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของความเที่ยงในวันเดียวกันเท่ากับ 0.92 และต่างวัน มีค่าเท่ากับ 1.13 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4 และความเที่ยงในวันเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล แตกต่างกัน คำนวณได้จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการทดสอบความแม่นยำ ผลการทดลองพบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 1.98 ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.3

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเที่ยงในวันเดียวกันของการวิเคราะห์

ฉีดครั้งที่	สารสกัดชิงความเข้มข้น 3.15 (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)	
	t_R (นาที)	พื้นที่ใต้พีค
1	10.81	164150
2	10.95	165615
3	11.06	164865
4	11.06	165730
5	11.08	161680
6	10.83	163602
ค่าเฉลี่ย	10.97	164274
SD		1514.60
%RSD		0.92

หมายเหตุ : t_R คือ รีเทนชันไทม์ (retention time), SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง และ %RSD คือ ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ 4.4

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเที่ยงต่างวันของการวิเคราะห์

ฉีดครั้งที่	สารสกัดชิงความเข้มข้น 3.15 (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)	
	t_R (นาที)	พื้นที่ใต้พีค
1	10.70	160374
2	10.81	165184
3	10.85	165021
4	10.76	163571
5	10.88	162727
6	10.87	162030
ค่าเฉลี่ย	10.81	163151
SD		1841.97
%RSD		1.13

หมายเหตุ : t_R คือ รีเทนชันไทม์ (retention time), SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง และ %RSD คือ ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ 4.5

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเที่ยงในวันเดียวกัน
ที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล แตกต่างกัน

ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง (%)	การกลับคืน (%)
75.00	102.97
100.00	96.82
125.00	97.70
ค่าเฉลี่ย	99.16
SD	1.97
%RSD	1.98

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ความเข้มข้น ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง
ในแต่ละความเข้มข้น และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง

การวิเคราะห์หาปริมาณของ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง โดยการเจือจางสารสกัดขิง 1 มิลลิลิตร ใน เมทานอล 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองผ่านเมมเบรนฟิลเตอร์ ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ 6-จินเจอร์อล โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล พบว่า มีปริมาณ 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิงที่ได้จากการสกัดด้วยอะซิโตน เท่ากับ 122.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 12.01 ของน้ำหนักสารสกัดขิง 100 กรัม

4.2 การเตรียมนานาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

4.2.1 การเตรียมนานาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

จากการศึกษาเบื้องต้น ไขมันแข็งที่ทำการศึกษาได้แก่ คือ กรดสเตียริก และ กลีเซอรอล โมโนสเตียเรต ส่วนสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ ได้แก่ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40, โพลอกซาเมอร์ 188 และ ทวิน 80 และสารลดแรงตึงผิวร่วมที่ใช้ คือ เอทานอล จากการทดลองพบว่า สารลดแรงตึงผิวผสมทั้ง โพลอกซาเมอร์ 188 กับ เอทานอล และ ทวิน 80 กับ เอทานอล เมื่อผสมกับไขมันหลอมของกรด สเตียริกหรือกลีเซอรอลโมโนสเตียเรต ไม่สามารถฟอร์มตัวเป็นไมโครอิมัลชันได้ ส่วนสารลดแรงตึงผิวผสมระหว่าง ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล เมื่อผสมกับไขมันหลอมของกรด สเตียริกหรือกลีเซอรอลโมโนสเตียเรต สามารถฟอร์มตัวเป็นไมโครอิมัลชันได้ แต่เมื่อผสมกับ กลีเซอรอลโมโนสเตียเรต เกิดการตกตะกอนหลังจากตั้งทิ้งไว้ภายใน 1 สัปดาห์ ดังนั้นจึงเลือก กรดสเตียริก เป็นไขมันแข็ง และสารลดแรงตึงผิวผสม ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล ใน การศึกษาต่อไป

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ ที่มีส่วนผสมของปริมาณร้อยละ 10.00 โดย น้ำหนัก ของกรดสเตียริก และปริมาณร้อยละ 10.00-30.00 โดยน้ำหนัก ของสารลดแรงตึงผิวผสม ในอัตราส่วน 1:1 ของ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 (สารลดแรงตึงผิว) กับ เอทานอล (สารลดแรงตึงผิว ร่วม) ทำการสังเกตลักษณะปรากฏทางกายภาพและวัดขนาด หลังจากครบ 1 วัน และหลังเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ ดังแสดงใน ตารางที่ 4.6 จากตารางจะเห็นได้ว่า ตำรับที่มีส่วนผสมของ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และ เอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 15.00-25.00 โดยน้ำหนัก (ตำรับ 2-4) มีลักษณะขาวขุ่น และกระจายตัวดี ดัง แสดงในภาพที่ 4.8 ส่วนความเข้มข้นที่ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และร้อยละ 30.00 โดยน้ำหนัก ไม่สามารถทำให้ กรดสเตียริก-นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งคงตัว ทั้งนี้ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และ เอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก เกิดการตกตะกอนสีขาวภายใน 1 วัน ส่วน ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และ เอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 30.00 โดยน้ำหนัก เกิดการตกตะกอนสี ขาวหลังจากเก็บรักษาภายใน 1 เดือน

ภาพที่ 4.8

ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ (ซ้าย) และ
ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง (ขวา)



ตารางที่ 4.6

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

ตำรับ	กรดสเตียริก (%w/w)	ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 (%w/w)	เอทานอล (%w/w)	น้ำ (%w/w)	ลักษณะปรากฏทางกายภาพ	
					1 วัน	3 เดือน
1	10.00	10.00	10.00	70.00	P1D	-
2	10.00	15.00	15.00	60.00	+	+
3	10.00	20.00	20.00	50.00	+	+
4	10.00	25.00	25.00	40.00	+	+
5	10.00	30.00	30.00	30.00	+	P1M

หมายเหตุ : + คือ ขาวขุ่น กระจายตัวดี, - คือ ไม่สังเกต, P1D (precipitation within 1 day) คือ เกิดการตกตะกอนขาวภายใน 1 วัน และ P1M (precipitation within 1 month) คือ เกิดการตกตะกอนขาวภายใน 1 เดือน

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญเมื่อครบ 1 วัน วัดด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัตโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.7 จากตารางจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วม พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยมีค่าลดลงโดยมีขนาดอยู่ในช่วง 521.00-443.13 นาโนเมตร และค่า PI อยู่ในช่วง 0.23-0.30 หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน เปรียบเทียบกับเริ่มต้นพบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 554.70-484.43 นาโนเมตร และค่า PI อยู่ในช่วง 0.17-0.28

ตารางที่ 4.7

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

ตัวรับ	เริ่มต้น (1 วัน)		3 เดือน	
	ขนาด (nm)	PI	ขนาด (nm)	PI
1	-	-	-	-
2	521.00 ± 9.65	0.24 ± 0.00	554.70 ± 10.26	0.24 ± 0.01
3	456.00 ± 4.07	0.23 ± 0.03	496.50 ± 04.20	0.17 ± 0.03
4	443.13 ± 2.93	0.30 ± 0.01	484.43 ± 07.38	0.28 ± 0.02
5	435.47 ± 5.03	0.30 ± 0.01	-	-

หมายเหตุ : - คือ ไม่ได้ทำการวัด, แต่ละตัวรับแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ครั้ง, PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค และ nm คือ นาโนเมตร

4.2.2 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสกัดขิง

เมื่อทำการศึกษาการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ พบว่าตัวรับที่มีส่วนผสมของกรดสเตียริก ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล ร้อยละ 15.00-25.00 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 มีความคงตัวทางกายภาพดีจึงเลือกมาทำการบรรจุ

สารสกัดขิง โดยกำหนดให้ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวมที่ใช้ร้อยละ 15.00, 20.00 และ 25.00 โดยน้ำหนัก คือ ตำรับ SLNs-1, SLNs-2 และ SLNs-3 ตามลำดับ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้ ทุกตำรับเป็นสารแขวนลอยสีเหลืองอ่อนขุ่นตามสีของสารสกัดขิงและกระจายตัวดี ดังภาพที่ 4.8

4.3 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

4.3.1 ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงเมื่อครบ 1 วัน วัดด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัตโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค แต่ละตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8

ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

ตำรับ	สารลดแรงตึงผิว (%w/w) (Chemophor RH 40)	สารลดแรงตึงผิวรวม (%w/w) (เอทานอล)	ขนาด (nm)	PI
SLNs-1	15.00	15.00	551.70 ± 13.64	0.30 ± 0.05
SLNs-2	20.00	20.00	466.00 ± 4.30	0.15 ± 0.01
SLNs-3	25.00	25.00	453.10 ± 2.93	0.33 ± 1.73

หมายเหตุ : แต่ละตำรับแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

จากตารางที่ 4.8 เมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวมจากร้อยละ 15.00 โดยน้ำหนัก ถึงร้อยละ 25.00 โดยน้ำหนัก พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยมีค่าลดลงจาก 551.70 ถึง 453.10 นาโนเมตร และค่า PI อยู่ในช่วง 0.15-0.33

4.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บ

การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บและค่าความจุในการกักเก็บของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง ทำการแยกสารสกัดที่ไม่ได้ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งด้วยวิธีการกรองยิ่งยวด โดยใช้เซนทริฟิวกัลฟิวเตอร์ทิวบ์ นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรอง ไปวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาร้อยละการกักเก็บและค่าความจุของการกักเก็บ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9

การกักเก็บและค่าความจุในการกักเก็บของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

ตำรับ	สารลดแรงตึงผิว (%w/w) (ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40)	สารลดแรงตึงผิวรวม (%w/w) (เอทานอล)	%EE	%LC
SLNs-1	15.00	15.00	85.23 ± 0.14	1.41 ± 0.01
SLNs-2	20.00	20.00	88.14 ± 0.20	1.46 ± 0.01
SLNs-3	25.00	25.00	90.07 ± 0.59	1.49 ± 0.01

หมายเหตุ : แต่ละตำรับแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, %EE คือ ร้อยละประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ และ %LC คือ ร้อยละค่าความจุในการกักเก็บ

จากตารางที่ 4.9 พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวม ประสิทธิภาพในการกักเก็บมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 85.23 ถึง ร้อยละ 90.07 และค่าความจุของการกักเก็บมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.41 ถึง ร้อยละ 1.49

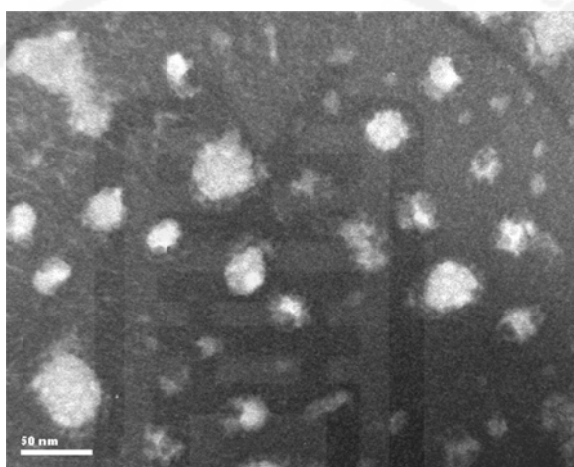
4.3.3 ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง

ลักษณะรูปร่างของอนุภาคไขมันแข็งส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน นำตัวอย่างวางบนคอปเปอร์กริดและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการย้อมแบบเนกาตีฟ ด้วย 2%

สารละลายฟอสโฟทังสเตนิก แอซิด ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และนำไปสำรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ผลการตรวจสอบดังแสดงตามภาพที่ 4.9 จากภาพแสดงให้เห็นว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้มีรูปร่างเป็นทรงกลม

ภาพที่ 4.9

TEM ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงสูตรตำรับ SLNs-2



4.3.4 การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด

ทดสอบการเปลี่ยนรูปแบบไขมันด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด โดยชั่งน้ำหนักของตัวอย่าง ประมาณ 8-11 มิลลิกรัมใส่ลงในอะลูมิเนียมแพน โดยใช้แพนเปล่าเป็นตัวอ้างอิงภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน อัตราในการให้ความร้อนอยู่ที่ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5-90 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.10

จากตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.10 จะเห็นว่า กรดสเตียริก แสดงพีกหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 58.70 และ 60.10 องศาเซลเซียส ทำให้ทราบว่า กรดสเตียริก ที่ใช้ในการทดลองไม่บริสุทธิ์ ผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ (unloaded-SLNs) แสดงพีกหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 24.30 และ 49.80 องศาเซลเซียส และผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง (loaded-SLNs) แสดงพีกหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 23.70 และ 49.20 องศาเซลเซียส ซึ่งพีกหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 24.30 และ 23.70 องศาเซลเซียส ของผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและผงนาโนพาร์ทิเคิล

ไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง คือ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 (สารลดแรงตึงผิว) และฟีกหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 49.20 และ 49.80 องศาเซลเซียส คือ กรดสเตียริก ที่อยู่ในตำรับ ส่วนสารสกัดขิงไม่แสดงฟีกหลอมเหลว และไขมันแข็งในผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญมีสภาพเป็นผลึกร้อยละ 44.26 ส่วนผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีความเป็นผลึกร้อยละ 37.62 ซึ่งไขมันแข็งในทั้งสองตำรับมีสภาพเป็นผลึกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรดสเตียริกที่มีสภาพเป็นผลึกร้อยละ 100.00

ตารางที่ 4.10

ข้อมูลเทอร์โมแกรม DSC ของ loaded-SLNs, unloaded-SLNs
สารสกัดขิง และ กรดสเตียริก

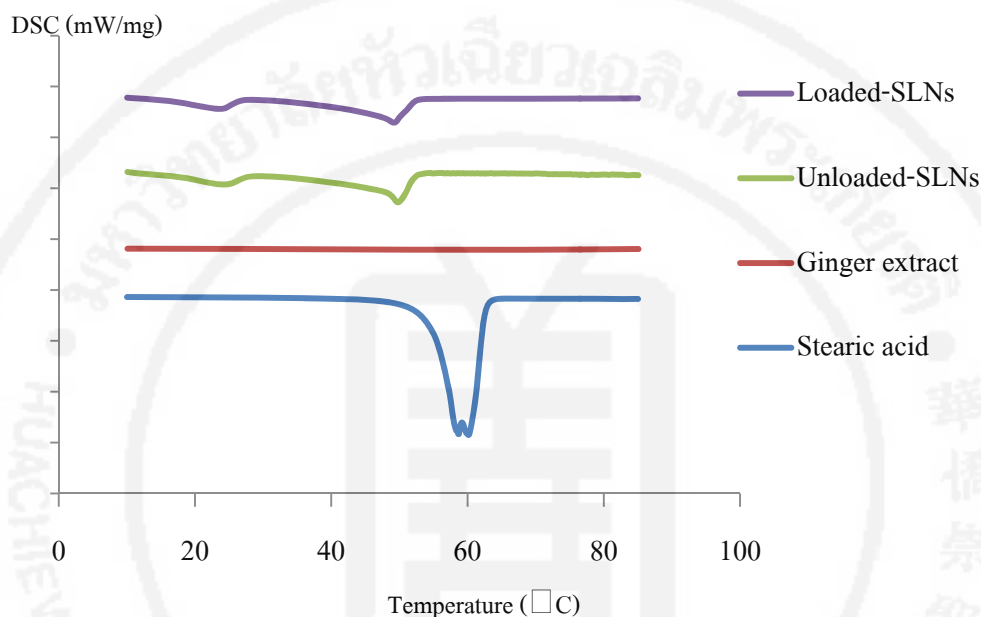
ตัวอย่าง	จุดหลอมเหลวจุดที่ 1 ($^{\circ}\text{C}$)	จุดหลอมเหลวจุดที่ 2 ($^{\circ}\text{C}$)	เอนทาลปี (ΔH , J/g)	สภาพเป็นผลึก (%C)
Loaded-SLNs	23.70	49.20	70.32	37.62
Unloaded-SLNs	24.30	49.80	82.73	44.26
สารสกัดขิง	-	-	-	-
กรดสเตียริก	58.70	60.10	186.90	100.00

หมายเหตุ : - คือ ไม่แสดงฟีกหลอมเหลว เอนทาลปี และความเป็นผลึก, Loaded-SLNs คือ ผงนาโนพาร์ทิเคิล ไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง และ Unloaded-SLNs คือ ผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

ภาพที่ 4.10

เทอร์โมแกรมจาก DSC ของ loaded-SLNs, unloaded-SLNs

สารสกัดขิง และ กรดสเตียริก



หมายเหตุ : Loaded-SLNs คือ ฟงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง และ Unloaded-SLNs คือ ฟงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ

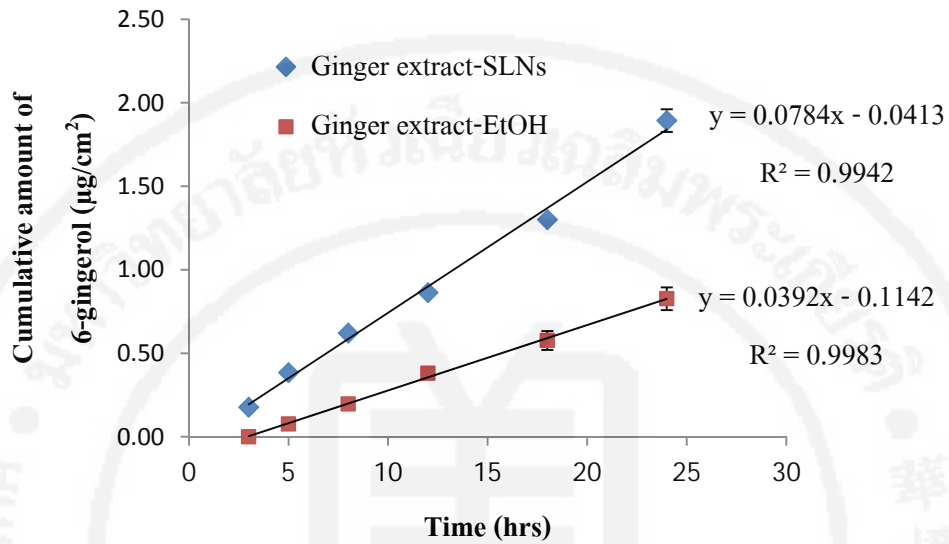
4.4 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอก

เลือกตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่มีส่วนผสมของกรดสเตียริกร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับ เอทานอล ร้อยละ 20.00 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 ที่เติมสารสกัดขิงปริมาณ 6-จินเจอร์อล 40 ไมโครกรัม มาศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกโดยใช้คราบงูเหลือมเป็นเมมเบรน ศึกษาเปรียบเทียบกับตำรับสารละลายสารสกัดขิงที่มีปริมาณเท่ากันในเอทานอล ศึกษาโดยใช้อุปกรณ์ศึกษาการซึมของสารผ่านผิว ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และได้ทำการเก็บตัวอย่างในส่วนบรรจุสารละลายรองรับตัวยาที่ซึมผ่านผิวหนัง ที่เวลา 3, 5, 8, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล แล้วคำนวณเป็นปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล

ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.11 และ 4.12 จากภาพที่ 4.11 เป็นการสร้างกราฟระหว่างเวลา (ชั่วโมง) กับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ของทั้งสองตำรับ ส่วนภาพที่ 4.12 เป็นการสร้างกราฟระหว่างเวลาที่สองของเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ของทั้งสองตำรับเช่นกัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) จากภาพที่ 4.11 พบว่า ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง (Ginger extract-SLNs) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9942 และตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล (Ginger extract-EtOH) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9983 ส่วนภาพที่ 4.12 พบว่า ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9706 และตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9842 จะเห็นได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จากภาพที่ 4.11 มีค่าใกล้เคียง 1 มากกว่า ดังนั้นการซึมผ่านผิวจึงเป็นไปตามจลศาสตร์ลำดับที่ศูนย์ (zero order kinetics) และตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงสามารถช่วยเพิ่มการซึมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านคราบงูได้ดีกว่าตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล ซึ่งหลังจาก 24 ชั่วโมง ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล ของตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงเท่ากับ 1.89 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร คิดเป็นร้อยละ 4.74 ตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล เท่ากับ 0.83 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร คิดเป็นร้อยละ 2.07 และ ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง มีอัตราการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อล ที่เวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0.08 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อชั่วโมง ตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล มีอัตราการซึมผ่าน เท่ากับ 0.04 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.11

ภาพที่ 4.11

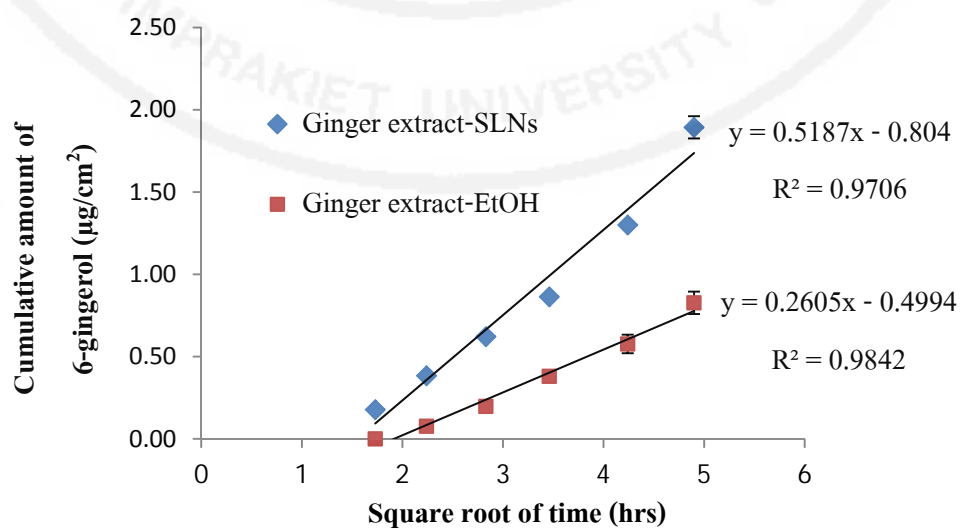
ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล



หมายเหตุ : แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ภาพที่ 4.12

ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล



หมายเหตุ : แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.11

พารามิเตอร์ของการซึมผ่านผิวของความสัมพันธ์
ระหว่างเวลากับปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล

ตำรับ	ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	สมการเส้นตรง	อัตราการซึมผ่านผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)
Ginger extract-SLNs	1.89 ± 0.06	$y = 0.0784x - 0.0413$	0.08
Ginger extract-EtOH	0.83 ± 0.06	$y = 0.0392x - 0.1142$	0.04

หมายเหตุ : Ginger extract-SLNs คือ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง, Ginger extract-EtOH คือ สารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล และแต่ละตำรับแสดงค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

4.5 การศึกษาความคงตัว

4.5.1 การศึกษาความคงตัวทางกายภาพ

ความคงตัวทางกายภาพ เก็บตัวอย่างนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่อุณหภูมิ 4 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวัดขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยวิธีการกระเจิงแสงแบบพลวัตโดยใช้เครื่องวัดขนาดอนุภาค ที่ครบ 3 เดือน ผลการทดลองดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12

ผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส ต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

สูตรตำรับ	4 องศาเซลเซียส (3 เดือน)		30±2 องศาเซลเซียส (3 เดือน)	
	ขนาด (nm)	PI	ขนาด (nm)	PI
SLNs-1	565.10 ± 10.90	0.29 ± 0.03	1632.13 ± 25.86	0.25 ± 0.01
SLNs-2	502.80 ± 07.44	0.16 ± 0.03	1370.20 ± 35.86	0.13 ± 0.09
SLNs-3	497.80 ± 29.05	0.15 ± 0.03	1233.07 ± 25.03	0.32 ± 0.06

หมายเหตุ : แต่ละตำรับแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

จากตารางที่ 4.12 ขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากอยู่ในช่วง 551.70- 453.10 นาโนเมตร (ขนาดอนุภาคเริ่มต้น ตารางที่ 4.8) เป็น 565.10-497.80 นาโนเมตร และค่า PI อยู่ในช่วง 0.15-0.29 และเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดอนุภาคเฉลี่ยเก็บที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 4.12) พบว่ามีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมาก จากอยู่ในช่วง 551.70- 453.10 นาโนเมตร เป็น 1632.13 -1233.07 นาโนเมตร และค่า PI อยู่ในช่วง 0.13-0.32

4.5.2 การศึกษาความคงตัวทางเคมี

ความคงตัวทางเคมี เก็บตัวอย่างนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่อุณหภูมิ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ 6-จินเจอร์อล ที่เหลืออยู่ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ที่เวลา 1, 2 และ 3 เดือน ผลการทดลองดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13

ผลของอุณหภูมิที่ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส ต่อความคงตัวของเคมี
ของ 6-จินเจอร์อล ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

สูตรตำรับ	4 องศาเซลเซียส			30±2 องศาเซลเซียส		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน
SLNs-1	84.51 ± 0.20	84.42 ± 0.30	84.18 ± 0.11	82.73 ± 0.30	83.53 ± 0.71	81.92 ± 0.89
SLNs-2	87.25 ± 0.23	87.73 ± 0.11	87.00 ± 0.12	86.44 ± 0.24	87.49 ± 0.11	86.04 ± 0.57
SLNs-3	88.30 ± 0.11	89.26 ± 0.61	88.05 ± 0.41	87.25 ± 0.23	88.86 ± 0.20	87.57 ± 0.30

หมายเหตุ : แต่ละตำรับแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

จากตารางที่ 4.13 หลังจากเก็บตัวอย่างนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่อุณหภูมิ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ทำการวิเคราะห์เมื่อครบรอบ 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า ทุกตำรับมีความคงตัวของเคมี โดยพบว่าปริมาณของ 6-จินเจอร์อล ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเริ่มต้น 0 วัน (ตารางที่ 4.9) จากช่วงร้อยละ 85.51-90.07 เป็นช่วงร้อยละ 81.92-87.57

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงสามารถเตรียมได้ด้วยวิธีไมโครอิมัลชัน ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมมีผลต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยและประสิทธิภาพ ในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุการกักเก็บ โดยเมื่อปริมาณของสารลดแรงตึงผิวและสารลด แรงตึงผิวร่วมเพิ่มขึ้นทำให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยลดลง ในทางตรงกันข้ามประสิทธิภาพในการกักเก็บ สารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บมีค่าเพิ่มขึ้น ดำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง ที่ดีที่สุดจากการทดลองประกอบด้วยกรดสเตียริกปริมาณร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก ครีโมฟอร์ อาร์ เอช 40 ร้อยละ 25.00 โดยน้ำหนัก และเอทานอลร้อยละ 25.00 โดยน้ำหนัก สารสกัดขิงร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก คือมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย เท่ากับ 453.10 นาโนเมตรและประสิทธิภาพในการกักเก็บ สารสำคัญเท่ากับร้อยละ 90.07 นอกจากนี้นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่เตรียมได้มี ลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมและไขมันแข็งในดำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงอยู่ ในรูปของผลึกอสัณฐาน ทุกดำรับของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีความคงตัวทาง ภายภาพที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มากกว่า 30 ± 2 องศาเซลเซียส และ 6-จินเจอร์อล มีความคงตัว ทางเคมีในอนุภาคไขมันแข็งทั้งที่อุณหภูมิ 4 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใน 3 เดือน มากกว่านี้ นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่พัฒนาขึ้นสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสารสำคัญใน สารสกัดขิงเข้าสู่ผิวหนังจึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ภายนอกสำหรับผิวหนัง

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์รอล ในช่วงความเข้มข้น 2-6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการเส้นตรงแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ดีเท่ากับ 0.9992 จากผลการทดสอบความแม่นยำว่าร้อยละการกลับคืนของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์รอล ที่ระดับร้อยละ 75.00 เท่ากับ ร้อยละ 102.97 ที่ระดับร้อยละ 100.00 เท่ากับ ร้อยละ 96.82 และที่ระดับร้อยละ 125.00 เท่ากับ ร้อยละ 97.70 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 99.16 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของร้อยละการกลับคืนตาม A.O.A.C. (2005) อยู่ในช่วงร้อยละ 80.00-120.00 ในแต่ละระดับ ส่วนการทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน และต่างวันของ 6-จินเจอร์รอล ในสารสกัดขิงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเที่ยงในวันเดียวกันและต่างวัน มีค่าไม่เกิน 2 ซึ่งเป็นไปตามค่ากำหนด ผลของการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แสดงสมการเส้นตรง ความแม่นยำ และความเที่ยงที่ดี แสดงว่าวิธีที่ทำการตรวจสอบมีความถูกต้องและมีความเหมาะสมในการนำมาวิเคราะห์

5.2.2 การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็ง

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญ พบว่าตำรับที่มีส่วนผสมของ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และ เอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 15.00-25.00 โดยน้ำหนัก มีลักษณะขาวขุ่น และกระจายตัวดี และหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจากอนุภาคเฉลี่ยเริ่มต้นและมีการกระจายขนาดอนุภาคที่แคบ (PDI 0.35) ส่วนความเข้มข้นที่ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และร้อยละ 30.00 โดยน้ำหนัก ไม่สามารถทำให้กรดสเตียริก-นาโนพาร์ทิเคิลไขมันมันแข็งคงตัว ทั้งนี้ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และเอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก เกิดการตกตะกอนสีขาวภายใน 1 วัน เนื่องจากในตำรับมีปริมาณสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงรวมไม่เพียงพอในการห่อหุ้มไขมันจึงทำให้ตกตะกอนลงมา ส่วน ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และ เอทานอล ความเข้มข้นที่ร้อยละ 30.00 โดยน้ำหนัก เกิดการตกตะกอนสีขาวหลังจากเก็บรักษาภายใน 1 เดือน เนื่องจากเมื่อปริมาณของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงรวมสูงโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวเหล่านี้ไปเกาะที่พื้นผิวของอนุภาคเกิดเป็นลูป

(loops) และทางทำให้เกิดการเชื่อมกันระหว่างอนุภาคในที่สุดอนุภาครวมตัวกันเกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และตกตะกอนลงมา ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Freitas and Müller (1999), Goppert and Müller (2005) และ Tiyaboonchai และคณะ (2007) กล่าวไว้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวสูงในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทำให้เกิดการรวมกันเป็นอนุภาคใหญ่ขึ้นและตกตะกอน

จากข้อมูลข้างต้นสรุปได้ว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญที่มีส่วนของกรดสเตียริกร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับเอทานอลร้อยละ 15.00-25.00 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 เป็นตำรับที่มีความคงทางกายภาพที่ดี จึงเลือกตำรับดังกล่าวมาทำการเตรียมสารสกัดต่อไป

การเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดจึง ทำการเลือกจากตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญที่มีความคงทางกายภาพที่ดี คือตำรับที่มีส่วนประกอบของกรดสเตียริกร้อยละ 10.00 โดยน้ำหนัก และครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 กับเอทานอล ร้อยละ 15.00-25.00 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1:1 พบว่าทุกตำรับมีลักษณะปรากฏทางกายภาพเป็นสารแขวนลอยสีเหลืองขุ่นตามสีของสารสกัดและมีกระจายตัวดี

5.2.3 การประเมินคุณลักษณะเคมีกายภาพของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัด

1) ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค

เมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวมจากร้อยละ 15.00 โดยน้ำหนัก ถึงร้อยละ 25.00 โดยน้ำหนัก พบว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยลดลงจาก 551.70 ถึง 453.10 นาโนเมตร การเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถลดแรงตึงผิวระหว่างเมทริกซ์ของไขมันกับวัฏภาคของน้ำ (dispersion medium) ดังนั้น จึงส่งผลให้ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีขนาดอนุภาคที่เล็กลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ You และคณะ (2007) ได้ทำการทดลองเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่าเมื่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวในตำรับสูงขนาดอนุภาคเฉลี่ยลดลง ส่วน PI ซึ่งเป็นค่าบอกการกระจายขนาดอนุภาค ค่า PI ต่ำ การกระจายขนาดอนุภาคแคบในการทำงานเดียวกัน ค่า PI สูง การกระจายขนาดอนุภาคกว้าง จากผลการทดลองพบว่า ค่า PI อยู่ในช่วง

0.15-0.33 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.35 แสดงว่าอนุภาคไขมันแข็งที่เตรียมได้มีการกระจายขนาดอนุภาคแคบ (Ali, et al. 2010)

2) การทดสอบประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญและค่าความจุในการกักเก็บ

เมื่อเพิ่มปริมาณของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวรวมจากร้อยละ 15.00 โดยน้ำหนัก ถึงร้อยละ 25.00 โดยน้ำหนัก พบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 85.23 ถึงร้อยละ 90.07 และค่าความจุในการกักเก็บมีค่าเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.41 ถึงร้อยละ 1.49 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวรวมมีส่วนสำคัญในการเพิ่มการกักเก็บของสารสำคัญ (6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง) ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Liu และคณะ (2007) กับ Lv และคณะ (2009) ที่ได้ทำการทดลองโดยเพิ่มปริมาณสารลดแรงตึงผิวในสูตรตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บมีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่มีปริมาณของสารลดแรงตึงผิวสูง ส่งผลให้สารสำคัญสามารถกระจายตัวหรือละลายได้มากขึ้นจึงทำให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บสูงขึ้น

3) ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง

ลักษณะรูปร่างของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่ทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน แสดงให้เห็นว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีรูปร่างเป็นทรงกลม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zhang และคณะ (2000) ที่ได้ทำการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุไซโคลสปอริน เอ (cyclosporine A) โดยใช้กรดสเตียริกเป็นไขมันแข็ง และรายงานของ Tiyaaboonchai และคณะ (2007) ทำการเตรียมนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุเคอร์คิวมินอยด์ และใช้กรดสเตียริกเป็นไขมันแข็งเช่นเดียวกันกับการทดลองในครั้งนี้ พบว่า นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่เตรียมได้มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลม

4) การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดแยกปริมาณความร้อนแบบส่องกราด เป็นการสำรวจการเปลี่ยนแปลงรูปแบบไขมัน จากผลการทดลองจะเห็นว่า ผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีจุดหลอมเหลวและค่าเอนทัลปีลดลงเมื่อเทียบกับจุดหลอมเหลวและค่าเอนทัลปีของกรดสเตียริก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของเคลวิน (Kelvin effect)

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการมีสารลดแรงตึงผิวในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง ในการศึกษาครั้งนี้คือ ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40 และเอทานอล สามารถลดแรงตึงผิวและพลังงานอิสระบนพื้นผิวระหว่างโมเลกุลของไขมันกับสารละลายสารลดแรงตึงผิว (surfactant solution) ดังนั้นจึงส่งผลให้ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีพื้นผิวมากขึ้นและมีขนาดอนุภาคเล็กลงซึ่งจะช่วยลดปริมาณของพลังงานที่จำเป็นต้องใช้สำหรับการวิเคราะห์ผลึกของเมทริกซ์ไขมัน (Ali, et al. 2010) นอกจากนี้ผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดจึงมีความสูงของพีคจุดความร้อนน้อยกว่าผลึกกรดสเตียริก แสดงให้เห็นว่าสภาพเป็นผลึกหายไป สอดคล้องกับการรายงานของ Patthak and Nagarsenker (2009) ในทำนองเดียวกันสภาพเป็นผลึกของไขมันแข็งในตำรับมีค่าน้อยกว่ากรดสเตียริก แสดงว่าไขมันแข็งของผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งไม่บรรจุสารสำคัญและผงนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดจึงมีสภาพเป็นผลึกลดลงหรืออยู่ในรูปของผลึกอสัณฐาน สอดคล้องกับรายงานของ Han และคณะ (2008) แสดงให้เห็นว่าเกิดการปฏิสัมพันธ์กัน (interaction) ระหว่าง กรดสเตียริก และสารลดแรงตึงผิวในตำรับ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปผลึกต่างไปจากเดิม

5.2.4 การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกาย

จากการศึกษาเปรียบเทียบการซึมผ่านผิวหนังภายนอกกายระหว่างตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง (SLNs-Ginger extract) กับตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล (EtOH-Ginger extract) โดยใช้คราบงูเหลือมเป็นเมมเบรน ซึ่งคราบงูเทียบเท่ากับผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม จากการทดลองพบว่า ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงมีอัตราการซึมผ่านผิวมากกว่าตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล เท่ากับ 0.09 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อล เข้าสู่ผิวหนังได้ดีกว่าตำรับสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล ทั้งนี้ เอทานอล ถือว่าเป็นตัวช่วยเพิ่มการซึมผ่านผิว (skin penetration enhancer) ทั้งนี้จากกล่าวได้ว่าในตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งมีทั้งสารลดแรงตึงผิว (ครีโมฟอร์ อาร์เอช 40) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (เอทานอล) ซึ่งถือว่าเป็นตัวช่วยเพิ่มการซึมผ่านผิวทั้งคู่จึงช่วยเสริมฤทธิ์ (synergy) ในการเป็นสารช่วยเพิ่มการซึมผ่าน จึงทำให้ตำรับนาโนพาร์ทิเคิลไขมัน

แข็งบรรจุสารสกัดจึงสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อล เข้าสู่ผิวหนัง ได้ดีกว่า ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Mei และคณะ (2003) กล่าวว่าปริมาณสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อการซึมผ่านผิวหนังของสารสำคัญ โดยนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งที่มีปริมาณสารลดแรงตึงผิวสูงสามารถช่วยให้สารสำคัญซึมผ่านผิวหนังได้ดีขึ้น นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า การสร้างฟิล์มของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งทำให้เกิดการปกคลุมผิวป้องกันการระเหยของน้ำจึงส่งผลให้สารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ดีขึ้น (Borgia, et al. 2005) จากที่กล่าวมาสรุปได้ว่าสารลดแรงตึงผิวที่เป็นส่วนประกอบของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งและการสร้างฟิล์มของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบนผิวหนังสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อล ผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นหนังกำพร้า และจากภาพที่ 4.11 การซึมผ่านคราบงูของ 6-จินเจอร์อล ที่เตรียมอยู่ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งเป็นไปตามจลศาสตร์ลำดับที่ศูนย์ (zero order kinetics) อธิบายได้ว่าอัตราการซึมผ่านของ 6-จินเจอร์อล ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของ 6-จินเจอร์อล ในตำรับ สาร 6-จินเจอร์อล ค่อยๆ ซึมผ่านคราบงูด้วยอัตราเร็วคงที่

5.2.5 การศึกษาความคงตัว

1) การศึกษาความคงตัวทางกายภาพ

หลังจากเก็บนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดซึ่งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดอนุภาคเริ่มต้นพบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของทุกตำรับไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.01$) และมีการกระจายขนาดอนุภาคที่แคบ ($PI < 0.35$) แสดงว่าทุกตำรับมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี แต่หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าทุกตำรับมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แสดงว่าทุกตำรับไม่มีความคงตัวทางกายภาพเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิมีผลทำให้เกิดความไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ อนุภาครวมตัวกันทำให้อนุภาคใหญ่ขึ้นและตกตะกอนลงมา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wissing และคณะ (2004) พบว่า นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีภายในระยะเวลา 2 ปี เมื่อเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

2) การศึกษาความคงตัวของตัวทางเคมี

หลังจากเก็บนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงที่อุณหภูมิ 4 และ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ทุกตัวรับมีประสิทธิภาพในการกักเก็บ (ปริมาณ 6-จินเจอร์อล) ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวรับที่เตรียมเริ่มต้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อความคงตัวของตัวทางเคมีของ 6-จินเจอร์อลในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง แสดงว่านาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสามารถป้องกันการเสื่อมสลายทางเคมีของสารสำคัญจากอุณหภูมิได้ ทั้งนี้เมื่อสารสกัดขิงที่ถูกเก็บไว้ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอกน้อยลงจึงทำให้เกิดความคงตัวของตัวทางเคมี ในทำนองเดียวกันเคอร์คิวมินอยด์ซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ เมื่อถูกกักเก็บไว้ในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง พบว่า มีความคงตัวของตัวทางเคมี ที่อุณหภูมิห้อง ในระยะเวลา 6 เดือน (Tiyaboonchai, et al. 2007)

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดสอบฤทธิ์ด้านออกซิแดนซ์ของสารสกัดขิงเปรียบเทียบกับสารสกัดขิงที่ถูกกักเก็บในนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง
2. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเป็นผงแห้งของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง
3. ควรศึกษาองค์ประกอบของคราบงูเช่น ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำ และขนาดรูพรุน และควบคุมสภาวะการทดลองให้มีความใกล้เคียงกับผิวหนังมนุษย์

บรรณานุกรม

- กัลยา วานิชย์บัญชา. (2545) การใช้ SPSS for windows ในการวิเคราะห์ข้อมูล. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร : คณะนิเทศศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์. (2551) การเปรียบเทียบกลไกการซึมผ่านผิวหนังของยาและกลไกการออกฤทธิ์ของสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังในคราบงูสายพันธุ์ไทยและผิวหนังมนุษย์. นครปฐม : ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วารภรณ์ จรรยาประเสริฐ. (2552) นานาเทคโนโลยี : การนำส่งยาและเครื่องสำอางทางผิวหนัง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : บริษัท ประชาชน จำกัด.
- สมพร ภูติยานันต์. (2546) ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับแพทย์แผนไทยว่าด้วยสมุนไพรกับแพทย์แผนไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์ตุลย์การพิมพ์เชียงใหม่.
- สุวรรณณี พนมสุข, ชนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์ และ ปราณี โอปณะโสภิต. (2542) การศึกษาเปรียบเทียบการซึมผ่านของตัวยาผ่านคราบงูจากสายพันธุ์ต่าง ๆ. นครปฐม : ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อรุณศรี ปรีเปรม, ธเนศ พงศ์จรรยากุล และ ผดุงขวัญ จิตโรภาส. (กรกฎาคม-ธันวาคม 2547) “เชื้อก้นการแพร่ผ่านจากคราบงูของอาจ” วารสารวิจัย มข. 9 (2) หน้า 11-18.
- A.O.A.C. (2005) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemistry**. 18th ed. Arlington, Virginia, Appendix D. page 9/Appendix E. page 2-3.
- A. Del Pozo-Rodríguez, M.A. Solinís, A.R. Gascón and J.L. Pedraz. (2009) “ short-and long-term stability study of lyophilized solid lipid nanoparticles for gene therapy” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 71 page 181-189.
- Ali, Badreldin H., Blunden, Gerald, Tanira, Musbah O. and Nemmar, Abderrahim. (2008) “Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research” **Food Chemical Toxicology**. 46 page 409-420.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Ali, Hazem, El-Sayed, Khalid, Sylvester, Paul W. and Nazzal, Sami. (2010) “Molecular interaction and localization of tocotrienol-rich fraction (TRF) within the matrices of lipid nanoparticles: Evidence studies by Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Proton Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy (^1H NMR)” **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 77 page 286-297.
- Bhattarai, Sushila, Tran, Van H. and Duke, Colin C. (2007) “Stability of [6]-gingerol and [6]-shogaol in simulated gastric and intestinal fluids” **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 45 page 648-653.
- Borgia, Lombardi S., Regehly M., Sivaramakrishnan R., Mehnert W., Korting H. C., Danker K., et al. (2005) “lipid nanoparticles for skin penetration enhancement-correlation to drug localization within the particle matrix as determined by fluorescence and paretic spectroscopy” **Journal of Controlled Release**. 100 (1) page 225-233.
- Chrubasik, S., Pittler, H. M. and Roufogalis, B. D. (2005) “Zingiberis rhizoma: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles” **Phytomedicine**. 12 page 684-701.
- Ficker, C., Smith, M.L., Akpagana, K., Gbeassor, M., Zhang, J., Durst, T., Assabgui, R. and Arnason, J.T., (2003) “Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger” **Phytother. Res.** 17 page 897-902.
- Freitas, C. and Müller, R. (1999) “Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 47 page 125-132.
- Goppert, T. and Müller, R. (2005) “Protein adsorption patterns on poloxamer- and poloxamine-stabilized solid lipid nanoparticles (SLN)” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 60 page 361-372.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Han, Fei, Li, Sanming, Yin, Ran, Liu, Hongzhuo and Xu, Lu. (2008) “Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructured lipid carriers” **Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Aspects** 315 page 210-216.
- Hawladar, M. N. A., Perera, Conrad O. and Tian, Min. (2006) “Comparison of the Retention of 6-gingerol in Drying of Ginger Under Modified Atmosphere Heat Pump Drying and Other Drying Methods” **Drying Technology**. 24 page 51-56.
- Heurtault, Béatrice, Saulnier, Patrick, Pech, Brigitte, Proust, Jacques Emile and Benoit, Jean Pierre. (2003) “Physico-chemical stability of colloidal lipid particles” **Biomaterials**. 24 page 4283-4300.
- Kawashima, K., Fujimura, Y., Makino, T. and et al. (2006) “Pharmacological properties of traditional medicine (XXXII) : protective effects of Hangeshashinto and the combinations of its major constituents on gastric lesions in rats” **Biol Pharm Bull**. 29 (9) page 1973-1975.
- Lee, Tzung-Yan, Lee, Ko-Chen, Chen, Shih-Yuan and Chang, Hen-Hong. (2009) “6-จินเจอร์อล inhibits ROS and iNOS through the suppression of PKC- α and NF- κ B pathways in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages” **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 382 page 134-139.
- Liu, Jie, Hu, Wen, Chen, Huabing, Ni, Qian, Xu, Huibi and Yang, Xiangliang. (2007) “Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery” **International of Journal Pharmaceutics**. 328 page 191-195.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Lv, Qingzhi, Yu, Aihua, Xi, Yanwei, Li, Houli, Song, Zhimei, Cui, Jing, Cao, Fengliang and Zhai, Guangxi. (2009) “Development and evaluation of penciclovir-loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery” **International Journal of Pharmaceutics**. 372 page 191-198.
- Ma, QuanHong, Xia, Qiang, Lu, YangYan, Hao, XiaoZhen, Gu, Ning, Lin, XiangFei and Luo, Dan. (2007) “Preparation of tea polyphenols-loaded solid lipid nanoparticles based on the phase behaviors of hot microemulsions” **Solid State Phenomena**. Vols. 121-123 page 705-708.
- Mehnert, Wolfgang and Mäder, Karsten. (2001) “Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications” **Advanced Drug Delivery Reviews**. 47 page 165-196.
- Mei, Zhinan, Chen, Huabing, Weng, Ting, Yang, Yajiang and Yang Xiangliang. (2003) “Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 56 page 189-196.
- Müller, R. H., Petersen, R. D., Hommos, A. and Pardeike, J. (2007) “Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products” **Advanced Drug Delivery Reviews**. 59 p 522-530.
- Müller, R. H., Radtke, M. and Wissing S. A. (2002) “Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations” **Advanced Drug Delivery Reviews**. 54 (1) page S131–S155.
- Müller, Rainer H., Mäder, Karsten and Gohla, Sven. (2000) “Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 50 page 161-177.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Pardeike, Jana, Hommoss, Aiman and Müller, Rainer H. (2009) “Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products” **International Journal of Pharmaceutics**. 366 page 170 -184.
- Pathak, Pankaj and Nagarsenker, Mangal. (2009) “Formulation and Evaluation of Lidocaine Lipid Nanosystems for Dermal Delivery” **AAPS PharmSciTech**. Vol. 10, No. 3 page 985-992.
- Penna, S. C., Medeiros, M. V., Aimbire¹, F.S.C., Faria-Neto, H. C. C., Sertié, J. A. A. and Lopes-Martins¹, R. A. B. (2003) “Anti-inflammatory effect of the hydralcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema” **Phytomedicine**. 10 page 381–385.
- Priprem, Aroonsri, Khamlert, Chidchanok, Pongjanyakul, Thaned, Radapong, Sarayut, Rittirod, Theera and Chitropas, Padungkwan. (2008) “Comparative Permeation Studies between Scale Region of Shed Snake Skin and Human Skin *In vitro*” **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**. 3 (2) page 444-450.
- Sandra, R. Georgetti, Rúbia Casagrande, Waldiceu, A. Verri Jr., Renata F.V. Lopez and Maria, J.V. Fonseca. (2008) “Evaluation of in vivo efficacy of topical formulations containing soybean extract” **International Journal of Pharmaceutics**. 352 page 189-196.
- Sanwal, S. K., Rai, N., Singh, Jagdish and Buragohain Juri. (2010) “Antioxidant phytochemicals and gingerol content in diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)” **Scientia Horticulturae**. 124 page 280-285.
- Schwertner, Harvey A. and Rios, Deborah C. (2007) “High-performance liquid chromatographic analysis of 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, and 6-shogaol in ginger-containing dietary supplements, spices, teas, and beverages” **Journal of Chromatography B**. 856 page 41-47.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Sjöström, B and Bergenstahl B. (1992) “Preparation of submicron drug particles in lecithin stabilized o/w emulsion. I. Model studies of the precipitation of cholesteryl acetate” **International Journal of Pharmaceutics**. 88 page 53-62.
- Sharma, S. S., Kochuphillai, V., Gupta, S. K., Seth, S. D. and Gupta, Y. K. (1997) “Antiemetic efficacy of ginger *Zingiber officinale* against cisplatin-induced emesis in dog” **Journal Ethnopharmacol**. 57 page 93-6.
- Shukla, Yogeshwer and Singh, Madhulika. (2007) “Cancer preventive properties of ginger: A brief review” **Food and Chemical Toxicology**. 45 page 683–690.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P. and Gargova, S. (2007) “Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*)” **Food Chemistry**. 102 page 764-770.
- Thomson, M., Al-Qattan, K.K., Al-Sawan, S.M., Alnaqeeb, M.A., Khan, I. and Ali, M., (2002) “The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent” **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acid**. 67 page 475-478.
- Tiyaboonchai, Waree, Tungpradit, Watcharaphorn and Plianbangchang, Pinyupa. (2007) “Formulation and characterization of curcuminoidsloaded solid lipid nanoparticles” **International Journal of Pharmaceutics**. 337 page 299-306.
- Wang, Wei, Li, Chang-Yin, Wen, Xiao-Dong, Li, Ping and Qi, Lian-Wen. (2009) “Simultaneous determination of 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol and 6-shogaol in rat plasma by liquid chromatography–mass spectrometry: Application to pharmacokinetics” **Journal of Chromatography B**. 877 page 671-679.
- Wissing, S. A. and Müller R. H. (2003a) “Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN)” **International of Journal Pharmaceutics**. 254 page 65-68.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Wissing, S. A. and Müller, R. H. (2002) “Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration” **Journal of Controlled Release**. 81 page 225-233.
- Wissing, S. A. and Müller, R. H. (2003b) “The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity - in vivo study” **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 56 page 67-72.
- Wissing, S. A., Kayser, O. and Müller, R. H. (2004) “Solid lipid nanoparticles for paraenteral drug delivery” **Advanced Drug Delivery Reviews**. 56 page 1257-1272.
- You, Jian, Wan, Feng, Cui, Fu de, Sun, Yu, Du, Yong-Zhong, and Hu, Fu qiang. (2007) “Preparation and characteristic of vinorelbine bitartrate-loaded solid lipid nanoparticles” **International Journal of Pharmaceutics**. 343 page 270-276.
- Zhang, Qiang, Yie, Guoqing, Li, Yie, Yang, Qingsong and Nagai, T. (2000) “Studies on the cyclosporine A loaded stearic acid nanoparticles” **International Journal of Pharmaceutics**. 200 page 153-159.
- Teeranachaideekul, Veerawat. (2008) **Nanostructured lipid carriers (NLC)-stability improvement and release modification of ascorbyl palmitate and coenzyme Q10**. Thesis Ph. D. (Pharmaceutics) Bangkok : Graduate Mahidol University.

ข้อมูลเว็บไซต์

- ขนมจีน. (26 เมษายน 2553) ต้มน้ำจิงคลายเครียดช่วยย่อยอาหาร. [ออนไลน์] แหล่งที่มา : <http://board.goosiam.com/html/0128648.html> (2 สิงหาคม 2554)
- Sigmaaldrich. (15 November 2011) **6-gingerol**. [Online] Available : <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/g1046?lang=en®ion=TH> (1 September 2011)



ภาคผนวก



ผนวก ก.

ข้อมูลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ตารางที่ ก.1

ข้อมูลความแม่นยำของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ในสารสกัดขิง

วิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ระดับความเข้มข้น ของสารมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ใน สารสกัดขิง (%)	ความเข้มข้นที่ เติม ($\mu\text{g/mL}$)	ความเข้มข้นที่ ตรวจพบ ($\mu\text{g/mL}$)	การกลับคืน (%)	ค่าเฉลี่ย	SD
75					
n1	2.36	2.38	100.88		
n2	2.36	2.49	105.31	102.97	1.82
n3	2.36	2.42	102.71		
100					
n1	3.15	3.03	96.15		
n2	3.15	3.04	96.39	96.82	0.79
n3	3.15	3.08	97.93		
125					
n1	3.94	3.84	97.54		
n2	3.94	3.69	93.73	97.70	3.31
n3	3.94	4.01	101.83		
ค่าเฉลี่ย				99.16	1.97

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ ก.2

ข้อมูลการสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล ด้วย

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	รีเทนชันไทม์ (นาที)	ค่าเฉลี่ย	พื้นที่ใต้พีค	ค่าเฉลี่ย
2				
n1	10.61		106793	
n2	10.97	10.83	105547	105759.33
n3	10.90		104938	
3				
n1	10.56		163652	
n2	10.58	10.64	156807	156865.00
n3	10.77		150136	
4				
n1	11.08		207026	
n2	11.16	10.80	204781	206241.33
n3	10.16		206917	
5				
n1	10.97		256879	
n2	11.04	10.98	263323	259754.00
n3	10.94		259060	
6				
n1	10.70		310631	
n2	10.63	10.68	296066	303528.00
n3	10.70		303887	



ผนวก ข.

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

ตารางที่ ข.1

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง
ไม่บรรจุสารสำคัญ เริ่มต้น 1 วัน

สูตรตำรับ	ขนาด (nm)	ค่าเฉลี่ย	SD	PI	ค่าเฉลี่ย	SD
2						
n1	524.60			0.24		
n2	530.60	521.00	9.65	0.25	0.24	0.00
n3	507.80			0.24		
3						
n1	460.20			0.20		
n2	457.30	456.00	4.07	0.26	0.23	0.03
n3	450.50			0.24		
4						
n1	442.20			0.29		
n2	440.10	443.13	2.93	0.30	0.30	0.01
n3	447.10			0.30		
5						
n1	442.20			0.300		
n2	430.10	435.37	5.03	0.312	0.304	0.006
n3	434.10			0.299		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

ตารางที่ ข.2

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

ไม่บรรจุสารสำคัญ ครอบรอบ 3 เดือน

สูตรตำรับ	ขนาด (nm)	ค่าเฉลี่ย	SD	PI	ค่าเฉลี่ย	SD
2						
n1	547.70			0.25		
n2	547.20	554.70	10.26	0.25	0.24	0.01
n3	569.20			0.23		
3						
n1	498.30			0.13		
n2	500.50	496.50	4.20	0.19	0.17	0.03
n3	490.70			0.18		
4						
n1	452.20			0.28		
n2	450.10	453.10	7.38	0.30	0.28	0.02
n3	457.10			0.25		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

ตารางที่ ข.3

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็ง

บรรจุสารสกัดขิง เริ่มต้น 1 วัน

สูตรตำรับ	ขนาด (nm)	ค่าเฉลี่ย	SD	PI	ค่าเฉลี่ย	SD
SLNs-1						
n1	537.70			0.34		
n2	547.20	551.70	13.64	0.34	0.30	0.05
n3	570.20			0.23		
SLNs-2						
n1	460.20			0.15		
n2	467.30	466.00	4.30	0.16	0.15	0.01
n3	470.50			0.14		
SLNs-3						
n1	452.20			0.31		
n2	450.10	453.10	2.93	0.35	0.33	1.73
n3	457.10			0.35		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

ตารางที่ ข.4

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดชิง

เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ครอบรอบ 3 เดือน

สูตรตำรับ	ขนาด (nm)	ค่าเฉลี่ย	SD	PI	ค่าเฉลี่ย	SD
SLNs-1						
n1	550.40			0.33		
n2	568.30	565.10	10.90	0.29	0.29	0.03
n3	576.50			0.27		
SLNs-2						
n1	505.30			0.16		
n2	510.50	502.80	7.44	0.20	0.16	0.03
n3	492.70			0.13		
SLNs-3						
n1	504.80			0.18		
n2	489.20	497.80	29.05	0.12	0.15	0.03
n3	499.30			0.18		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค

ตารางที่ ข.5

ข้อมูลขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดชิง

เก็บที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ครอบรอบ 3 เดือน

สูตรตำรับ	ขนาด (nm)	ค่าเฉลี่ย	SD	PI	ค่าเฉลี่ย	SD
SLNs-1						
n1	1668.70			0.24		
n2	1614.40	1632.13	25.86	0.25	0.25	0.01
n3	1613.30			0.25		
SLNs-2						
n1	1362.80			0.10		
n2	1417.30	1370.20	35.86	0.12	0.13	0.03
n3	1330.40			0.17		
SLNs-3						
n1	1233.70			0.33		
n2	1263.40	1233.07	25.03	0.25	0.32	0.06
n3	1202.10			0.40		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, nm คือ นาโนเมตร และ PI คือ ค่าการกระจายขนาดอนุภาค



ผนวก ค.

ข้อมูลการกักเก็บ 6 จินเจอร์อด ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

ตารางที่ ค.1

ข้อมูลการกักเก็บ 6-จินเจอร์อล และค่าความจุในการกักเก็บของ
นาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิงเริ่มต้น 0 วัน

สูตรตำรับ	%EE	ค่าเฉลี่ย	SD	%LC	ค่าเฉลี่ย	SD
SLNs-1						
n1	85.23			1.41		
n2	84.99	85.23	0.14	1.40	1.41	0.01
n3	85.23			1.41		
SLNs-2						
n1	87.89			1.46		
n2	88.38	88.14	0.20	1.45	1.46	0.01
n3	88.14			1.46		
SLNs-3						
n1	90.80			1.49		
n2	90.07	90.07	0.59	1.50	1.49	0.01
n3	89.35			1.48		

หมายเหตุ : SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง, %EE คือ ร้อยละ ประสิทธิภาพ
ในการกักเก็บสารสำคัญ และ %LC คือ ร้อยละค่าความจุในการกักเก็บ

ตารางที่ ค.2

ข้อมูลการกักเก็บ 6-จินเจอร์รอล ของนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 30±2 องศาเซลเซียส ครบรอบ 1, 2 และ 3 เดือน

สูตรตำรับ	%EE (4 องศาเซลเซียส)			%EE (30±2 องศาเซลเซียส)		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน
SLNs-1						
n1	84.26	84.50	84.26	82.32	82.81	80.87
n2	84.50	84.75	84.26	82.81	83.29	81.84
n3	84.76	84.02	84.02	83.05	84.50	83.05
ค่าเฉลี่ย	84.51	84.42	84.18	82.73	83.53	81.92
SD	0.20	0.30	0.11	0.30	0.71	0.89
SLNs-2						
n1	87.41	87.89	87.18	86.68	87.41	85.23
n2	87.41	87.65	86.92	86.20	87.65	86.44
n3	86.92	87.65	86.92	86.44	87.41	86.44
ค่าเฉลี่ย	87.25	87.73	87.00	86.44	87.49	86.04
SD	0.23	0.11	0.12	0.24	0.11	0.57
SLNs-3						
n1	88.38	88.62	87.65	87.41	88.86	87.18
n2	88.14	90.07	87.89	87.41	89.10	87.65
n3	88.38	89.1	88.62	86.92	88.62	87.89
ค่าเฉลี่ย	88.30	89.26	88.05	87.25	88.86	87.57
SD	0.11	0.61	0.41	0.23	0.20	0.30

หมายเหตุ : %EE คือ ร้อยละประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ



ผนวก ง.

ข้อมูลการชิมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

การสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล

การสร้างกราฟมาตรฐานของ 6-จินเจอร์อล โดยทำการเตรียมสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ละลายใน เมทานอล ให้มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละตัวอย่างทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง สมการเส้นตรงได้จากการสร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล

สถานะในการวิเคราะห์

วิภูภาคทงที่คือคอลัมน์ชนิดรีเวอร์สเฟส ซี-18 เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตรและยาว 250 มิลลิเมตร วัสดุที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดอนุภาค 10 ไมครอน

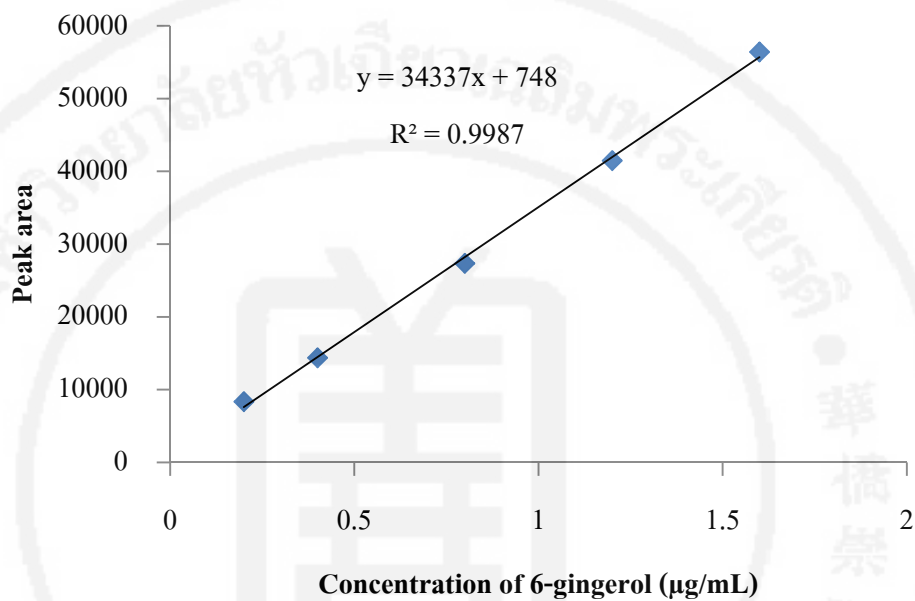
วิภูภาคเคลื่อนที่คือสารละลายผสมระหว่างเมทานอลกับน้ำ โดยกำหนดให้มีการผสมแบบเกรเดียนต์ ดังอัตราส่วนที่แสดงในตารางที่ 3.1 ควบคุมอัตราการไหลของ วิภูภาคเคลื่อนที่เป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที

เครื่องตรวจวัดคือดีเทกเตอร์ดีไอโอดอะเรย์ โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ 282 นาโนเมตร

ปริมาตรที่ฉีดคือ 20 ไมโครลิตร

ภาพที่ ง.1

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 6-จินเจอร์อล ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับพื้นที่ใต้พีค



หมายเหตุ : ช่วงของพื้นที่ใต้พีค เท่ากับ 8346-56413

ตารางที่ ง.1

ข้อมูลการซึมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)			
	n1	n2	n3	ค่าเฉลี่ย
3	1.29	1.47	1.49	1.42
5	1.64	1.66	1.66	1.65
8	1.87	1.88	1.93	1.89
12	2.10	2.10	2.13	2.11
18	3.32	3.32	3.34	3.32
24	4.08	4.68	5.45	4.74

ตารางที่ ง.2

ข้อมูลการซึมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวจากสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)			
	n1	n2	n3	ค่าเฉลี่ย
3	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.51	0.59	0.83	0.64
8	0.92	0.95	0.99	0.95
12	1.30	1.50	1.59	1.46
18	1.38	1.58	1.77	1.58
24	1.88	2.08	2.11	2.02

ตารางที่ ๓.3

ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวจากนาโนพาร์ทิเคิลไขมันแข็งบรรจุสารสกัดขิง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร)				
	n1	n2	n3	ค่าเฉลี่ย	SD
3	0.16	0.19	0.18	0.18	0.01
5	0.37	0.40	0.38	0.38	0.01
8	0.61	0.64	0.62	0.62	0.01
12	0.81	0.90	0.88	0.86	0.01
18	1.29	1.32	1.29	1.30	0.01
24	1.81	1.91	1.96	1.89	0.06

ตารางที่ ๓.4

ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล ผ่านผิวจากสารละลายสารสกัดขิงในเอทานอล

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสะสมของ 6-จินเจอร์อล (ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร)				
	n1	n2	n3	ค่าเฉลี่ย	SD
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.06	0.07	0.10	0.08	0.02
8	0.18	0.19	0.22	0.20	0.02
12	0.34	0.38	0.42	0.38	0.03
18	0.52	0.58	0.63	0.58	0.05
24	0.75	0.84	0.89	0.83	0.06

